**Streszczenie zadania za 2020 r. w Programie Badań Podstawowych w Produkcji Roślinnej.**

***Numer zadania (4-3-00-4-01) - tytuł zadania:* Eliminacja patogenów niekwarantannowych (bakterie endogenne i wirusy) oraz kontrola zdrowotności roślin ziemniaka w banku in vitro.**

**Cel zadania:** Uwolnienie wybranych genotypów ziemniaka od wirusów PVS, PVM i PVY przy zastosowaniu termoterapii i izolacji merystemów. Przebadanie skuteczności kilku substancji antywirusowych w uwalnianiu roślin *in vitro* ziemniaka od wirusów PVS, PVM i PVY przy zastosowaniu chemioterapii. Przebadanie skuteczności kilku preparatów bakteriobójczych w zwalczaniu zanieczyszczeń bakteryjnych w kulturach *in vitro* wybranych genotypów ziemniaka oraz przebadanie skuteczności i fitotoksyczności PPM™, ProClin300® i podchlorynu sodu (NaClO) w procesie mikrotuberyzacji.

**Wyniki:**

Temat 1. Opracowanie metod skutecznego uwalniania od wirusów genotypów wprowadzanych do Banku Genów *in vitro* ziemniaka.

Bulwy trzech odmian: Linzer Starke porażona wirusem PVS, TE -1 z wirusem PVM i EF 55-8545 z wirusem PVY wysadzono do doniczek z substratem torfowym i po wschodach umieszczono w komorze termoterapijnej. Przez okres 4-5 tygodni rośliny poddane zostały działaniu wysokiej temperatury: 37°C w dzień i 33°C w nocy, przy oświetleniu ok. 10 W·m² z zachowaniem fotoperiodu 16/8h. W 5 tygodniu trwania termoterapii pobrano z roślin pąki kątowe i szczytowe, z których następnie izolowano merystemy (0,1-0,4 mm). Pąki kątowe zostały podzielone między dwóch wykonawców. Procent otrzymanych roślin in vitro, w tym roślin uwolnionych od wirusa jaki uzyskano z wyizolowanych merystemów był zależny m.in. od wykonawcy. Duży problem w uwalnianiu stwarza wirus PVS, dlatego izolowano w miarę możliwości tylko kopułę merystematyczną. W zależności od wykonawcy uzyskano 56% zregenerowanych roślin z wyizolowanych merystemów, w tym 34% roślin wolnych od wirusa S ziemniaka – wykonawca 1 i 42% zregenerowanych roślin, w tym 24% zdrowych – wykonawca 2. Z odmiany zainfekowanej wirusem PVM w zależności od wykonawcy uzyskano 70% zregenerowanych roślin in vitro, w tym 52% wolnych od PVM – wykonawca 1 oraz 52% zregenerowanych roślin, w tym zdrowych 43% - wykonawca 2. Z kolei wirus Y ziemniaka jest wirusem, który łatwo uwalnia się pod wpływem działania wysokiej temperatury i w zależności od wykonawcy uzyskano 86% roślin zregenerowanych, z czego 85% wolnych od PVY – wykonawca 1 i 82% roślin zregenerowanych, w tym wolnych od PVY 78% - wykonawca 2. W chemioterapii rośliny *in vitro* 5 odmian tj. Linzer Starke, Eugenia (PVS), TE-1, Giewont (PVM) i EF 55-8545 (PVY), u których testem DAS ELISA stwierdzono wysokie porażenie wirusami poddano działaniu dwóch substancji antywirusowych: rybawiryny (30, 35 i 40 mg/l)i tiouracylu (5, 10 i 20 mg/l). Nasze badania wykazały, że zarówno rybawiryna, jak i tiouracyl dodane do podłoża nieznacznie obniżają poziom ekstynkcji wirusa PVS i PVY, natomiast nie mają wpływu na zmniejszenie koncentracji wirusa M ziemniaka. Wraz ze wzrostem stężenia RBV w pożywce wprost proporcjonalnie wzrasta jego fitotoksyczne działanie na rośliny in vitro. Dodany do podłoża tiouracyl nie ma negatywnego wpływu na wzrost i rozwój roślin *in vitro.*

Temat 2. Badanie preparatów do zwalczania zanieczyszczeń bakteryjnych w kulturach in vitro ziemniaka.

W 2020 roku materiał badawczy stanowiły rośliny *in vitro* 4 odmian: Finezja, Gawin, Harpun i Michalina pozyskane z banku genów *in vitro* ziemniaka, w których stwierdzono zanieczyszczenia bakteryjne. Z preparatów dostępnych na rynku wybrano trzy: Plant Preservative Mixture ™ (PPM™), ProClin300® i podchloryn sodu (NaClO). W zależności od zastosowanego biocydu eliminacja bakterii endogennych była zróżnicowana. Dodany do podłoża preparat PPM™, podobnie jak w latach poprzednich nie wykazywał fitotoksycznego wpływu na eksplantaty. Rośliny rozwijały się prawidłowo i dobrze się korzeniły. Najniższa dawka 0,3% w dużym stopniu eliminowała bakterie endogenne – 93% czystych kultur. Wyższe dawki 0,4 i 0,5% to 100% kultur wolnych od zanieczyszczeń bakteryjnych. Dodatek do pożywki ProClin300® przy dawkach 0,01 i 0,02% eliminował bakterie endogenne w 74,5-87,8%, jednocześnie nie zaobserwowano fitotoksycznego działania preparatu na wzrost i rozwój roślin *in vitro*. Natomiast najwyższa dawka 0,03% wyeliminowała całkowicie zanieczyszczenia bakteryjne. Podchloryn sodu (NaClO) dodany do pożywki w badanych dawkach całkowicie wyeliminował endofity. Jednocześnie nie zaobserwowano szkodliwego działania na wzrost i rozwój roślin *in vitro*.

Sprawdzając wpływ zastosowanych biocydów na tworzenie mikrobulw stwierdzono istotne różnice między odmianami, natomiast zastosowane biocydy nie miały wpływu na współczynnik rozmnażania. Odmiana Michalina miała najwyższy ze wszystkich badanych odmian współczynnik rozmnażania niezależnie od zastosowanego biocydu. Pozostałe odmiany (Finezja, Gawin i Harpun) plonowały na podobnym poziomie.

**Wnioski:**

1. Na uzyskanie roślin wolnych od wirusa PVS, PVM i PVY poddanych termoterapii i izolacji merystemów duży wpływ ma czynnik osobowy, na co składa się precyzja i wielkość izolowamego merystemu.

2. Kultura merystemów w połączeniu z termoterapią jest obecnie standardowo stosowana w celu uzyskania zdrowych, wolnych od patogenów roślin ziemniaka.

3. Rybawiryna w niższych dawkach dodana do pożywki nieznacznie zmniejsza koncentrację wirusa PVS wprost proporcjonalnie do stężenia.

4. Rybawiryna w wyższych dawkach dodana do pożywki znacząco zmniejsza koncentrację wirusa PVS.

5. Dodanie do pożywki rybawiryny nie ma wpływu na zmniejszenie koncentracji wirusa PVM.

6. Rybawiryna ma wpływ na zmniejszenie koncentracji wirusa PVY.

7. Wraz ze wzrostem stężenia rybawiryny w podłożu wprost proporcjonalnie wzrasta jego fitotoksyczne działanie na rośliny *in vitro*.

8. Tiouracyl dodany w badanych dawkach do pożywki nie ma wpływu na zmniejszenie stężenia wirusa PVS.

9. Dodatek tiouracylu rybawiryny nie ma wpływu na zmniejszenie koncentracji wirusa PVM.

10. Zastosowane dawki tiouracylu zmniejszyły ekstynkcję wirusa PVY.

11. Dodany do podłoża tiouracyl nie ma negatywnego wpływu na wzrost i rozwój roślin *in vitro*.

12. Preparat PPM™ w badanych dawkach eliminował zanieczyszczenia bakteryjne w 93 - 100% nie wykazując fitotoksycznego działania na rośliny *in vitro.*

13. Zsatosowane dawki ProClin 300® eliminowały występowanie zanieczyszczeń endogennych w 74,5-100%, tylko najwyższa dawka wpłynęła na słabszy wzrost i rozwój roślin *in vitro*.

14. Zastosowane dawki NaClO całkowicie wyeliminowały endofity, jednocześnie nie zaobserwowano fitotoksycznego działania związku na wzrost i rozwój roślin *in vitro*.

15. W procesie mikrotuberyzacji dodatek zastosowanych substancji bakteriobójczych nie ma istotnego wpływu na tworzenie mikrobulw ziemniaka.