

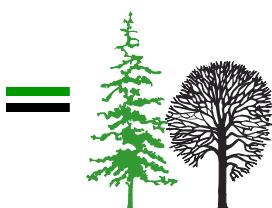
2. seminar in delavnica iz varstva gozdov, 21. 6. 2011

Uporaba molekularnih tehnik v gozdni fitopatologiji

dr. Barbara Piškur

Oddelek za varstvo gozdov

Gozdarski inštitut Slovenije

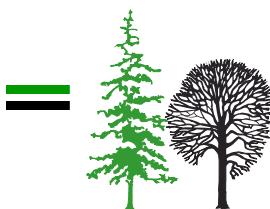
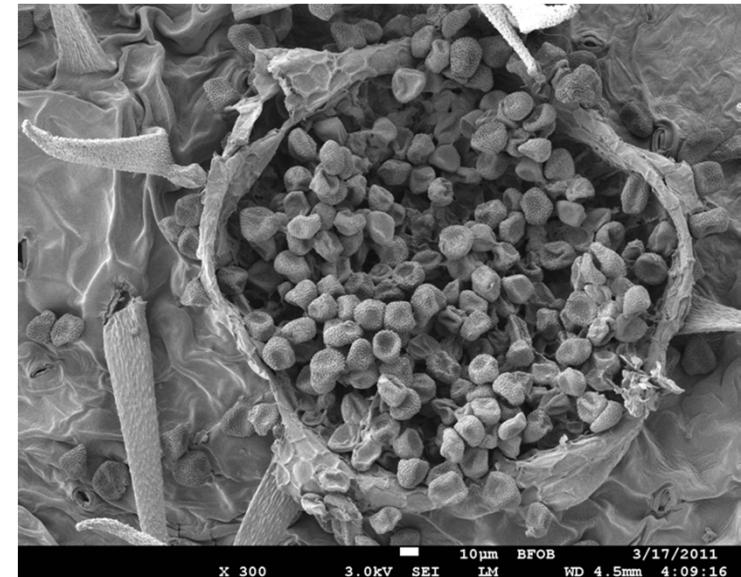


Gozdarski inštitut Slovenije
Slovenian Forestry Institute



Tradicionalne metode:

- Opazovanje simptomov okužb
- Izolacija gliv v čiste kulture
- Makro- in mikroskopski pregled micelija in razmnoževalnih struktur



Gozdarski inštitut Slovenije
Slovenian Forestry Institute



Tradicionalne metode - problemi:

Podobnost med vrstami (kriptične vrste ...)

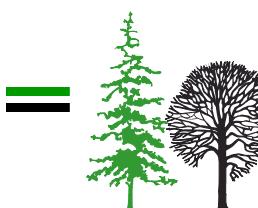
npr. *Hymenoscyphus albidus* in *H. pseudoalbidus*; *Botryosphaeriaceae*;
Fusicoccum spp., ...

Nekultivabilnost

npr. povzročiteljice rij (*Melampsora spp.*, ...)

Nesimptomatske okužbe

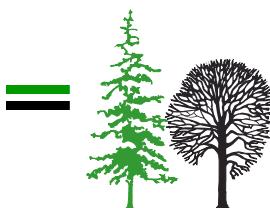
npr. okužena semena z *Giberella circinata*





Molekularne tehnike:

- Biomakromolekule (predvsem proteini in nukleinske kisline)
- Preučevanje nukleinskih kislin večinoma temelji na verižni reakciji s polimerazo (PCR)
- Raznolikost metod (klasični PCR, PCR v realnem času, AFLP, RFLP-PCR, RAPD, RAMS, ...)
- Hitrejše tehnike identifikacije



Molekularne tehnike (Analize genetskega materiala)

- vpogled v raznovrstnost na nivoju genoma
- filogenija in klasifikacija gliv
- populacijska genetika gliv
- spoznavanje in razumevanje procesov nastanka vrst in adaptacije
- natančnejša identifikacija
- določevanje povezav med različnimi fazami v življenjskem krogu glive

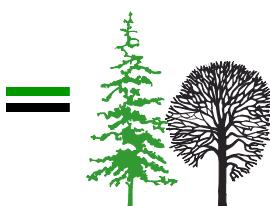


Molekularne metode - problemi:

Izvedba

Analiza

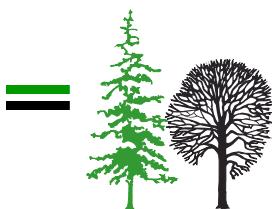
Mutacije



Gozdarski inštitut Slovenije
Slovenian Forestry Institute



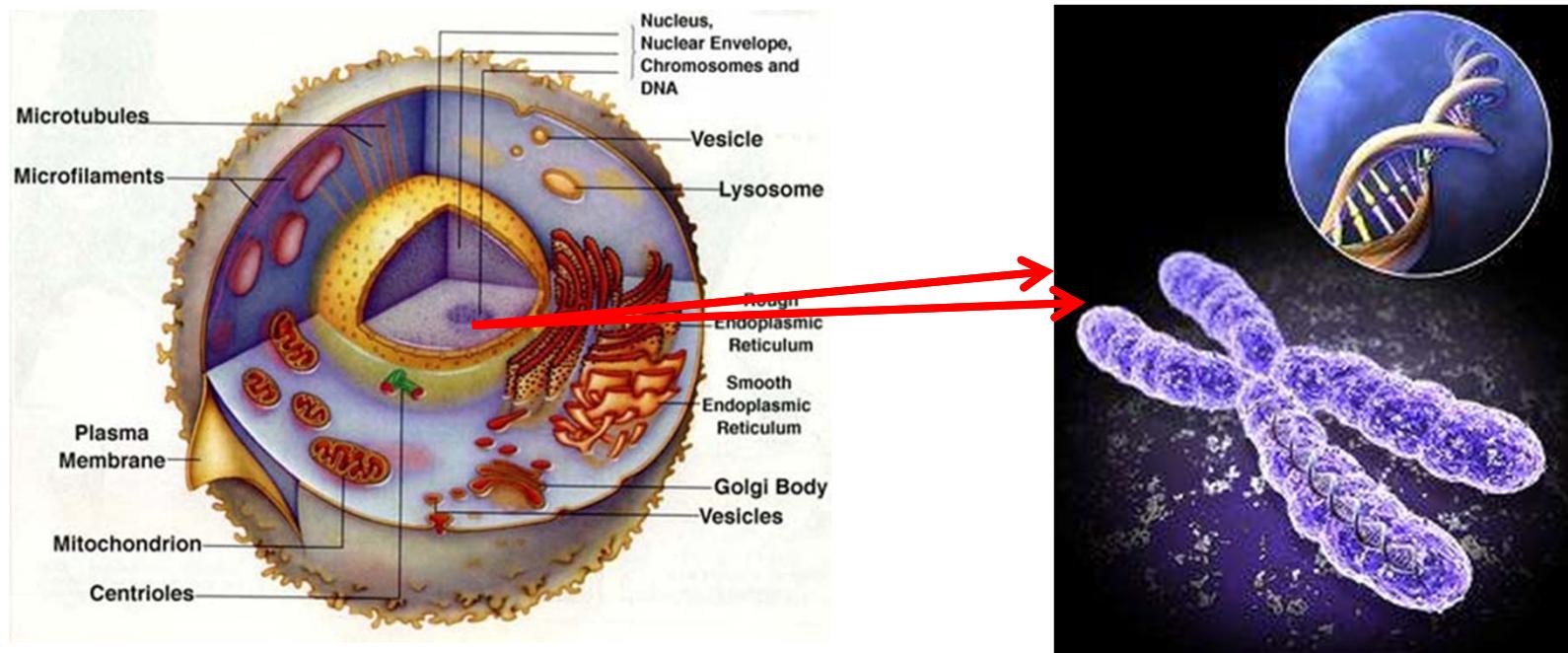
**Dopolnjevanje identifikacije na osnovi
morpholoških značilnosti z molekularnimi
informacijami.**



Gozdarski inštitut Slovenije
Slovenian Forestry Institute

Nukleinske kisline; DNA (*deoksiribonukleinska kislina, poljudno: DNK*)

- del DNA kodira zapise za proteine, RNA
- večji del ima regulatorno in strukturno funkcijo (98%)
- velikost glivnih genomov v območju 10–60 Mbp (človek 3.300 Mbp)

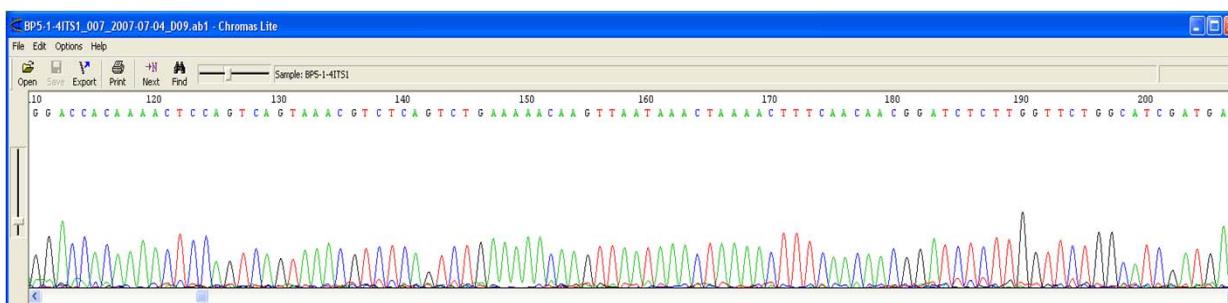
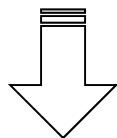
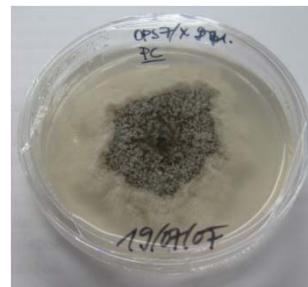




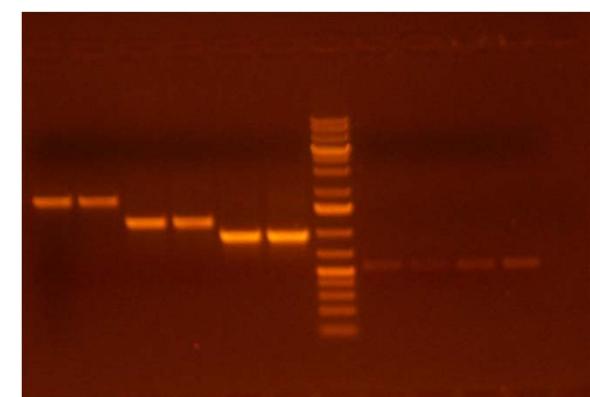
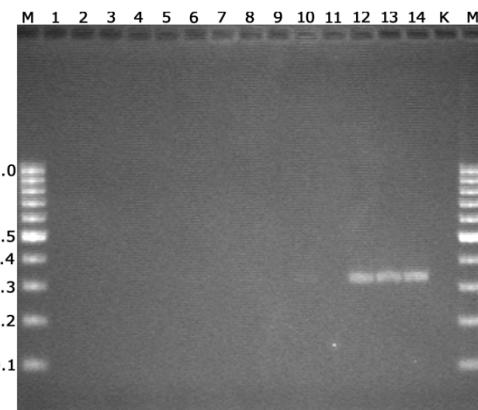
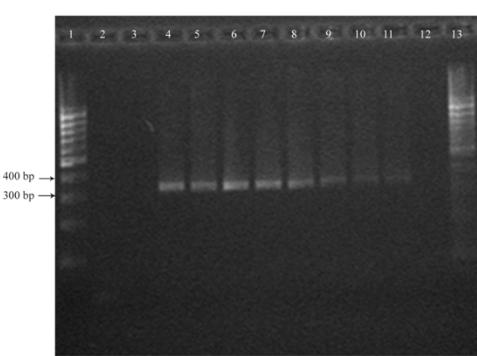
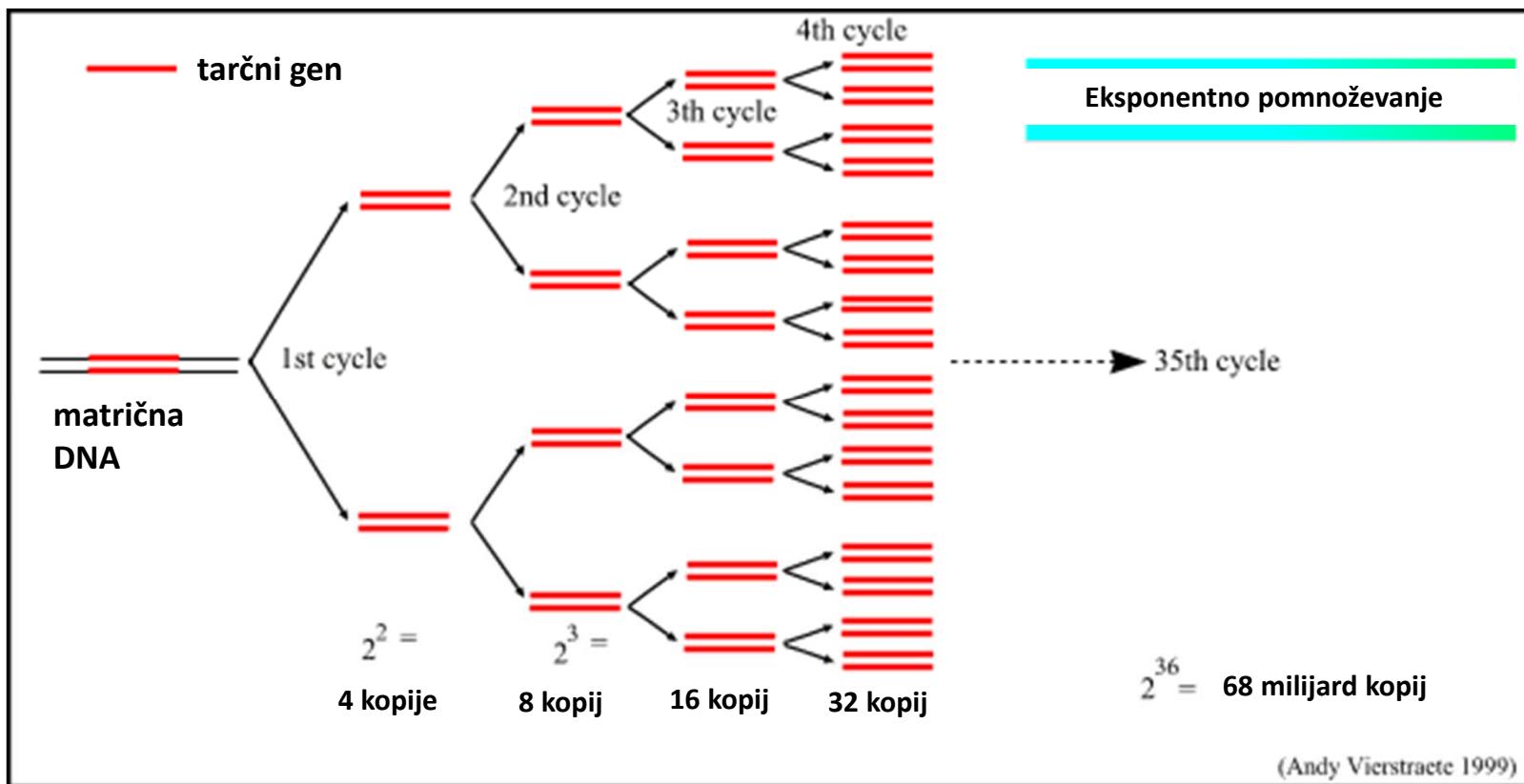
DNA Barcoding

- kratke regije v genomu (nekaj 100 bp), ki odražajo evolucijo organizma in jih lahko uporabimo za identifikacijo in izračun sorodnosti med različnimi taksonomskimi skupinami
- **določanje vrst s črtnimi kodami DNA**
- **za glive l. 2007 izbrana kot črtna koda del regije rDNA**

The screenshot shows the BioEdit Sequence Alignment Editor interface. The title bar reads "BioEdit Sequence Alignment Editor - [C:\Moji dokumenti\PHYTOPHTHORE\Obdelave\Skupne sekvence\poravnavi NCBI in slo.gb]". The menu bar includes File, Edit, Sequence, Alignment, View, Accessory Application, RNA, World Wide Web, Options, Window, and Help. The toolbar includes icons for Open, Save, Print, Copy, Paste, and various alignment and sequence manipulation tools. The main window displays 15 total sequences. The sequences are aligned horizontally, with positions 360 to 520 shown above the alignment. The sequences themselves consist of DNA base pairs (A, T, C, G). The alignment shows conservation of certain nucleotides across the different samples, which is used for species identification.

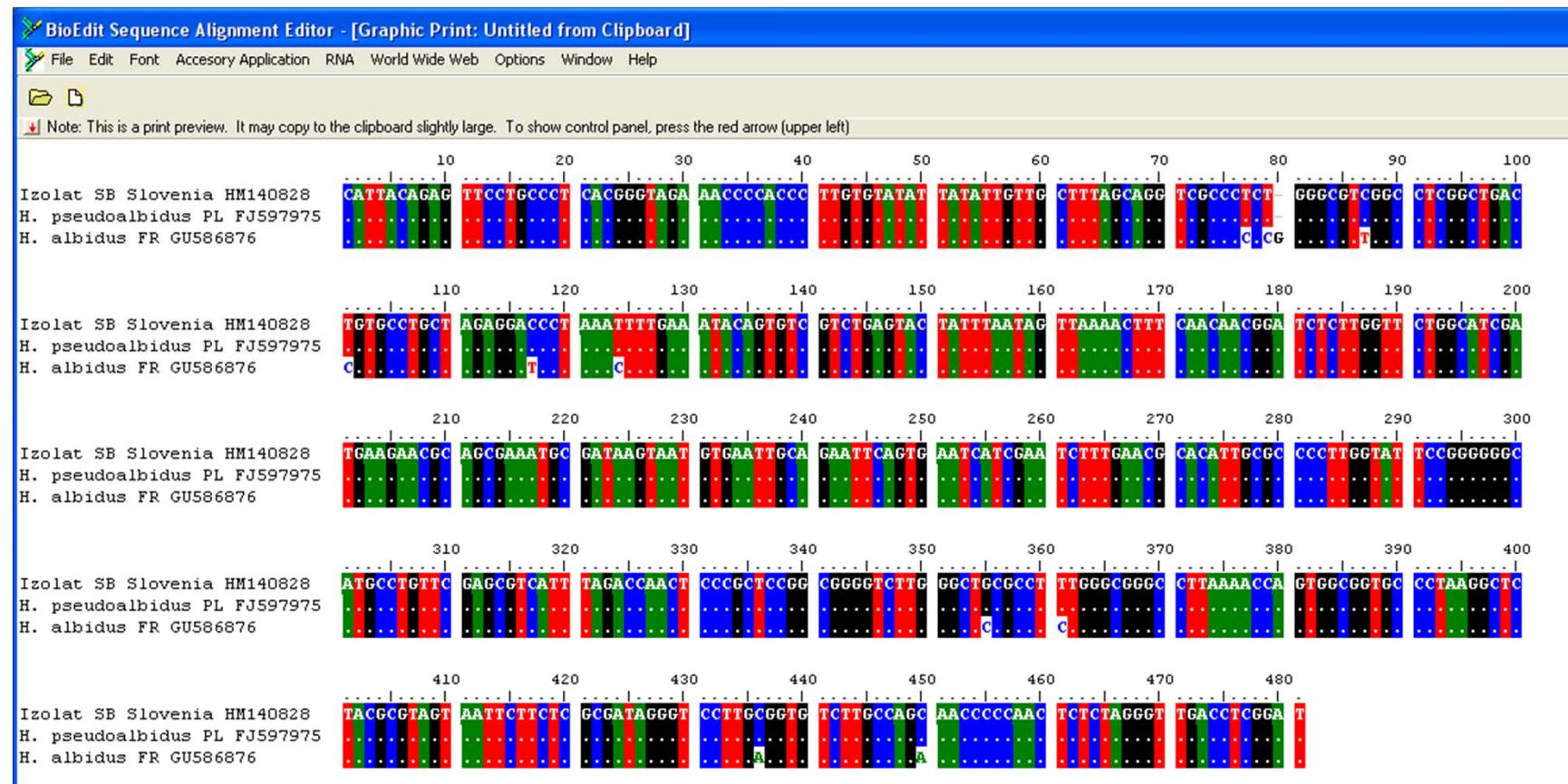


...GACCACAAAACCTCCAGTCTGAAAAAACACGG...



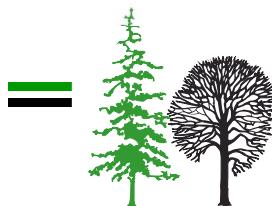
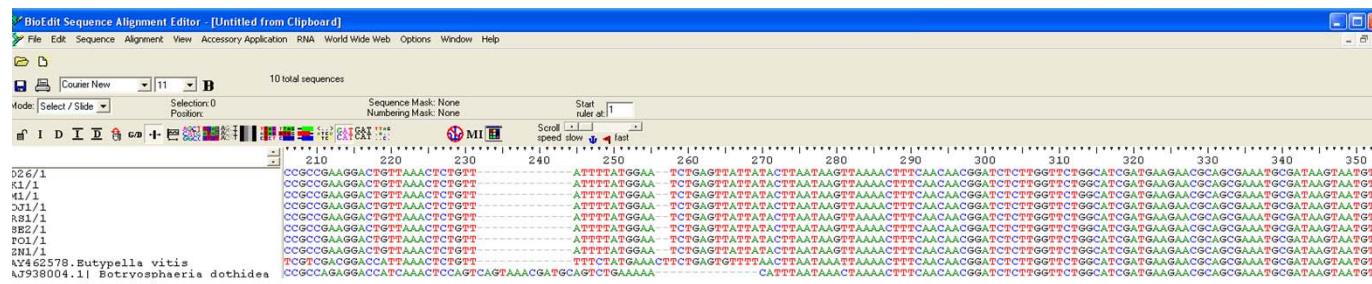
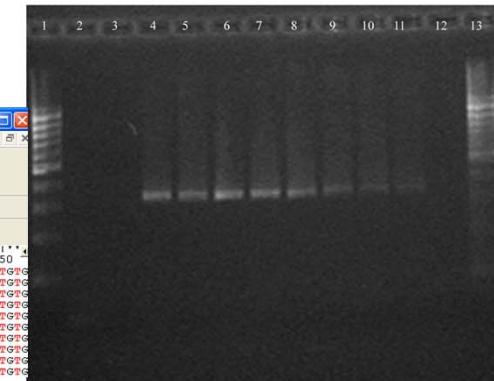
Jesenov ožig:

- *Chalara fraxinea*
- *Hymenoscyphus pseudoalbius / H. albidus*



Eutypella parasitica:

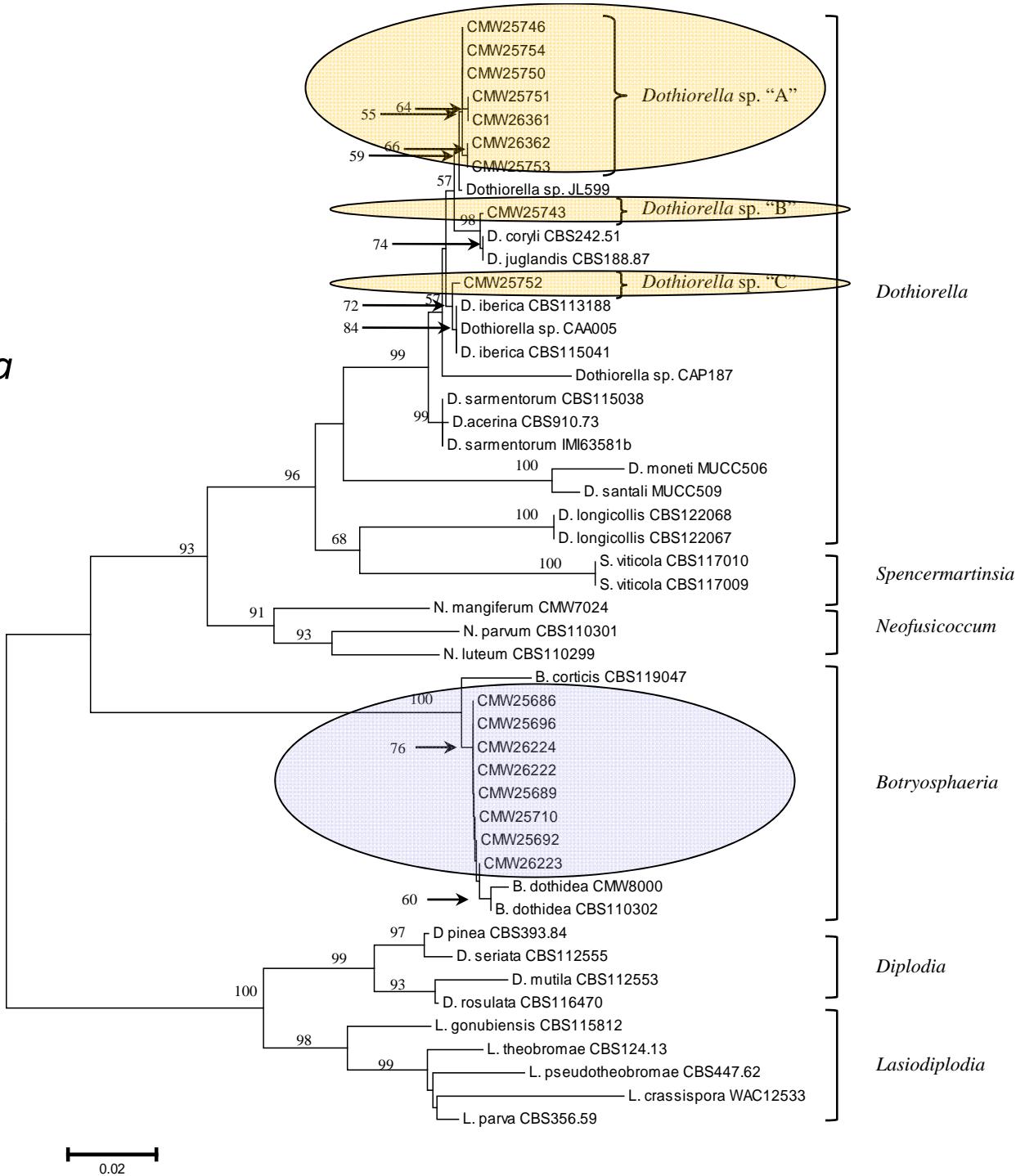
- podobnost med vrstami (Diatrypaceae)
- molekularna primerjava s tipsko vrsto
- ovrednotenje 68 izolatov
- metoda hitre diagnostike:
 - direktno iz okuženega lesa
 - iz čistih kultur



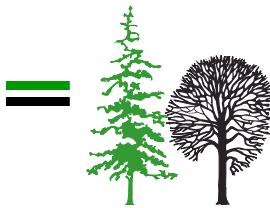
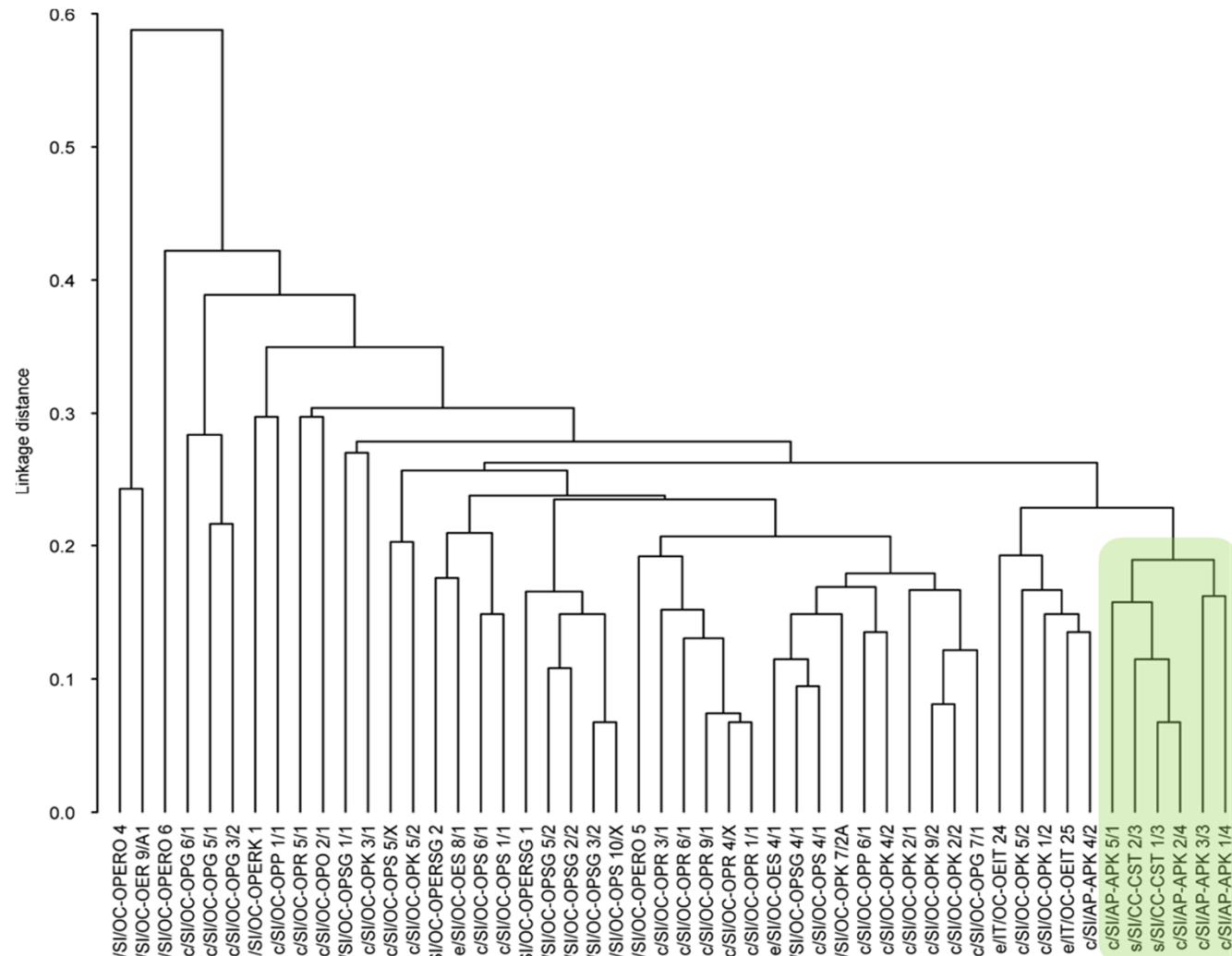
Gozdarski inštitut Slovenije
Slovenian Forestry Institute

Botryosphaeriaceae

- odmiranje črnih gabrov (1997 dalje)
- *Botryosphaeria dothidea*
- *Dothiorella* spp.



Botryosphaeria dothidea



Giberella circinata:

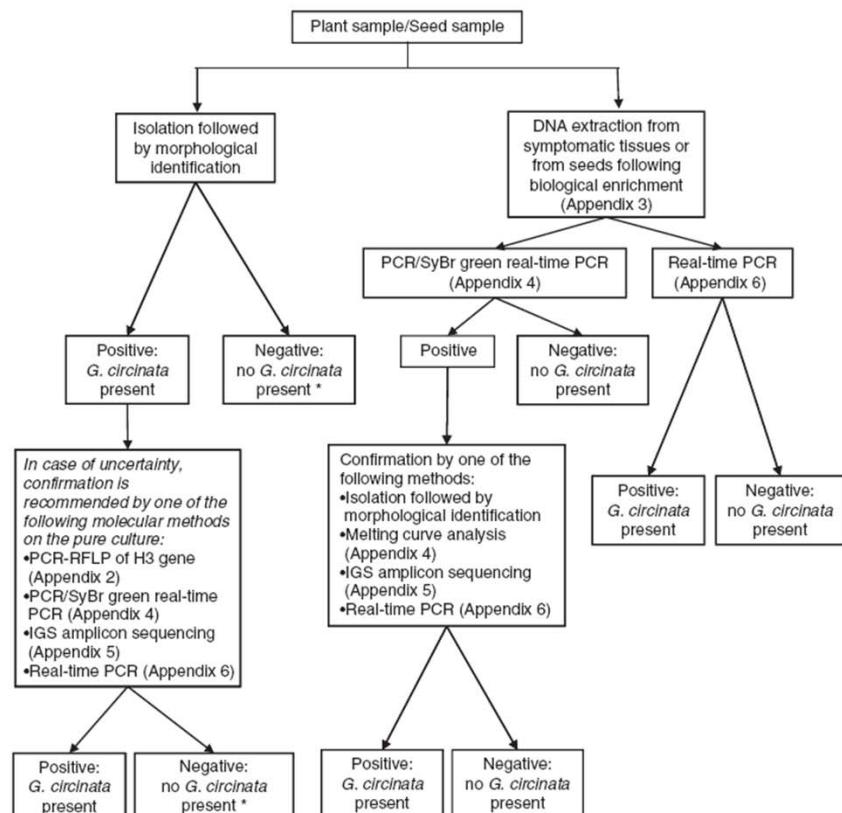


Fig. 5 Flow diagram for diagnosis of *Giberella circinata* on plant tissue and on seeds.



