



Snabb och säker detektion av *Leptosphaeria maculans* "brassicae" med LAMP PCR

Zahra Omer & Ann-Charlotte Wallenhammar
HS Konsult AB

I. Bakgrund



- ❑ Torröta "brassicae" orsakas framförallt av *L. maculans* (asexuellt stadium: *Phoma lingam*) samt *L. biglobosa*.
- ❑ Svampen sprids huvudsakligen med infekterade skörderester.
- ❑ Stort problem där raps odlas i stor omfattning i Europa, Kanada och i Australien.
- ❑ I Sverige dominerar *L. maculans*, ökad risk med klimatförändring.



Fitt m fl. 2006



Fitt m fl. 2006

Loop-Mediated Isorhermal Amplification (LAMP)



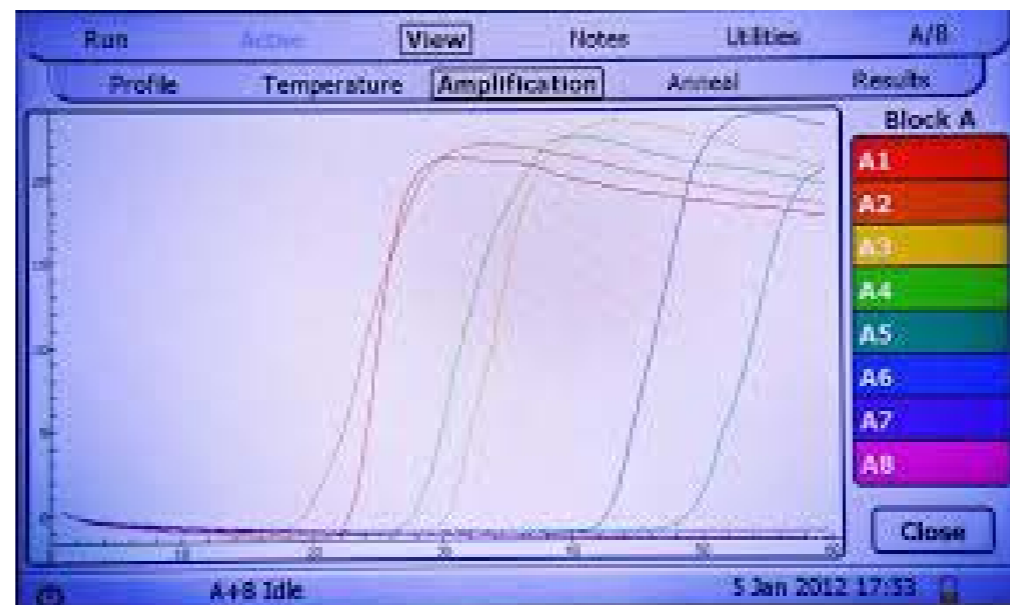
Enkel utrustning

Detektion (Ja/nej)

Färg indikator; 1 tim vid 60-65° C



Detektion + kvantifiering





Syftet är att utveckla en enkel och snabb diagnostisk metod för tidig detektion av *L. maculans* med "LAMP PCR" genom att designa *L. maculans* specifika LAMP-primers.



Höstrapsfält (Alnarp, 2015)

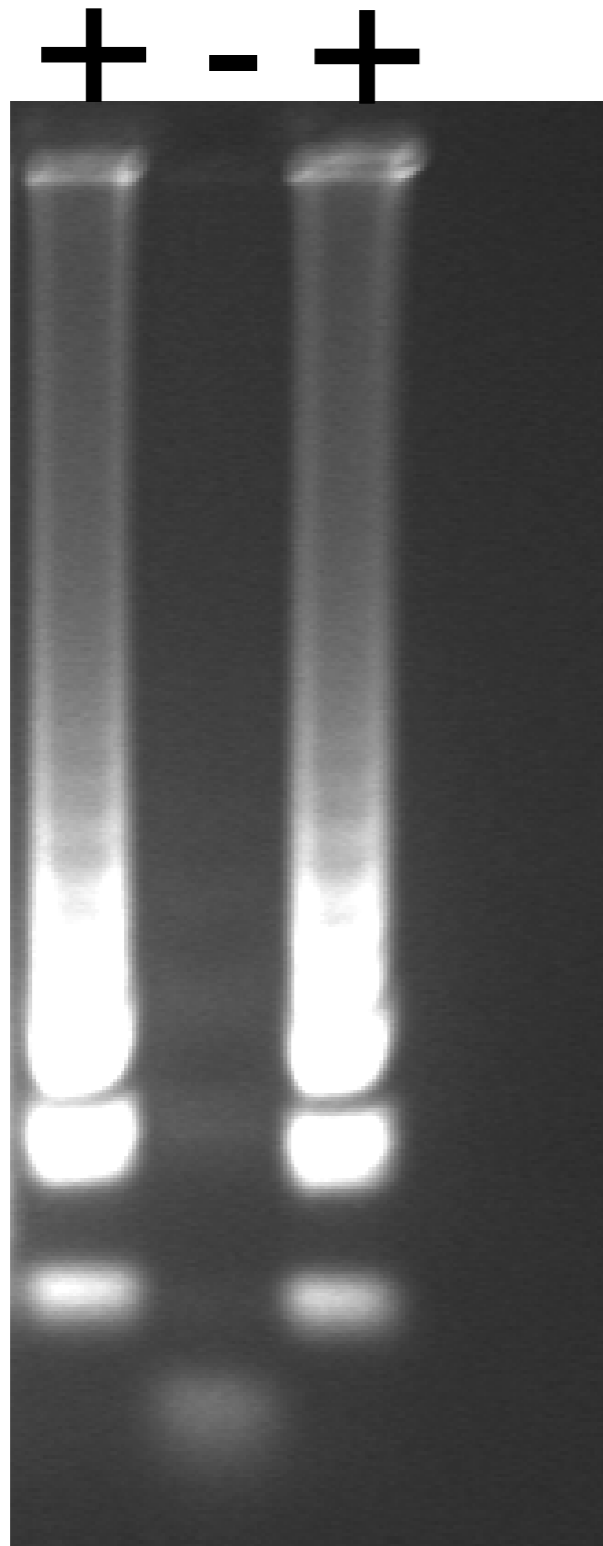
II. Material & metod

1. *L. maculans* "brassicae" isolat
2. Isolering av *Leptosphaeria* spp
3. Primers design
4. DNA extrahering
5. LAMP PCR

III. Resultat



LAMP PCR



+

-

+



LAMP med Hydroxy Naphthol Blue; 1 tim; 65° C

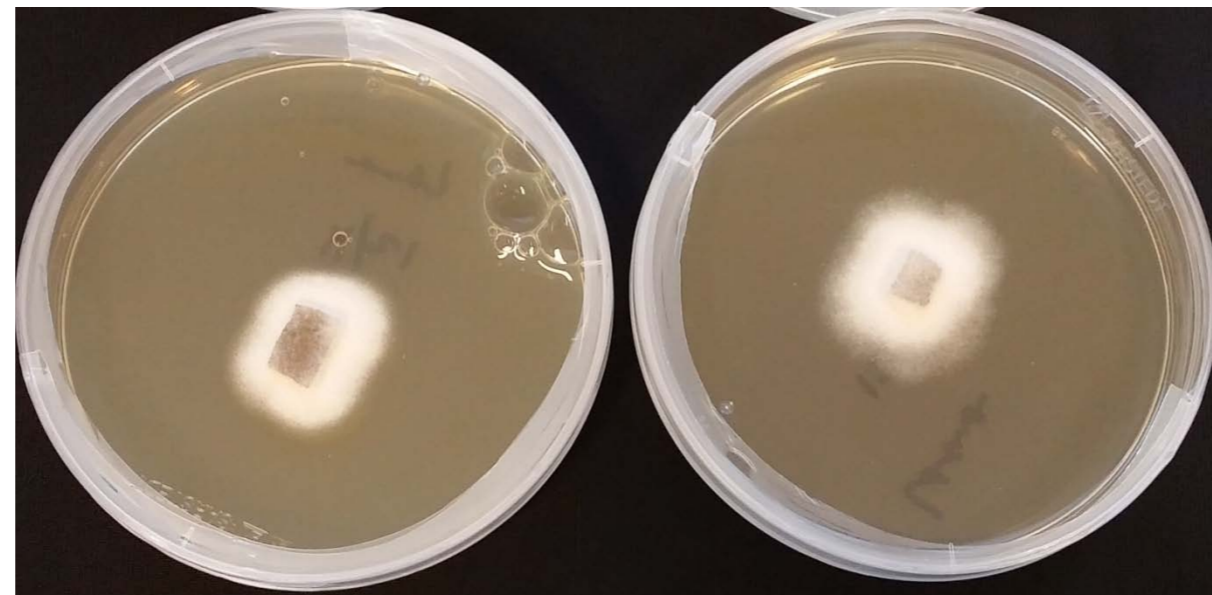
III. Resultat



III. Resultat



Höstrapsblad: Skara 2015



IV. Sammanfattning

LAMP PCR:

DNA från 8 *L. maculans* "brassicae" isolat amplifierades med LAMP primer set.

DNA från två bladprover med bladfläckar, visade tydlig positiv LAMP reaktion i alla tester.

Isolering från infekterade rapsblad och själkar:

Isolaten liknar *L. maculans*/*L. biglobosa*, men måst identifieras.

V. Framtida studier

- Verifiera specificiteten av primer set mot *L. maculans*
- Bestämna känsligheten av metoden (detektionsgräns).
- Bekräfta identifiering av de isolerade svampar med PCR.
- Studera förekomsten av *L. maculans*/*L. biglobosa* i höstraps med LAMP PCR.

Dr. Angela Van de Wouw, School of BioSciences, University of Melbourne, Australia.

Gunilla Berg, Växtskyddcentralen, Alnarp.

C.F. Lundströms Stiftelse.

Tack!!!!!!

