


Zadanie 58

Opracowanie czułych metod wykrywania najważniejszych wirusów ziemniaka

Kierownik zadania: dr Krzysztof Treder

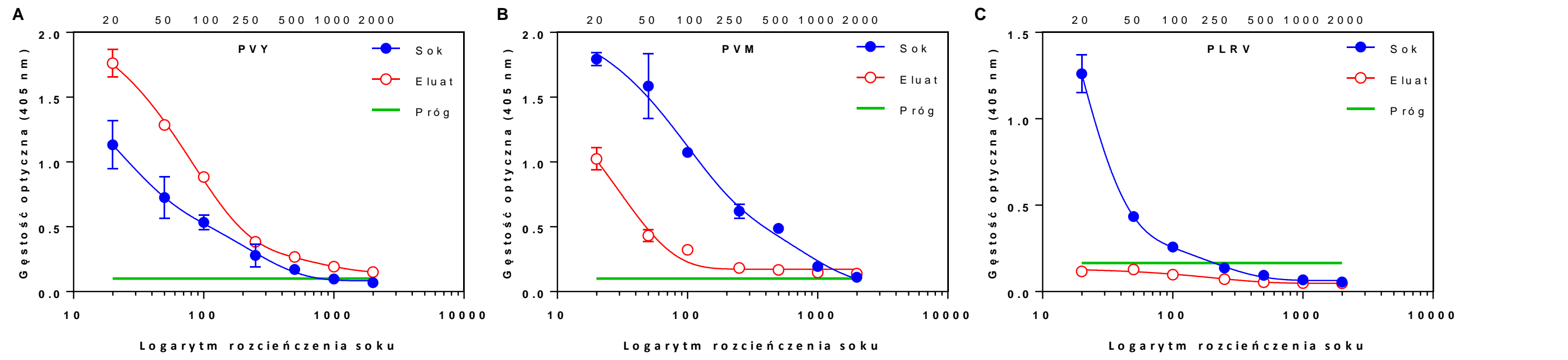
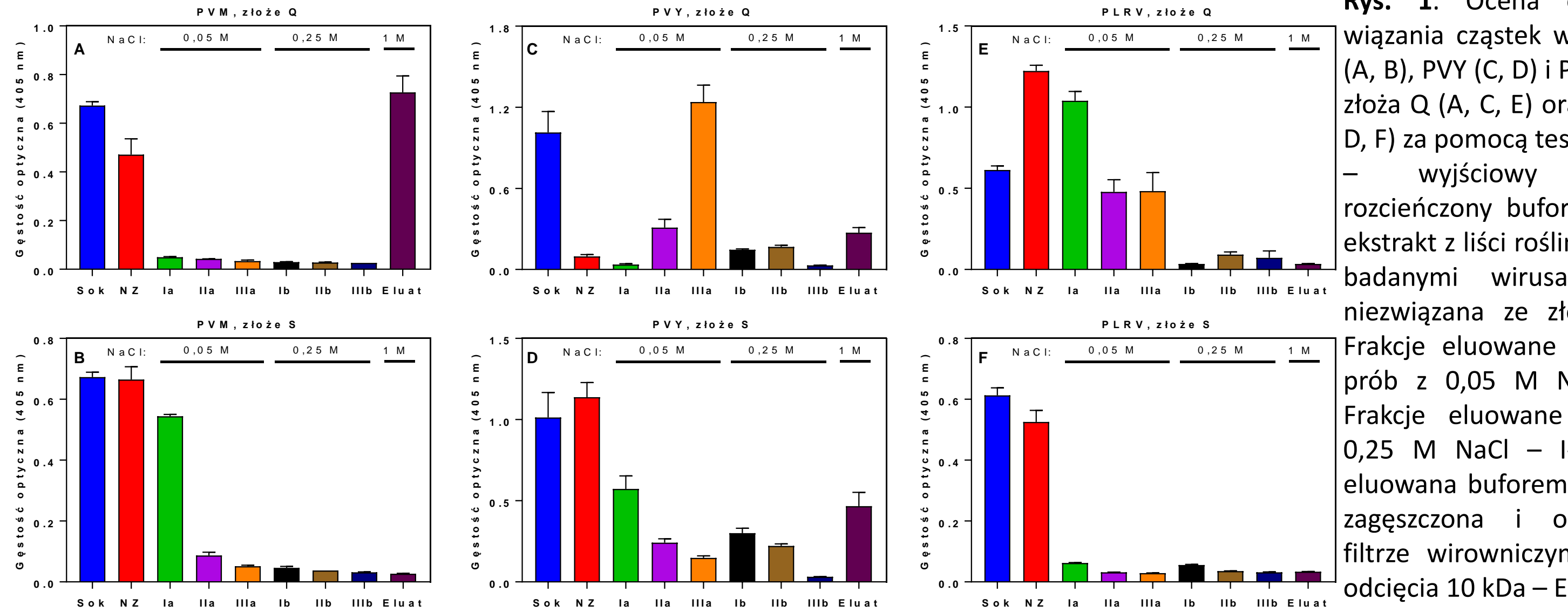
Wykonawcy: mgr inż. Mateusz Mielczarek, mgr inż. Anna Pawłowska, st. technik Maria Fedczak

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział w Boninie, 76-009 Bonin



Temat badawczy 1

Opracowanie metody zagęszczania wirusów z większych objętości poprzez wiązanie cząstek wirusa na membranach jonowymiennych



Wnioski:

- Cząstki wszystkich badanych wirusów wiązały się ze złożem Q.
- Siła wiązania PVM była wysoka a PLRV niska.
- PVY jest niejednorodny ładunkowo i występuje w postaci frakcji o różnej sile wiązania do złoża Q i złoża S.
- Opracowana metoda była bardzo czuła w wykrywaniu PVY i PVM, nie wykrywała jednak PLRV.
- Skutecznie wykrywanie wszystkich badanych wirusów opracowaną metodą wymaga dalszych badań.

Lp	Miernik dla tematu badawczego 1	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.1	Liczba badanych wirusów	3	3

Temat badawczy 2

Ocena wpływu odporności odmian ziemniaka na skuteczność wykrywania wirusów w bulwach

Tabela 1. Wpływ odporności odmian na wykrywalność wirusów, rok 2018, doświadczenie polowe w Boninie. Liczba krzaków – LK., Odporność – Odp., Ekstrakty z bulw – B, ekstrakty z kielków – K, ekstrakty z liści roślin wyrosłych z prób oczkowych – O.

BONIN	PVY					PVM				PLRV			
Odmiana	LK	Odp.	B	K	O	Odp.	B	K	O	Odp,	B	K	O
Quincy	30	3,5	21	27	30	3	4	2	4	3,5	1	0	0
Krasa	30	4	27	27	29	5	2	2	2	6	0	0	0
Fresco	30	5	26	26	27	4	0	0	0	5	0	3	1
Irys	30	5,5	24	27	28	3,5	9	9	9	4,5	1	1	1
Karatop	30	6	19	21	21	4,5	0	0	0	7	0	0	1
Andromeda	30	6,5	0	1	2	3,5	1	3	2	6	0	0	0
Gwiazda	30	7	7	7	18	b.d.	3	3	3	7	0	0	0
Zeus	30	7,5	9	14	20	7	1	0	0	6,5	0	0	0
Finezja	30	9	0	0	0	8	0	0	0	7	0	0	0

Tabela 2. Wpływ odporności odmian na wykrywalność wirusów, rok 2018, doświadczenie polowe wykonane przez trzech niezależnych wykonawców (W1-W3).

Wyk. / Odmiana	PVY			PVM			PLRV		
	B	K	O	B	K	O	B	K	O
W1-1	7	28	24	26	18	17	0	0	0
W1-2	11	26	19	12	12	5	0	0	0
W1-3	1 ^a	23	17	16	16	9	0	0	0
W1-4	5	22	16	27	26	17	0	0	0
W1-5	7	26	20	17	13	11	0	0	0
W2-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
W2-2	24	30	30	0	0	2	0	0	0
W2-3	11	30	30	0	0	0	0	0	0
W3-1	15	30	30	10	8	19	0	0	0
W3-2	1	2	2	0	0	0	1	0	1
W3-3	12	30	30	16	14	17	0	0	0

Wnioski:

- W doświadczeniu polowym wykonanym w Boninie porażenie PVY było wysokie w porównaniu z ubiegłymi sezonami wegetacyjnymi, a porażenie PVM i PLRV bardzo niskie, podobnie jak w ubiegłych sezonach.
- Temperatury w sezonie wegetacyjnym były wysokie i stąd duże porażenie PVY.
- Dla PVY potwierdzono wpływ wzrostu odporności odmian na spadek wykrywalności wirusa w bulwach..

Wyk. / Odmiana	PVY			PVM			PLRV		
	B	K	O	B	K	O	B	K	O
W1-1	7	28	24	26	18	17	0	0	0
W1-2	11	26	19	12	12	5	0	0	0
W1-3	1 ^a	23	17	16	16	9	0	0	0
W1-4	5	22	16	27	26	17	0	0	0
W1-5	7	26	20	17	13	11	0	0	0
W2-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
W2-2	24	30	30	0	0	2	0	0	0
W2-3	11	30	30	0	0	0	0	0	0
W3-1	15	30	30	10	8	19	0	0	0
W3-2	1	2	2	0	0	0	1	0	1
W3-3	12	30	30	16	14	17	0	0	0

Wnioski:

- W doświadczeniu polowym wykonanym w Boninie porażenie PVY było wysokie w porównaniu z ubiegłymi sezonami wegetacyjnymi, a porażenie PVM i PLRV bardzo niskie, podobnie jak w ubiegłych sezonach.
- Temperatury w sezonie wegetacyjnym były wysokie i stąd duże porażenie PVY.
- Dla PVY potwierdzono wpływ wzrostu odporności odmian na spadek wykrywalności wirusa w bulwach..

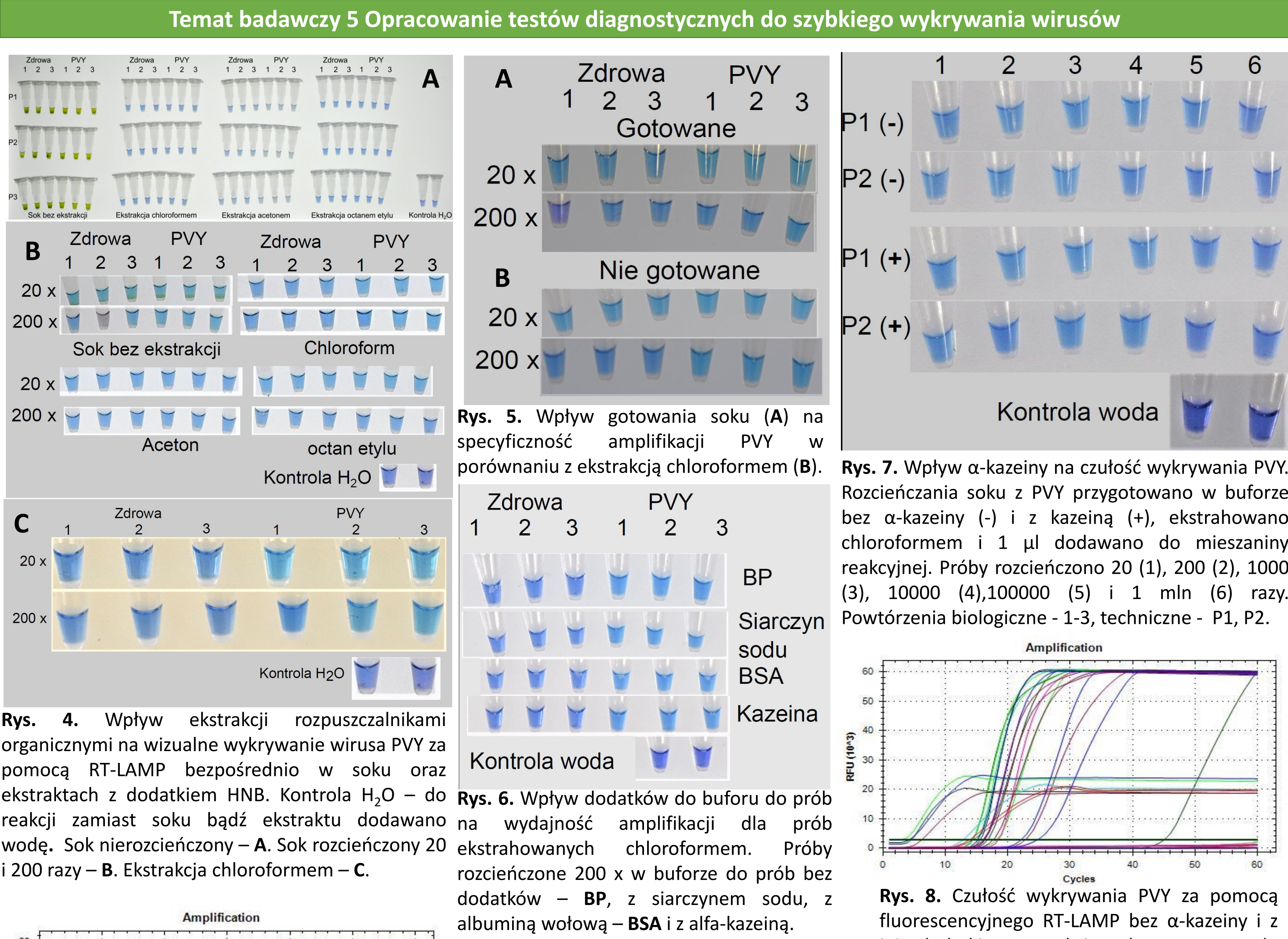
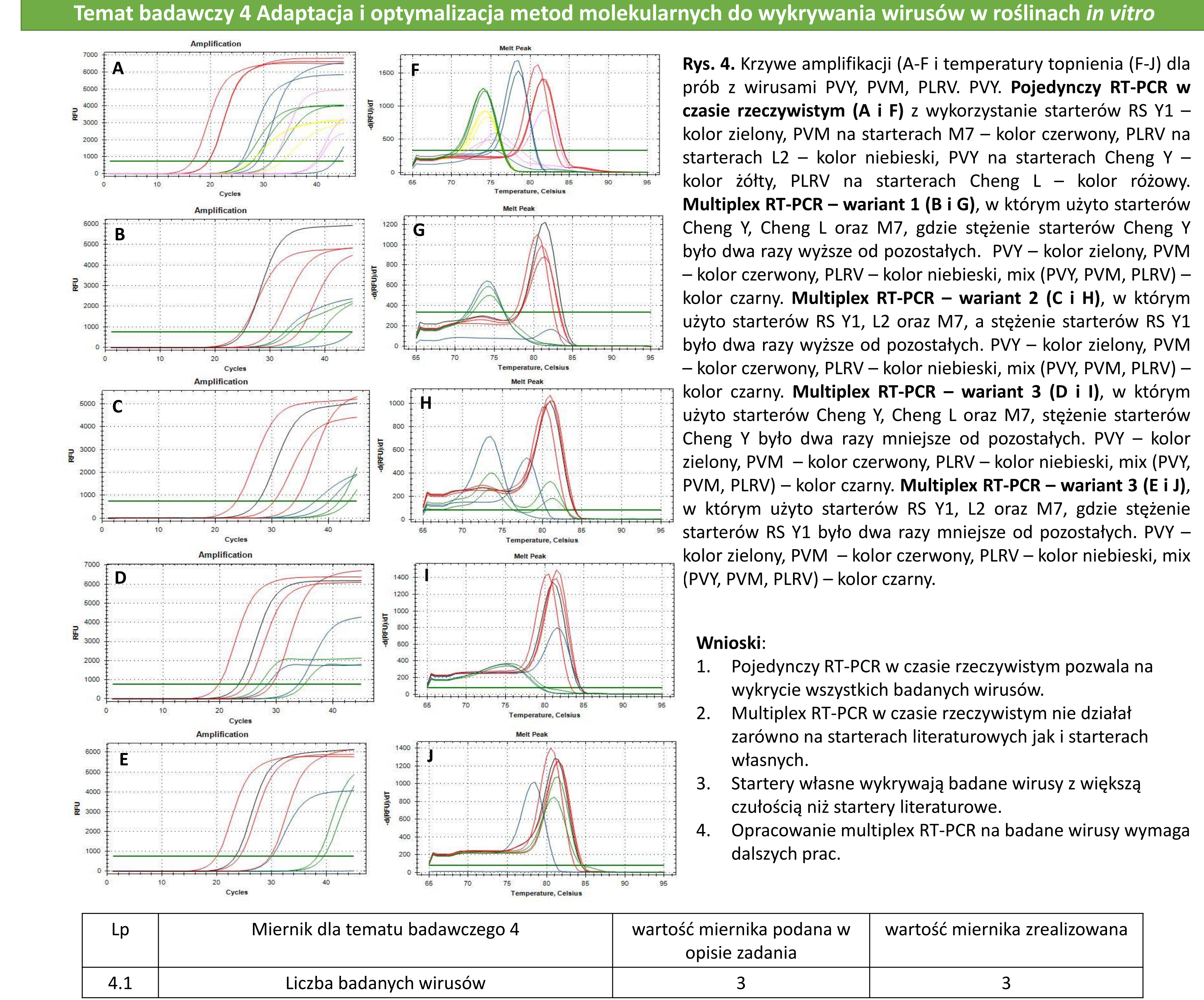
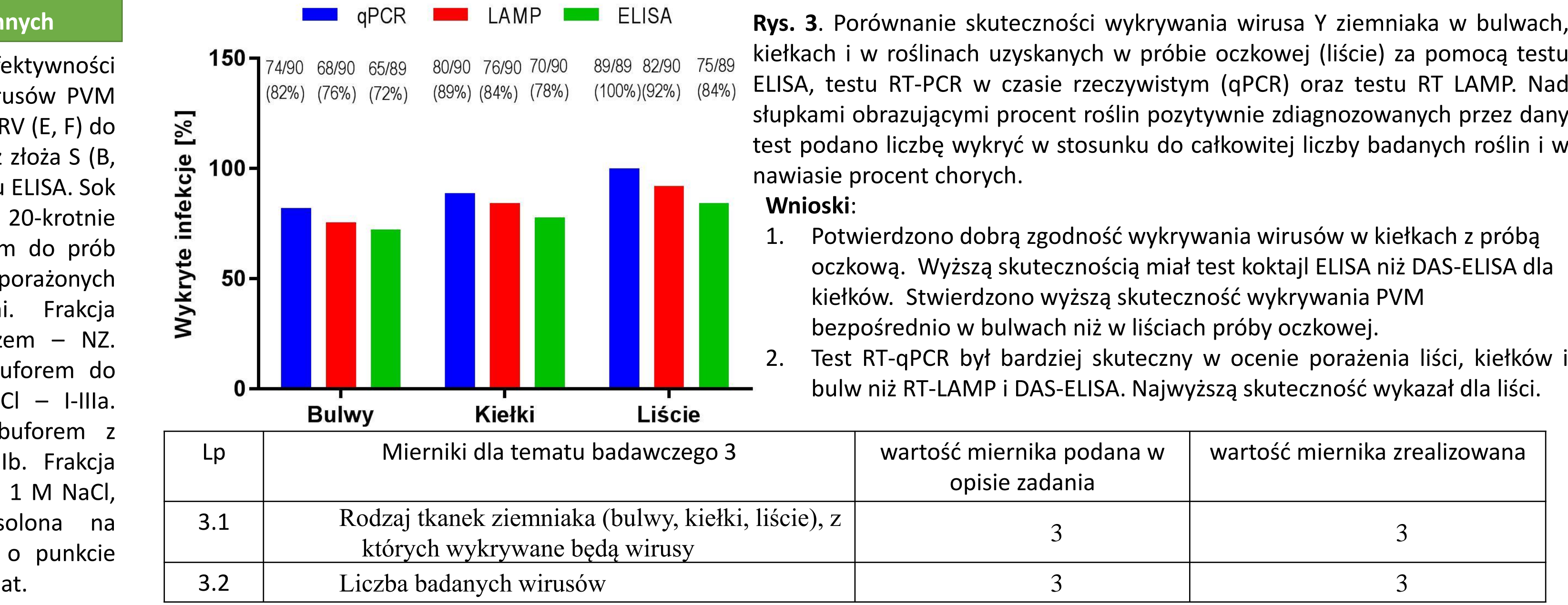
Lp	Mierniki dla tematu badawczego 2	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
2.1	Liczba badanych genotypów ziemniaka	9	9
2.2	Liczba badanych wirusów	3	3

Temat badawczy 3

Badania nad wykrywaniem wirusów w bulwach i kielkach ziemniaka za pomocą koktajli i DAS-ELISA

Tabela 3. Porównanie skuteczności wykrywania wirusów w bulwach i w kielkach z próbą oczkową.

2018	Wykonawca I			Wykonawca II			Wykonawca III		
	Y	M	L	Y	M	L	Y	M	L
Liczba roślin	146	146	146	90	90	90	90	90	90
Oczkowa	96	59	0	60	2	0	62	27	1
%	65,8	40,4	0,0	66,7	2,2	0	68,9	30,0	1,1
Bulwy	31	98	0	35	0	0	28	26	1
%	21,2	67,1	0,0	38,9	0,0	0	31,1	28,9	1,1
Zgodne	23	57	0	35	0	0	27	19	1
Kielki Koktajli	125	85	0	61	0	1	62	17	0
%	85,6	58,2	0,0	67,8	0,0	1,1	68,9	18,9	0,0
Zgodne	88	52	0	60	0	0	62	15	0
Kielki DAS	116	79	0	60	0	0	62	22	0
%	79,5	54,1	0,0	66,7	0,0	0,0	68,9	24,4	0,0
Zgodne	85	52	0	60	0	0	62	17	0



Wnioski:

- Traktowanie soków chloroformem lub gotowanie prób usuwa czynnik powodujący niespecyficzną zmianę koloru błękitu hydroksynaftolowego (HNB) w reakcji RT-LAMP.
- Zmiana barwy uzyskana po stosowaniu chloroformu jest bardziej wyraźna niż po gotowaniu.
- Sok rozcieńczony 200-krotnie stanowi optymalną próbę do wykrywania PVY.
- Dodanie α-kazeiny do buforu do prób, istotnie skraca czas wykrycia w próbach o niskiej koncentracji PVY.
- Czułość wizualnej detekcji jest taka sama jak za pomocą fluorescencyjnego testu RT-LAMP.
- Opracowany kolorymetryczny test RT-LAMP pozwala na wykrycie „gołym okiem” niskich koncentracji PVY bez izolacji RNA i bez stosowania kosztownych urządzeń.

Lp	Miernik dla tematu badawczego 5	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
5.1	Liczba optymalizowanych parametrów (ekstrakcja organiczna, skład buforu, rozcieńczenie soku)	3	3