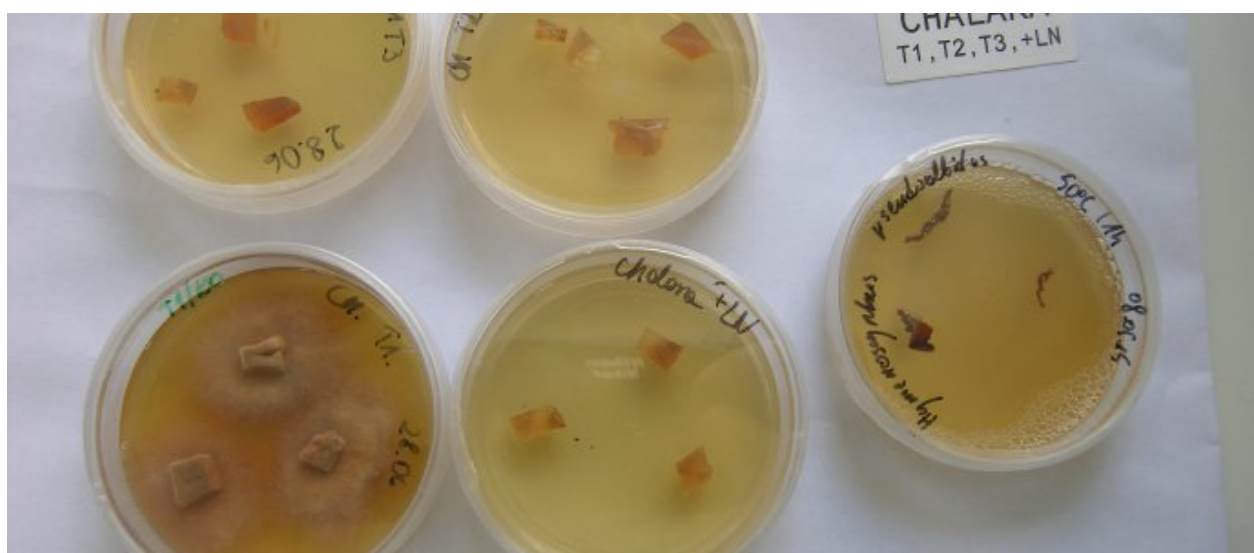




Zakończono pierwszy etap oceny eliminacji patogenu - metodą klasyczną

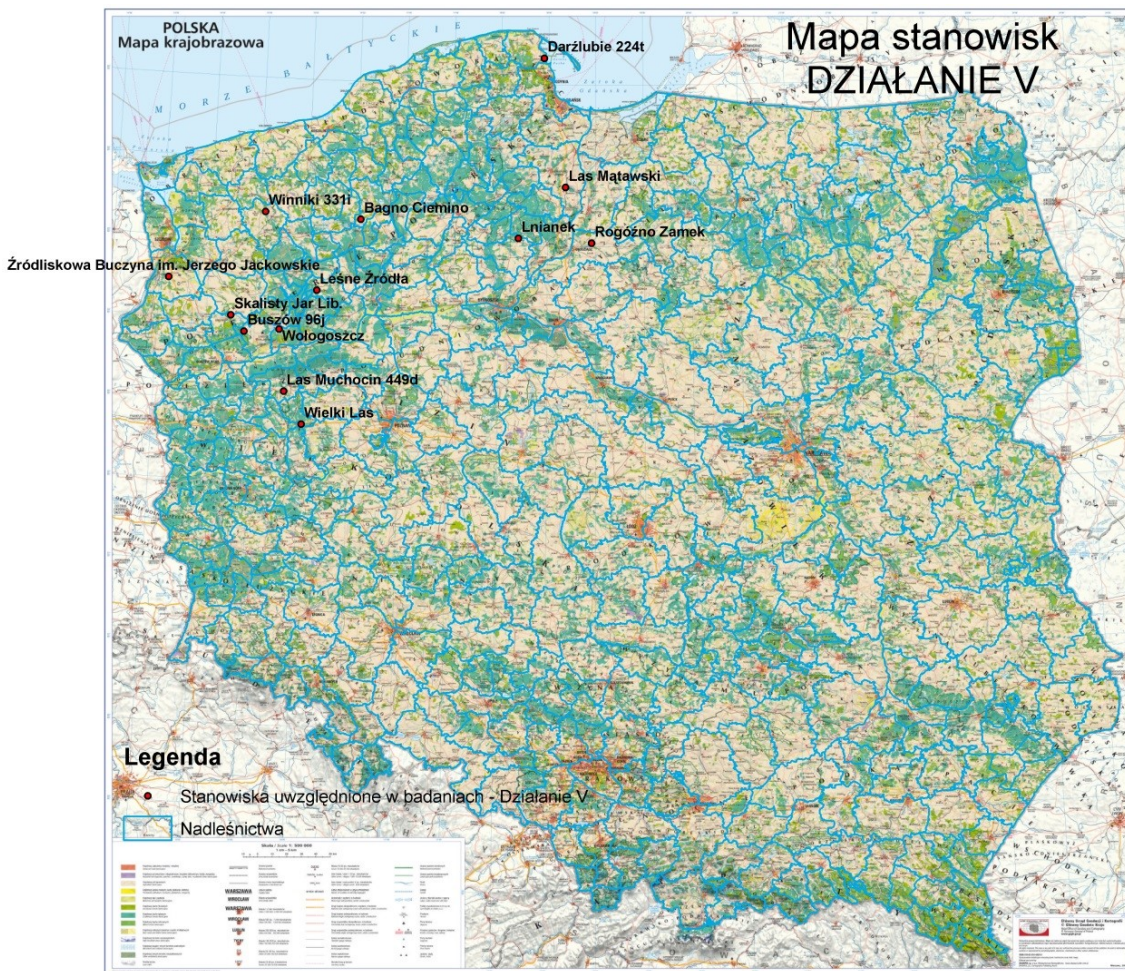


Dla ochrony zasobów genowych jesionu wyniosłego przechowywanych w LBG Kostrzyca przed fitopatogenem *Hymenoscyphus fraxineus*, przeprowadzono szereg zabiegów mających na celu opracowanie skutecznej metody eliminacji patogenu ze skrzydlaków jesionu.

Próbki skrzydlaków zostały poddane procesom krioterapii (tj. zamrożeniu w ultra niskich temperaturach) i termoterapii (tj. ociepleni do temperatur w zakresie 30°C do 50°C), a następnie wielotygodniowej hodowli *in vitro* na specjalistycznym podłożu hodowlanym.

Potwierdzenie skuteczności jednej z metod pozwoli na długotermonowe przechowanie w LBG Kostrzyca materiału wolnego od zakażenia patogenem, a co za tym idzie, materiał ten będzie mógł posłużyć w przyszłości do odnowienia przetrzebionej populacji polskiej jesionu wyniosłego.

W ramach pierwszego etapu prac poddano badaniom 3960 prób z trzynastu stanowisk z obszaru północno-zachodniej Polski (Ryc. 1.).

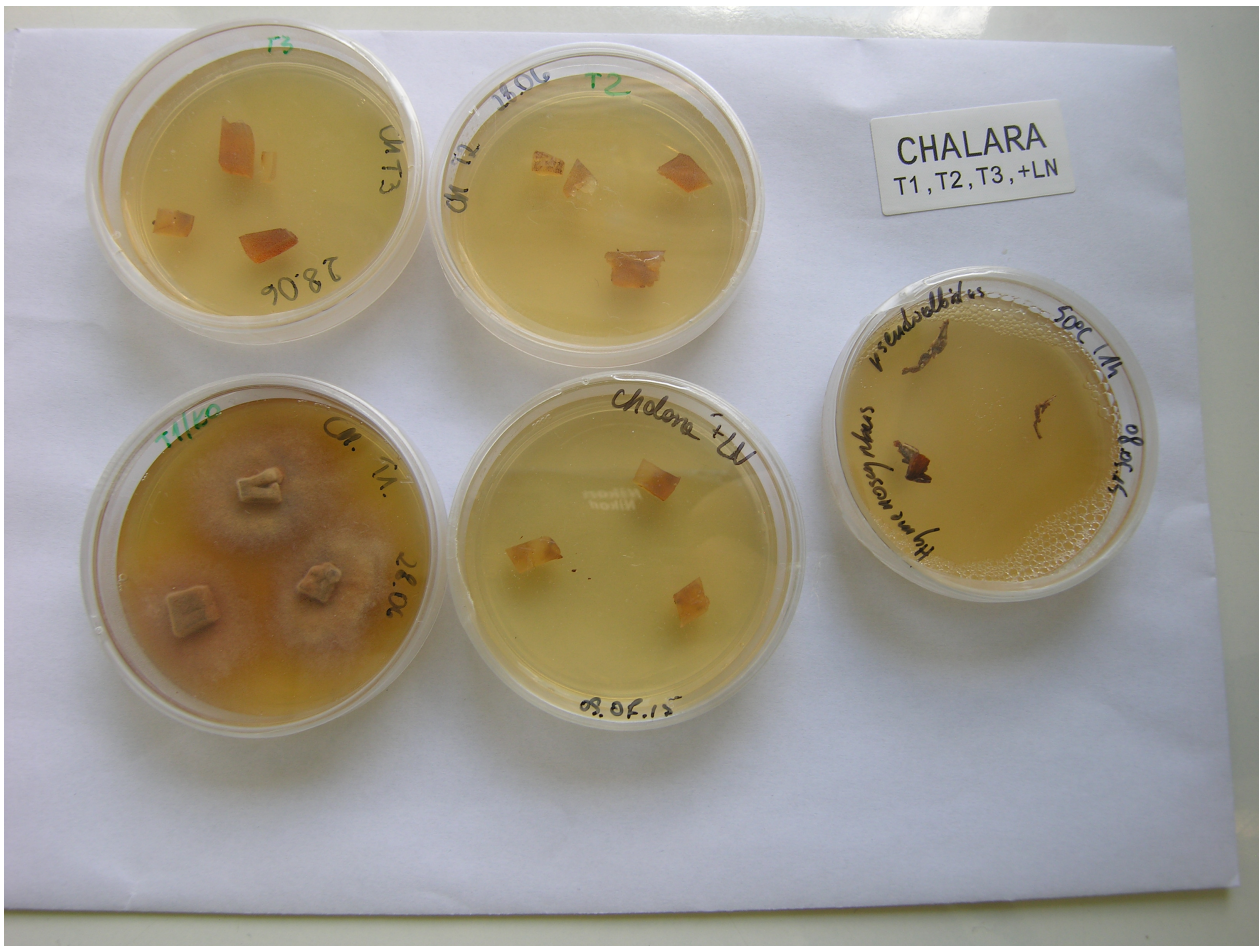


Ryc. 1. Lokalizacja stanowisk, z których pobrano próbki do oceny eliminacji patogenu.

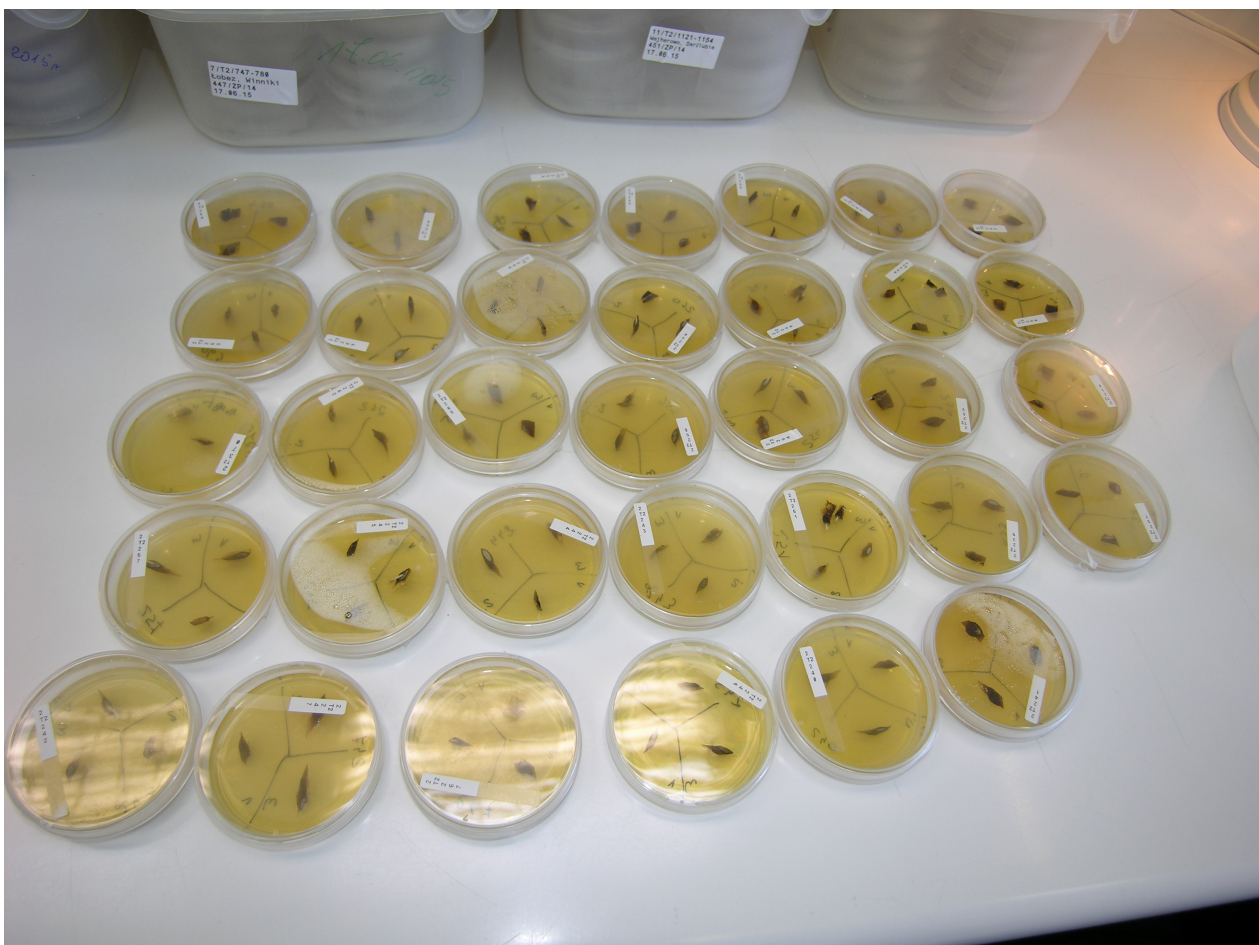
Próby podzielono na cztery warianty temperaturowe:

1. T1
2. T2
3. T3
4. LN

Kolejnym etapem pracy było umieszczenie każdej próby na szalce Petriego z pożywką do hodowli *in vitro* i wielotygodniowa inkubacja (Fot. 1a i 1b). Raz w tygodniu sprawdzano wzrost mikroorganizmów na pożywkach w każdej próbce. Jeśli makroskopowo stwierdzono wzrost kolonii mikroorganizmów- wówczas wykonywano preparat mikroskopowy i oceniano go pod kątem obecności *Hymenoscyphus fraxineus* (Fot. 2 i 3).



Fot. 1a. Fragmenty skrzydlaków jesionu wyniosłego w hodowli in vitro (fot. U. Wasileńczyk).



Fot. 1b. Fragmenty skrzydlaków jesionu wyniosłego w hodowli in vitro (fot. U. Wasileńczyk).

Wykazano, iż termoterapia jest skuteczną metodą eliminacji organizmów grzybowych ze

skrzydlaków jesionu wyniosłego. Temperatuty kriogeniczne okazały się nieprzydatne w zwalczeniu mikroorganizmów grzybowych. Obecność mikroorganizmów w próbkach potwierdziło wyhodowanie ich w wariacie kontrolnym. Dodatkowo sprawdzono wpływ testowanych procedur na same skrzydlaki jesionu wyniosłego. Okazało się, że żadna z terapii nie skutkuje negatywnie na żywotność materiału nasiennego. Wszystkie warianty procesów krio- i termoterapii, którym poddano skrzydlaki jesionu wyniosłego były sprawdzane również na tzw. kontroli pozytywnej, czyli czystej grzybni *Hymenoscyphus fraxineus* (zarówno na szczepie laboratoryjnym, jak i na szczepie pozyskanym bezpośrednio z chorych jesionów i wyhodowanym w naszym laboratorium).



Fot.2. Kultura *Hymenoscyphus fraxineus* wyhodowana w Zespole Pracowni Badawczo-Wdrożeniowych (fot. A. Paśawska).

Kolejnym etapem prac, mającym na celu potwierdzenie efektywności przeprowadzonych procesów krio- i termoterapii będzie analiza molekularna materiału genetycznego wyizolowanego ze skrzydlaków jesionu wyniosłego- pod kątem obecności DNA patogenu.

W I kwartale 2016 roku rozpoczęty zostanie drugi etap prac (na materiale pozyskanym w sezonie 2015/2016). Planuje się przeanalizowanie kolejnych 1600 prób.



Fot. 3. Analiza mikro- i makroskopowa wyhodowanych mikroorganizmów (fot. A. Paśawska).

Opracowała:
Anna Paśawska