

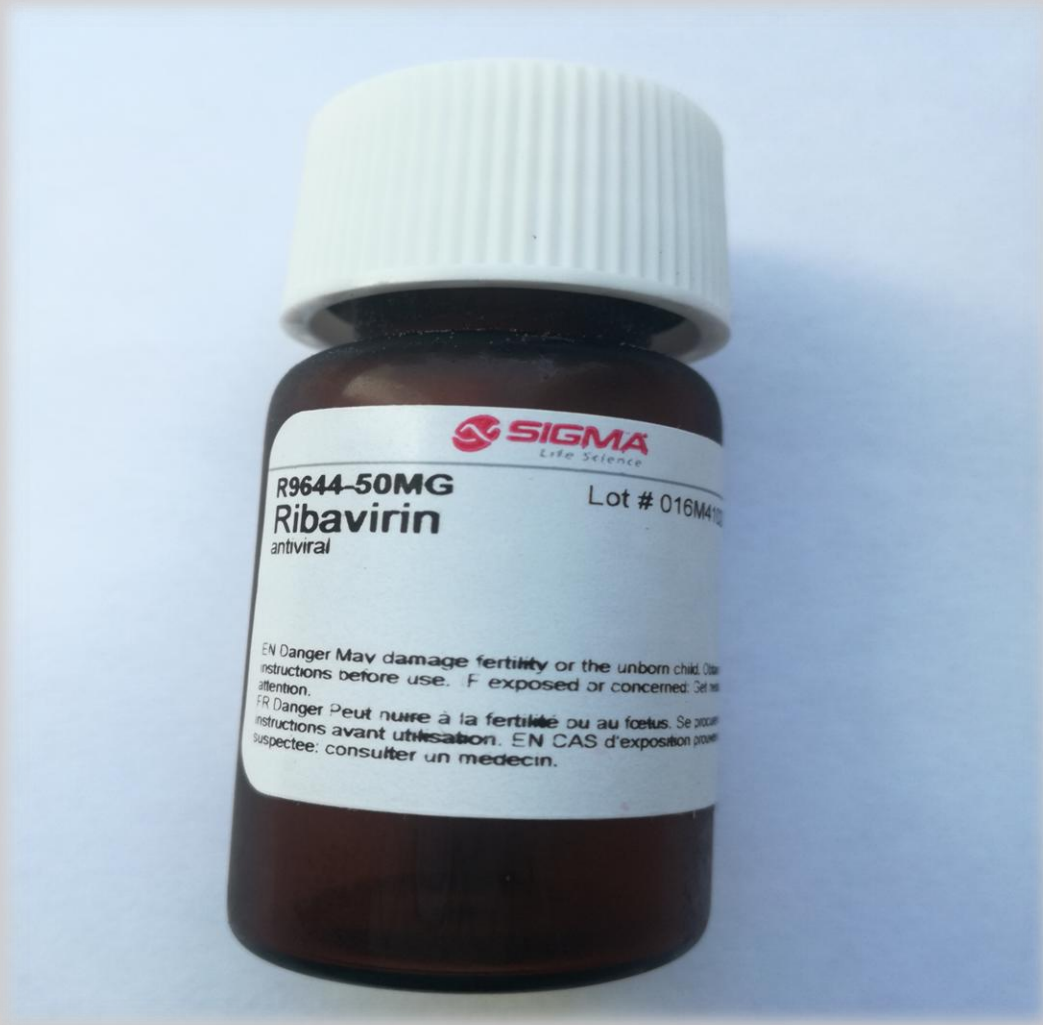


SKUTECZNOŚĆ ZASTOSOWANIA RYBAWIRYNY W UWALNIANIU ROŚLIN OD WIRUSÓW PVS I PVM ZIEMNIAKA

Dorota Michałowska, Agnieszka Przewodowska, Paulina Buryło

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut
Badawczy, Oddział w Boninie
michalowska@ziemniak-bonin.pl

W banku genów *in vitro* zgromadzone zasoby są całkowicie zdrowe, tj. wolne od wirusów (PVA, PVX, PVS, PVM, PVY, PLRV), wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka oraz bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedenicum* i *Ralstonia solanacearum*. Prace badawcze banku *in vitro* ukierunkowane są na dopracowaniu metod eliminacji wirusów, głównie wirusa S i M ziemniaka. Coraz częściej stosowaną metodą uwalniania od wirusów roślin *in vitro* ziemniaka jest chemioterapia. Najbardziej znanym środkiem przeciwwirusowym jest syntetyczny analog nukleozydy purynowej – rybawiryna (RBV). Działanie jej polega na hamowaniu replikacji RNA i DNA niektórych wirusów, co może uwolnić roślinę od wirusa.



MATERIAŁ I METODY

Rośliny *in vitro* czterech odmian (Eugenia, Linzer starke – PVS; Giewont i TE-1 – PVM) , w których testem DAS ELISA stwierdzono wysokie porażenie wirusami poddano działaniu rybawiryny. Pożywkę Murashige-Skooga z ustalonym pH na poziomie 5,8 poddano sterylizacji w autoklawie z zachowaniem parametrów procesu tj. temperatura 121°C, ciśnienie 0,2 MPa i czas 15 minut. Do sterylnej pożywki (2-3 ml), przy pomocy filtrów strzykawkowych, pod komorą laminarną, dodano rybawiryny w dawkach 20, 30, 40 ml/l pożywki. Następnie jednowęzłowe fragmenty roślin *in vitro* umieszczono pojedynczo w probówkach z dodatkiem rybawiryny. Kontrolę stanowiły rośliny wszczone na pożywkę bez antymetabolitu. Wszystkie kultury *in vitro* utrzymywano w fitotronie w temp. 20-22°C z zachowaniem 16 godzinnego dnia i oświetleniu ok. 8 W·m przez okres 3-4 tygodni. W 4 tygodniu z każdej kombinacji wysadzono rośliny w szklarni do doniczek z substratem torfowym. Po kolejnych 4-5 tygodniach rośliny przebadano testem DAS ELISA na obecność wirusów. Doświadczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

WYNIKI

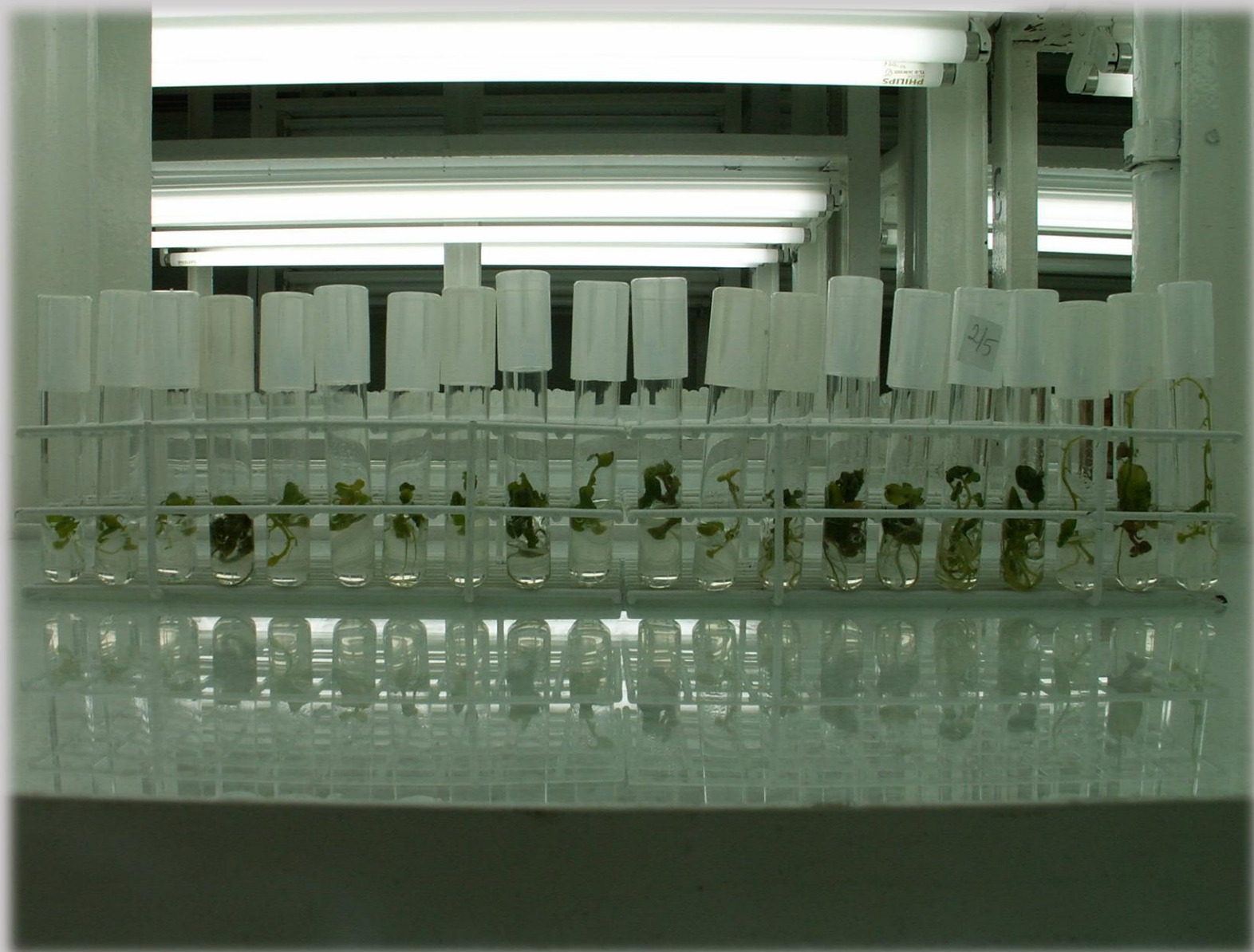
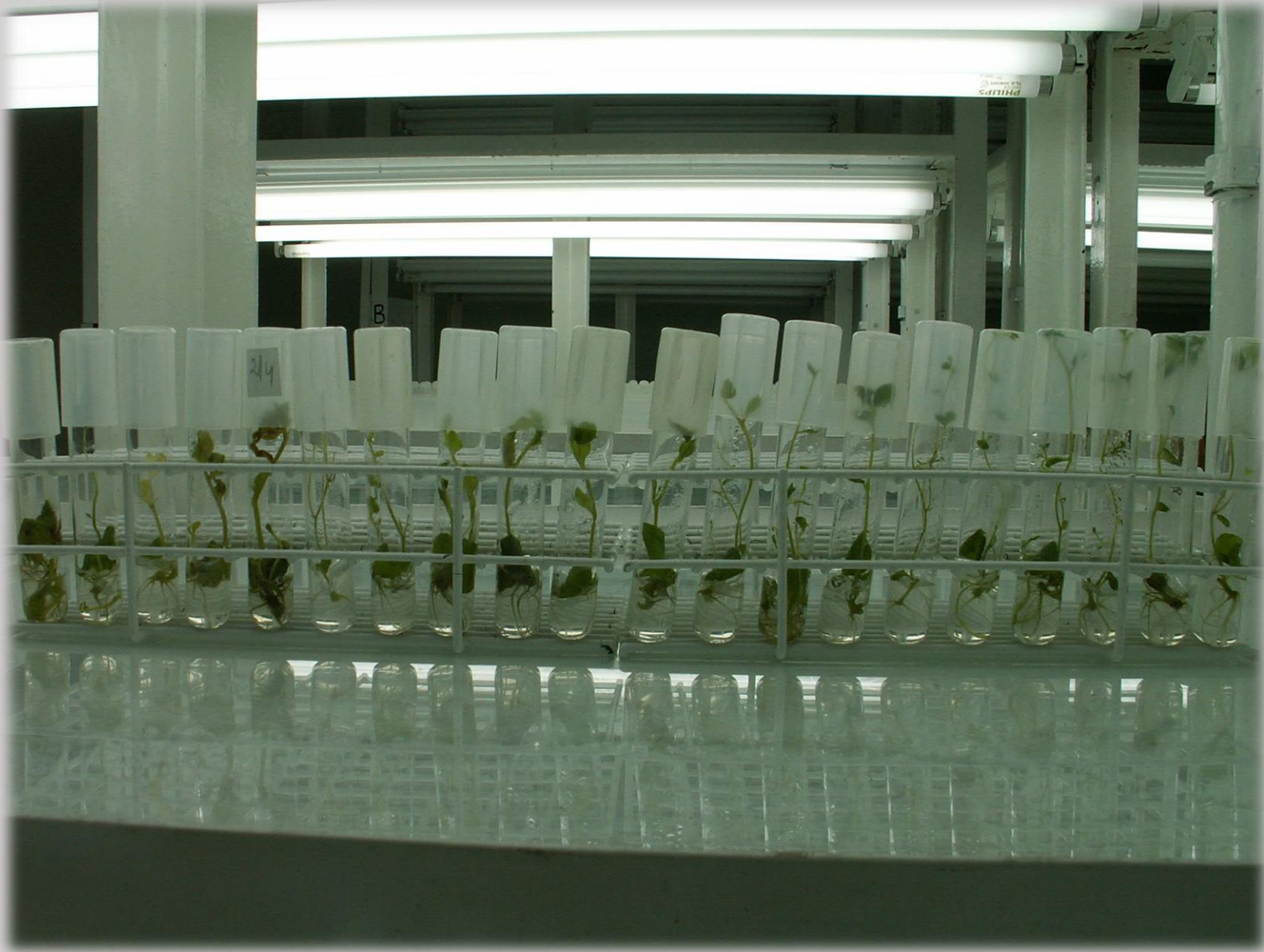
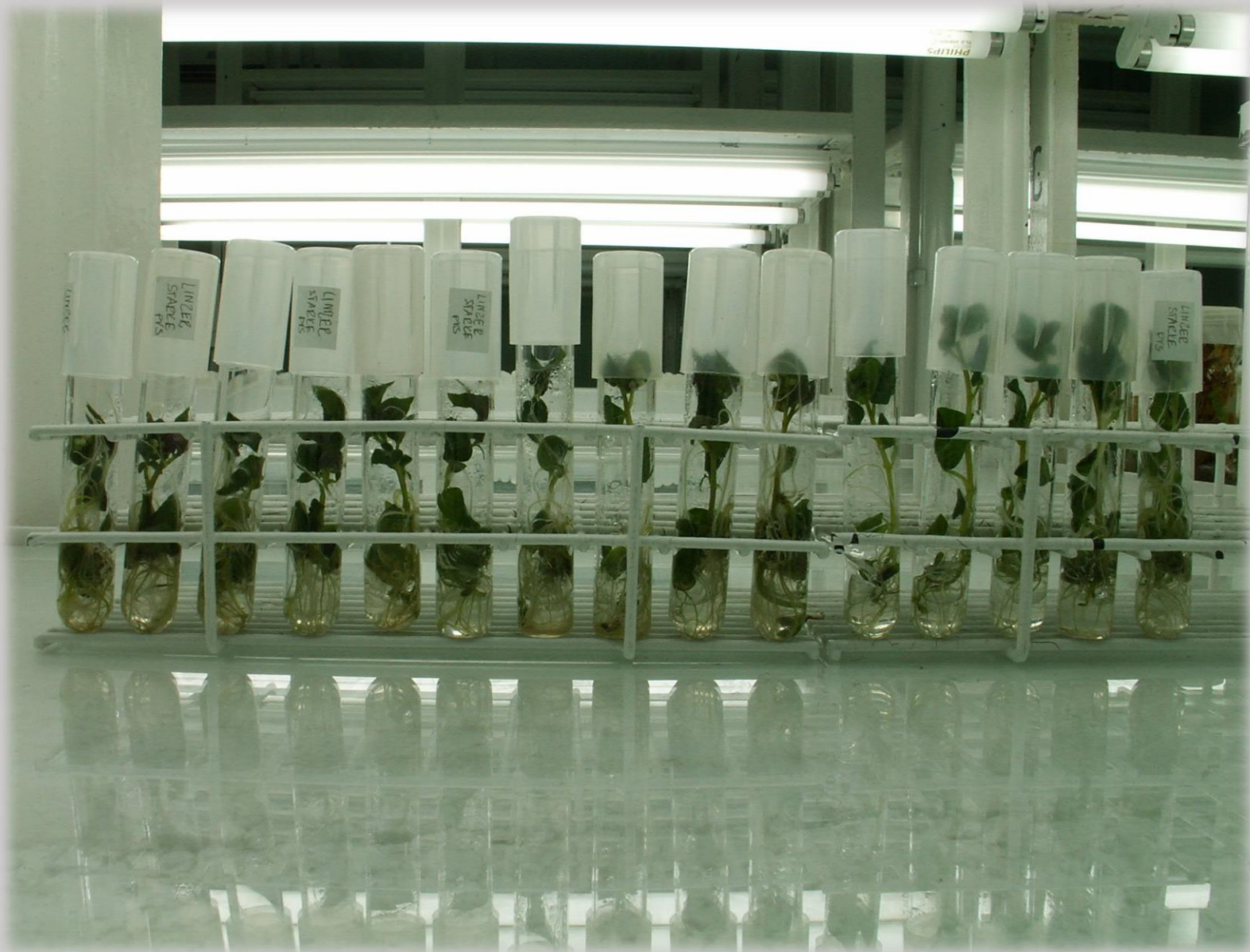
Zastosowane dawki rybawiryny w różnym stopniu miały wpływ na eliminację wirusów w ocenianych genotypach. Dawki RBV 30 i 40 ml/l pożywki wpłynęły na obniżenie poziomu ekstynkcji wirusa PVS, w przypadku wirusa PVM ziemniaka poszczególne dawki RBV nie zadziałały antywirusowo.



genotyp	kontrola	RBV 20	RBV 30	RBV 40
PVS 1	0,216	0,167	0,107	0,089
PVS 2	0,630	0,150	0,120	0,077
PVM 1	1,910	1,930	1.850	2,020
PVM 2	1,520	1,850	1,690	1,610

Tabela 2. Procentowy udział roślin in vitro uwolnionych od wirusów PVS i PVM (średnia z 3 cykli).

genotyp	kontrola	RBV 20	RBV 30	RBV 40
PVS 1	0,0	11,1	28,6	30,0
PVS 2	0,0	40,0	60,0	85,7
PVM 1	0,0	0,0	0,0	0,0
PVM 2	0,0	0,0	0,0	0,0



Fot. 2, 3 , 4. Wpływ różnych stężeń rybawiryny na wzrost i rozwój roślin in vitro.

WNIOSKI

- Rybawiryna dodana do pożywki zmniejsza koncentracje wirusa PVS ziemniaka wprost proporcjonalnie do zastosowanego stężenia.
- Dodanie do pożywki rybawiryny nie ma wpływu na zmniejszenie koncentracji wirusa PVM ziemniaka.
- Wyższe dawki RBV (30, 40 ml/l) działają fitotoksycznie na wszczone eksplantaty (negatywny wpływ na wzrost i rozwój roślin in vitro).