

Spremljanje patogenih mikrobov v zraku s pomočjo eDNA iz pajčjih mrež na primeru jesenovega ožiga (*Hymenoscyphus fraxineus*)

Maja FERLE¹, Polona KOGOVŠEK¹, Nikica OGRIS², Janko ŠET^{3,4}, Barbara PIŠKUR², Tjaša LOKOVŠEK³, Denis KUTNJAK¹, Matjaž GREGORIČ^{3,5}

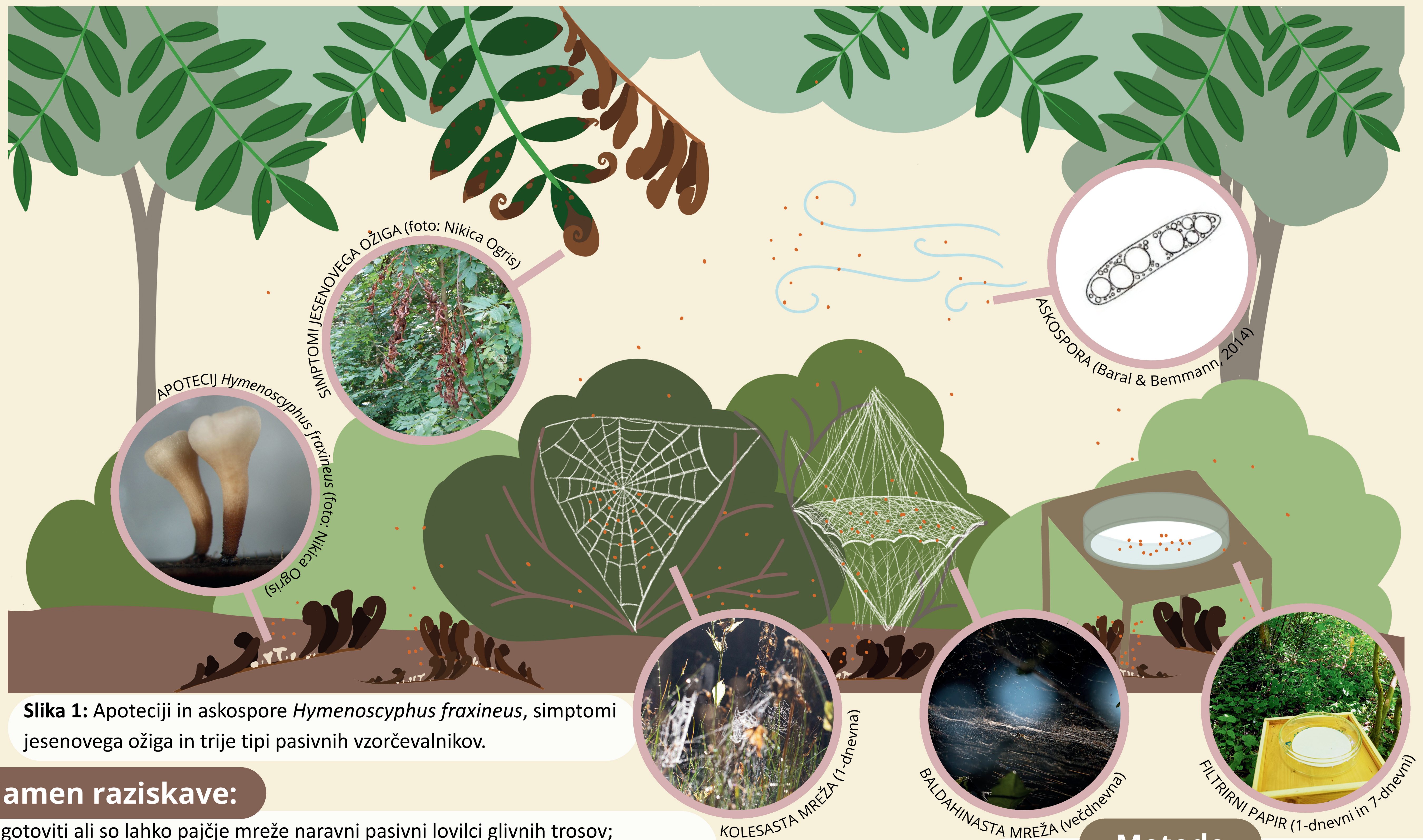
¹Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo, Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 121, 1000 Ljubljana, Slovenija

²Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

³Biološki inštitut Jovana Hadžija ZRC SAZU, Novi trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenija

⁴Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 111, 1000 Ljubljana, Slovenija

⁵Podiplomska šola ZRC SAZU, Novi trg 2, 1000 Ljubljana, Slovenija



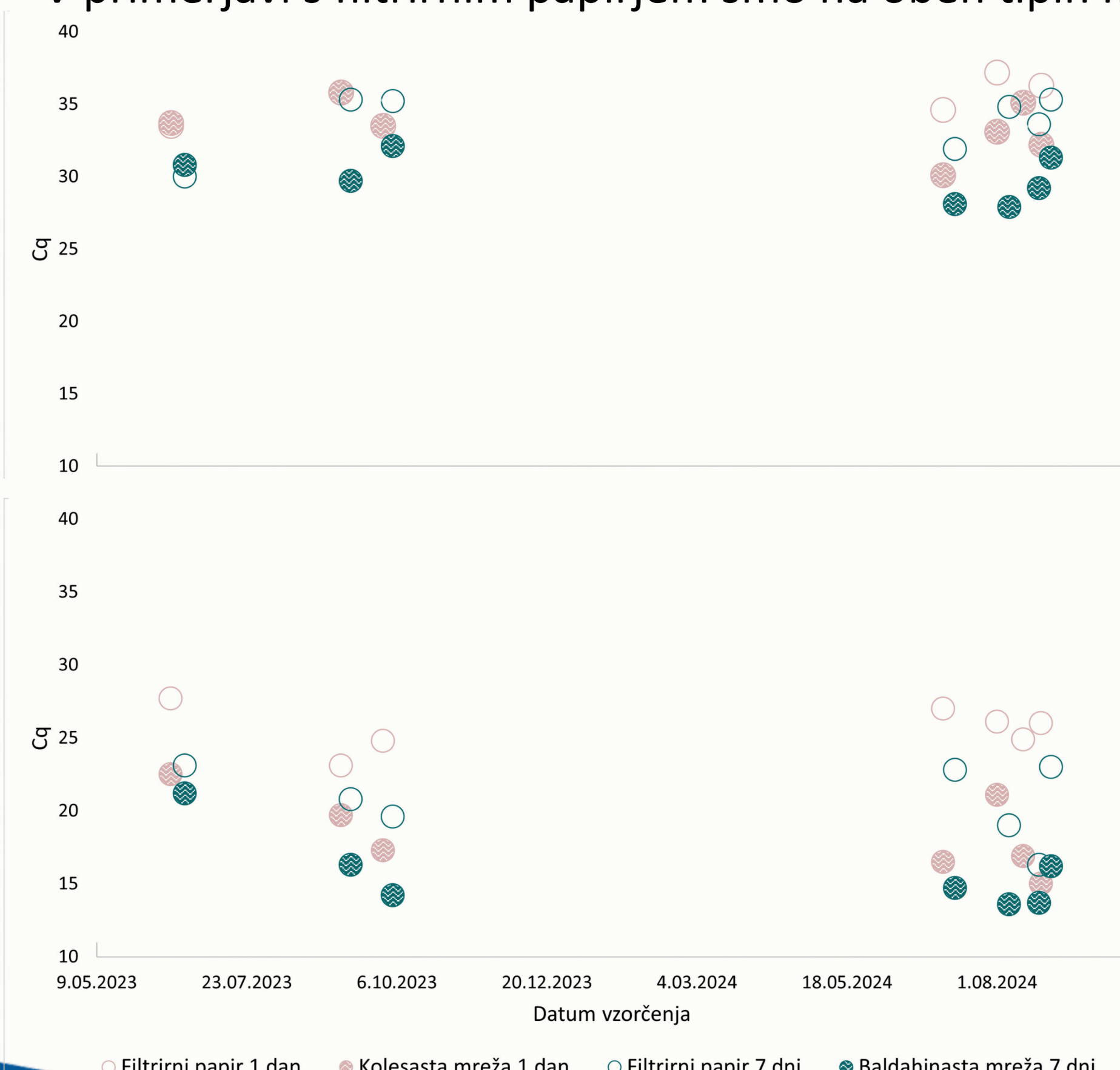
Slika 1: Apoteciji in askospore *Hymenoscyphus fraxineus*, simptomi jesenovega ožiga in trije tipi pasivnih vzorčevalnikov.

Namen raziskave:

- ugotoviti ali so lahko pajčje mreže naravni pasivni lovilci glivnih trosov;
- primerjati pajčje mreže s standardnimi metodami pasivnih lovilcev glivnih trosov;
- na pajčjih mrežah s specifičnim qPCR testom zaznati *Hymenoscyphus fraxineus*, ki povzroča jesenov ožig.

Rezultati

- Pri obeh tipih mrež in filtrirnem papirju smo uspešno določili prisotnost glivne DNA.
- Pri obeh tipih mrež in filtrirnem papirju smo v več časovnih točkah potrdili prisotnost *H. fraxineus*.
- V primerjavi s filtrirnim papirjem smo na obeh tipih mrež zaznali večjo količino DNA *H. fraxineus* (Slika 2).



Slika 2: Vrednosti Cq specifičnega testa *H. fraxineus* (zgoraj) in splošnega glivnega testa FungiQuant (spodaj) v sedmih časovnih točkah. Rožnata barva prikazuje enodnevna vzorčenja in zelena barva 7-dnevna vzorčenja. Zapolnjene točke predstavljajo pajčje mreže, prazne točke predstavljajo filtrirni papir. Prikazane so povprečne vrednosti Cq, izračunane iz treh tehničnih ponovitev. Nižje vrednosti Cq nakazujejo na večjo količino zaznane DNA.

Metode

V letih 2023 in 2024 smo izvedli sedem vzorčenj v gozdnem sestoju velikega jesena in črne jelše, kjer smo potrdili prisotnost apotecijev *H. fraxineus*. Vzorčili smo dva tipa pajčjih mrež: **kolesaste** (lepljive) in **baldahinaste** (nelepljive). Sočasno smo na isti lokaciji postavili pasivne vzorčevalnike, ki so običajno v uporabi za vzorčenja glivnih spor (**filtrirni papir**). Oba tipa pajčjih mrež je vzorčil en raziskovalec 30 minut v radiju 25 m od pasivnih vzorčevalnikov in na višini 0,5–1 m nad tlemi. **Filtrirni papir** (standardni pasivni vzorčevalnik) je bil istočasno izpostavljen 1 dan (primerljivo s kolesastimi mrežami) in 7 dni (primerljivo z baldahinastimi mrežami).

Glivno DNA smo izolirali in jo z metodo verižne reakcije s polimerazo v realnem času (RT-PCR) testirali s splošnim testom za glivno DNA (FungiQuant) in specifičnim testom za *H. fraxineus*.

Zaključki

- S testoma na osnovi qPCR smo potrdili prisotnost glivne DNA in *H. fraxineus* v gozdnem sestoju.
- Pajčje mreže so bolj učinkovite od standardnega pasivnega lovilca glivnih trosov (filtrirni papir).
- Na pajčjih mrežah smo zaznali večjo količino DNA *H. fraxineus* kot na pasivnih vzorčevalnikih (filtrirni papir) v istem okolju.