

**EUROPRODUKT
PomoCentre
CZT - AgroTech**

**Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa
ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice
tel.:+48-46-833 20 21, fax:+48-46-833 32 28
Dyrektor: Prof. dr hab. Danuta Goszczyńska
e-mail: Danuta.Goszczyńska@insad.pl**

OFERTA WDROŻENIOWA - 2006

„Identyfikacja gatunków *Phytophthora* przy pomocy markerów DNA”

Słowa kluczowe: **fytoftoroza, identyfikacja gatunkowa, markery DNA, *Phytophthora***

Opis wdrożenia:

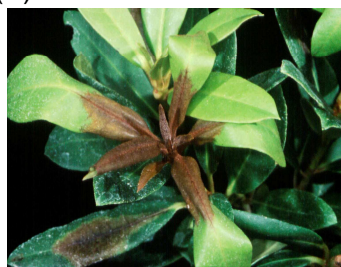
Bardzo często objawy fytoftorozy na liściach i pędach drzew oraz krzewów są podobne, niezależnie od gatunku sprawcy (Fot. 1). Z drugiej strony, ten sam gatunek *Phytophthora* może wywoływać różne objawy na różnych gospodarzach (Fot. 2). Znajomość gatunku sprawcy umożliwia podjęcie właściwej strategii, zarówno co do zapobiegania rozprzestrzenianiu, jak też skutecznego zwalczania.

Identyfikacja na podstawie cech morfologicznych plechy i zarodników bywa zawodna, z powodu braku ostrych granic różnicujących te cechy pomiędzy gatunkami. Markery bazujące na analizie DNA są sposobem znacznie bardziej wiarygodnym. W wyniku przeprowadzonych badań, których celem była optymalizacja ekstrakcji, procesu powielania i analizy DNA oraz porównanie przydatności różnych

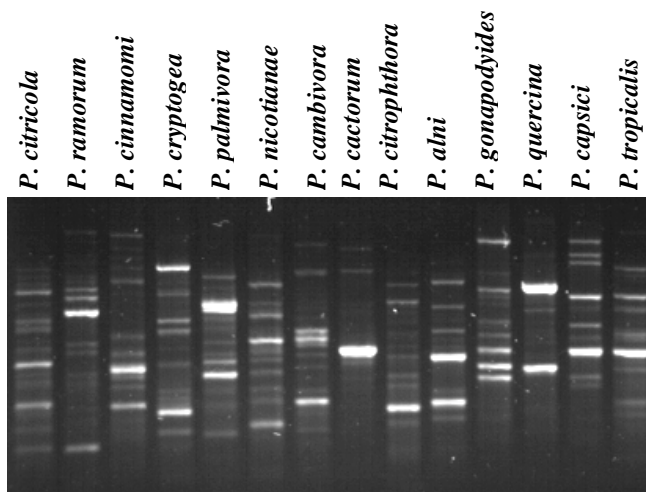
starterów, zostało wytypowanych 7 starterów RAPD i ISSR, które tworzą wzory prążkowe oraz pojedyncze prążki markerowe przydatne do identyfikacji 14 gatunków *Phytophthora* (*P. alni*, *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. gonapodyides*, *P. nicotianae* var. *nicotianae*, *P. palmivora*, *P. quercina*, *P. ramorum*, *P. tropicalis*) (Fot. 3).

Procedura obejmuje izolację patogenów z próbek środowiskowych na pożywkach wybiórczych PARP i PDA, ekstrakcję DNA z oczyszczonych izolatów oraz jego namnażanie w reakcji amplifikacji (PCR) z niespecyficznymi starterami. Produkty amplifikacji są rozdzielane w procesie elektroforezy na żelu. Uzyskane profile i pojedyncze prążki DNA są markerami umożliwiającymi identyfikację 14 gatunków *Phytophthora*.

Fot. 1. Fytoftoroza różanecznika powodowana przez *P. citricola* (A), *P. citrophthora* (B)



Fot. 2. Fytoftoroza cisu (A) i świerku (B) powodowana przez *P. cinnamomi*



Innowacyjność wdrożeniowa – efekty gospodarcze i społeczne

Markery DNA były wielokrotnie rekomendowane do identyfikacji gatunkowej *Phytophthora*. Metoda ich uzyskiwania opierała się na technice amplifikacji ze starterami specyficznymi, z ewentualnym trawieniem enzymami restrykcyjnymi. Sposób proponowany przez nas jest znacznie mniej kosztowny a polega na porównaniu markerów uzyskanych w reakcji PCR ze starterami niespecyficznymi.

Podmioty, do których skierowana jest oferta wdrożeniowa

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

Twórcy oferty wdrożeniowej:

Zakład Biotechnologii Roślin Ozdobnych
Pracownia Fitopatologii Roślin Ozdobnych
Zakład Planowania Naukowego

Autor:

mgr Aleksandra Trzewik
mgr Katarzyna Wiejacha
tel. (046) 833 20 41
e-mail: Aleksandra.Trzewik@insad.pl

Współautorzy:

prof. Teresa Orlikowska
prof. Leszek Orlikowski