

## OFERTA WDROŻENIOWA

### Wykorzystanie metody pułapkowej do detekcji *Phytophthora* spp. w wodzie

**Słowa kluczowe:** *Phytophthora*, pułapka, woda, kolonizacja

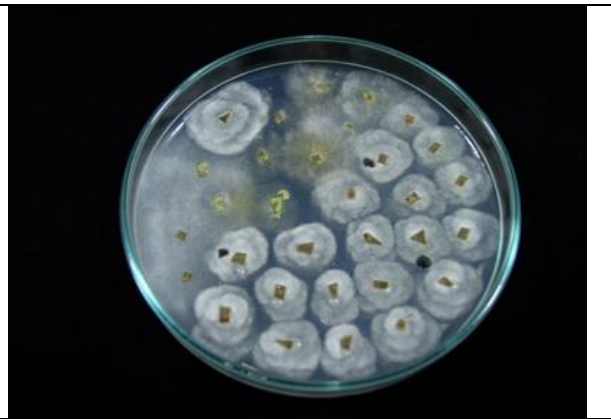
#### Opis wdrożenia

Gatunki rodzaju *Phytophthora* od ostatniej dekady XX wieku stanowią coraz większe zagrożenie dla upraw zarówno w leśnictwie, jak i ogrodnictwie. Źródłem *Phytophthora* spp., obok materiału roślinnego do nasadzeń, może być również woda używana do podlewania upraw i pobierana ze zbiorników wodnych lub lokalnych cieków. Liczni autorzy podają, że zakażona woda jest głównym, jeśli nie jedynym, źródłem *Phytophthora* w szkółkach, sadach i uprawach warzywnych oraz że jest najpowszechniejszym i najszybszym źródłem rozprzestrzeniania tej grupy patogenów w danym regionie i kraju. W Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach, w ramach realizacji Programu Wieloletniego, Zadanie 1.8, prowadzono badania nad możliwością wykorzystania pułapek liściowych do detekcji gatunków rodzaju *Phytophthora* z wody (stawów zlokalizowanych na terenie szkółek roślin, skąd woda jest czerpana do podlewania, kanałów odprowadzających nadmiar wody ze szkółek oraz rzek przepływających w pobliżu gospodarstw szkółkarskich). W proponowanej metodzie wykrywania gatunków *Phytophthora* z wymienionych źródeł wody jako pułapki wykorzystuje się liście różanecznika odm. Nova Zembla. Świeżo

ścięte wierzchołki różanecznika, wolne od czynników chorobotwórczych i posiadające minimum 6 liści są wrzucane do zbiorników i cieków wodnych. W zależności od terminu pułapkowania, liście inkubowane są w wodzie od 3 do 5 dni, a następnie umieszczone w workach foliowych i przewożone do laboratorium. Liście pułapkowe są płukane w wodzie wodociągowej, a następnie destylowanej i liczone są nekrotyczne plamy na blaszkach. W kolejnym etapie liście są sterylizowane powierzchniowo i fragmenty znekrotyzowanych tkanek wkładane są na pożywkę PDA (Potato Dextrose Agar). Po 24-48 godzinach inkubacji w 25 °C oceniana jest liczba wyrastających kolonii *Phytophthora* i odszczepiane są kultury referencyjne, które następnie oznaczane są do gatunku na podstawie cech morfologicznych i przy zastosowaniu reakcji PCR ze starterami gatunkowo-specyficznymi. Warunki reakcji (profil termiczny i skład mieszaniny reakcyjnej) zostały dobrane empirycznie, a standardowy skład mieszaniny reakcyjnej, o objętości końcowej 15 µl wynosi: 15 ng DNA, 0,3 U polimerazy *Taq* (Fermentas), 0,4 µM każdego startera, 50 µM każdego dNTP oraz 1,5 mM Mg<sub>2</sub>Cl.



Pałapkowanie w kanale zlokalizowanym na terenie szkółki roślin ozdobnych



Kultury *Phytophthora* wyrastające z wyłożonych eksplantatów pobranych z liści pałapkowych

### **Innowacyjność wdrożeniowa – efekty gospodarcze i społeczne**

Detekcja organizmów chorobotwórczych w wodzie wykorzystywanej do nawadniania upraw będzie wskaźnikiem do podjęcia odpowiednich kroków zaradczych w celu zapobiegania masowemu rozprzestrzenianiu się chorób roślin. Proponowana metoda pozwala na wykrywanie gatunków *Phytophthora* w wodzie i cechuje się wysoką skutecznością, łatwym dostępem do materiału roślinnego przez cały rok oraz niewielkimi kosztami.

### **Podmioty, do których skierowana jest oferta wdrożeniowa**

Gospodarstwa szkółkarskie, ośrodki doradztwa rolniczego, Państwowy Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa.

#### **Twórcy oferty wdrożeniowej:**

Zakład Ochrony Roślin Ozdobnych

#### **Autor:**

prof. dr hab. Leszek Orlikowski

tel. 46 834 55 36

e-mail: Leszek.Orlikowski@inhort.pl

#### **Współautor:**

mgr Magdalena Ptaszek

mgr Aleksandra Trzewik

Ofertę wdrożeniową opracowano w ramach zadania 1.8 „Monitorowanie występowania *Phytophthora* spp., diagnostyka i możliwości ograniczania strat powodowanych przez tę grupę patogenów”, Programu Wieloletniego „Rozwój zrównoważonych metod produkcji ogrodnictwa w celu zapewnienia wysokiej jakości biologicznej i odżywczej produktów ogrodnictwa oraz zachowania bioróżnorodności środowiska i ochrony jego zasobów”, finansowanego przez MRiRW.