



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
– PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
W RADZIKOWIE

Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemiaka w Boninie

Nasiennictwo i ochrona ziemniaka

*49. konferencja
naukowo-szkoleniowa*



**Dźwirzyno
11-13 maja 2016**

Bonin 2016

Czułość zaprojektowanych starterów M1 i M2 porównywano z czułością starterów CH. RNA izolowane z rośliny porażonej PVM doprowadzono do 100 ng/μl i przygotowano serię rozcieńczeń pokrywających w dziesięciokrotnych rozcieńczeniach zakres 100 ng/μl – 10 fg/μl. Dla pary starterów CH produkt amplifikacji obserwowano do 10 pg/reakcję. Oba startery zaprojektowane w ramach doświadczenia (M1 i M2) promowały amplifikację produktu PCR do 1 pg RNA/reakcję. Jednak wydajność amplifikacji uzyskana za pomocą pary M2 była większa. Żadna z badanych par starterów nie amplifikowała produktów niespecyficznych w obecności 100 ng RNA izolowanego ze zdrowych roślin. Również w reakcjach, do których nie dodano RNA na etapie odwrotnej transkrypcji lub cDNA na etapie reakcji PCR nie powstały produkty niespecyficzne. Świadczy to tym, że wszystkie badane startery są specyficzne i nie tworzą dimerów starterów. Na podstawie wykonanych badań stwierdzono, że optymalną parą starterów do wykrywania PVM jest para M2.

WPLYW ENZYMÓW LITYCZNYCH NA IZOLACJĘ DNA ORAZ CZUŁOŚĆ TESTU PCR W DIAGNOSTYCE KWARANTANNOYCH BAKTERII ZIEMNIAKA

*mgr inż. Katarzyna Salamońska, dr inż. Włodzimierz Przewodowski
dr inż. Agnieszka Przewodowska, mgr inż. Wioleta Stochła
IHAR-PIB, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Biochemii w Boninie
e-mail: wlodzimierz.przewodowski@tu.koszalin.pl*

Jednym z najważniejszych czynników wpływających na prawidłową diagnostykę molekularną bakteryjnych patogenów roślin jest sposób izolacji kwasów nukleinowych (DNA/RNA). Jako jeden z początkowych etapów pozwalających na przygotowanie badanego materiału do oceny metodami molekularnymi etap ten warunkuje poprawność identyfikacji ww. patogenów, szczególnie izolowanych z tkanki roślinnej. Dla uzyskania zatem odpowiedniej czułości metod molekularnych niezbędne jest stosowanie procedury pozwalającej na izolację odpowiedniej jakości (czystości i ilości) materiału genetycznego z jednoczesnym pozbyciem się substancji hamujących przebieg reakcji PCR.

Celem prezentowanych badań było porównanie różnych warunków izolacji kwasów nukleinowych w obecności enzymów litycznych oraz ocena wpływu tych warunków na jakość wyizolowanego DNA oraz czułość testu PCR.

Jako modelowy materiał biologiczny stosowano komórki kwarantannowych bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* przygotowane w postaci świeżo sporządzonych zawiesin w sterylnej wodzie oraz ekstrakcie roślinnym.

Aby zapewnić zróżnicowanie warunków izolacji kwasów nukleinowych, DNA bakterii izolowano w obecności wody i soku z bulw ziemniaka, w których przed izolacją sporządzono zawiesiny bakteryjne. Do izolacji DNA użyto metody wysokosolnej, polegającej na selektywnym ekstrahowaniu kwasów nukleinowych w warunkach buforowych i obecności wysokich stężeń soli. W ramach badań porównywano różne warianty izolacji DNA z udziałem dwóch enzymów stosowanych w izolacji kwasów nukleinowych – proteinazy K oraz mutanolizyny. Jako kontrole stosowano próby bez enzymu. Po zakończonej izolacji wykalibrowano otrzymane DNA w zakresie od 10^{-1} do 10^{-9} μg/μl i poddano testowi PCR.

Jakość wyizolowanego DNA oceniano na podstawie pomiarów spektrofotometrycznych w zakresie UV oraz rozdziału elektroforetycznego w żelu agarozowym, natomiast czułość stosowanych metod oceniano, obserwując wynik na żelu agarozowym po uprzedniej amplifikacji PCR.

Wyniki badań wskazały na znaczne zróżnicowanie efektywności działania badanych enzymów w stosunku do ilości i czystości wyizolowanego DNA, jak również czułości testu PCR.

BADANIA SKUTECZNOŚCI PUŁAPEK FEROMONOWYCH NA DRUTOWCE I ROLNICE WYKORZYSTYWANE W SYGNALIZACJI ZABIEGU CHEMICZNEGO W UPRAWACH ZIEMNIAKA I INNYCH ROŚLIN ROLNICZYCH

dr Magdalena Jakubowska, dr hab. Anna Tratwal

*IOR-PIB, Zakład Metod Prognozowania Agrofagów i Ekonomiki Ochrony Roślin
ul. Władysława Węgorka 20; 60-318 Poznań, e-mail: M.Jakubowska@iorpib.poznan.pl*

Celem badań było określenie przydatności pułapek feromonowych do odłowu samców sprzążków (*Elateridae*) oraz samców motyli z rodziny *Noctuidae*, ustalenie ich składu gatunkowego oraz dynamiki występowania na wybranych roślinach uprawnych. Jedną z możliwości wykorzystania feromonów w gospodarstwach tradycyjnych i ekologicznych jest systematyczny monitoring agrofagów. Umożliwia on jednoczesną obserwację rozwoju szkodnika i pojawienia się jego stadiów szkodliwych, a także pomaga w podjęciu decyzji o ochronie chemicznej.

Obiektem doświadczalnym były: główne gatunki sprzążkowatych (*Elateridae*) z rodzaju *Agriotes* spp. i trzy gatunki motyli rolnic (*Noctuinae*): *Agrotis segetum* (Schiff.), *A. exclamationis* L., *Xestia c-nigrum* L.

Odłow motyli prowadzono za pomocą pułapek feromonowych typu YATLORf lub VARb3, Funnel Trap, Delta trap. Określano skuteczność łowną pułapek i ich wykorzystanie w sygnalizacji. Ponadto dokonano analizy gleby na występowanie szkodników glebowych. Określono sumy ciepła i temperatur efektywnych do wspomagania wyznaczenia terminu zwalczania rolnic (*Noctuinae*) na okopowych. Przez cały czas badano zasiedlenie gleb przez larwy *Elateridae* z wykorzystaniem pułapek przynętowych.

Doświadczenia polowe wykonano w latach 2011-2015 w Winnej Górze i Słupi Wielkiej na plantacjach, na których zastosowano zabiegi ochronne przeciwko drutowcom.

1. Wyniki badań, dotyczące skuteczności łownej chrząszczy *Agriotes obscurus* L., *A. lineatus* L. oraz *Agrotis segetum* L., i *A. exclamationis* L. za pomocą pułapek feromonowych

a. W Winnej Górze i Słupi Wielkiej pierwsze chrząszcze sprzążków odłowiono pod koniec kwietnia, tj. 27 kwietnia. Zespół sprzążkowatych *Elateridae* stanowiły w roku 2015 głównie dwa gatunki: *Agrotis obscurus* i *A. lineatus*. Pierwsze gatunki *Agriotes obscurus* w Słupi Wielkiej wystąpiły 27 kwietnia (15 szt.) na trawach. Maksimum odłowów odnotowano w I i II dekadzie maja, tj. od 10 do 15 maja. Za pomocą pułapki feromonowej w trawach odłowiono 47 szt. *A. obscurus* oraz 48 szt. *A. lineatus*. Ostatnie osobniki wszystkich