

Zadanie 1.17. Opracowanie technologii produkcji odwirusowanych sadzonek warzyw z zastosowaniem kultur tkanek

Okres realizacji: 2008-2014

Kierownik zadania: **prof. dr hab. Krystyna Górecka**

Wykonawcy: dr W. Kiszczak, mgr Kapuścińska, mgr M. Burian, mgr U. Kowalska, mgr L. Fornal, dr T. Malinowski, G. Szczechowicz

Celem zadania było wykorzystanie kultur tkanek do odwirusowywania i intensywnego namnażania zdrowego materiału roślinnego.

Badania prowadzono dwutorowo:

1. Opracowywano metodę intensywnego mnożenia *in vitro* badanych roślin
2. Wykrywano wirusy w roślinach chrzanu i rabarbaru, a następnie w roślinach wyprowadzonych w kulturach tkanek z roślin porażonych wirusem TuMV w celu stwierdzenia czy w kulturach *in vitro* uwolnione zostały od tego wirusa.

Poszukiwano metod skutecznego wyjąławiania pąków do zakładania kultur *in vitro*. Prowadzono badania nad zdolnościami morfogenetycznymi różnych eksplantatów i doбором pożywek dla każdego z nich. Zoptymalizowano procesy ukorzeniania i adaptacji. Rośliny poddano testom na obecność następujących wirusów: wirusa mozaiki rzepy (*Turnip mosaic virus*, TuMV), wirusa mozaiki gęsiówki (*Arabidopsis mosaic virus*, ArMV), wirusa mozaiki kalafiora (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV), wirusa czarnej plamistości pierścieniowej pomidora (*Tomato black ring virus*, TBRV), wirusa mozaiki ogórka (*Cucumber mosaic virus*, CMV). Przeprowadzono test ELISA, a następnie zastosowano metodę SC-RT-PCR. Do określenia sekwencji izolatów TuMV i TBRV użyta została metoda sekwencjonowania NGS. Rośliny chrzanu i rabarbaru, otrzymane w kulturach tkanek z roślin porażonych TuMV, były testowane w celu stwierdzenia przydatności kultur do eliminacji wirusa.

Opracowano metodę mikrorozmnażania roślin rabarbaru i chrzanu. Znalezione efektywne sposoby sterylizacji bardzo trudnych eksplantatów inicjalnych, jakimi są pąki pobrane z części podziemnych, a więc korzeni czy karp podziemnych. Stwierdzono bardzo dużą zdolność do proliferacji różnych eksplantatów chrzanu: merystemów, rozetek, liści, a nawet ich fragmentów. Dla każdego eksplantatu chrzanu i rabarbaru dobrano pożywki dające najlepszy współczynnik namnażania. Uproszczono ukorzenianie poprzez opracowanie sposobu prowadzenia tego procesu *ex vitro*. W badanych roślinach chrzanu i rabarbaru stwierdzono testem ELISA obecność wirusów TuMV, TBRV, ArMV i CaMV. Obecność CaMV w roślinach chrzanu stwierdzono w Polsce po raz pierwszy. Obecność TuMV, ArMV i CaMV w wybranych roślinach potwierdzono dodatkowo testem RT-PCR. Ze względu na stosunkowo wysoki procent porażenia, częste występowanie infekcji mieszanych oraz zaobserwowane symptomy chorobowe, stwierdzono celowość weryfikacji wcześniejszych opinii dotyczących niskiego stopnia szkodliwości wirusów innych niż TuMV w produkcji chrzanu. Zsekwencjonowano izolaty TuMV oraz TBRV (RNA1, RNA2 i satRNA) i stwierdzono ograniczoną przydatność metody ELISA do wykrywania TuMV w liściach chrzanu. Metodą SC-RT-PCR wykrywano wirusa w roślinach nawet kilka tygodni przed pojawieniem się symptomów. Najważniejszym osiągnięciem niniejszego zadania i wymiernym efektem badań jest opracowanie technologii otrzymywania roślin chrzanu i rabarbaru wolnych od wirusa mozaiki rzepy.

Zastosowanie w praktyce uzyskanych wyników i materiałów roślinnych powinno poprawić jakość uzyskiwanego surowca (korzeni chrzanu) i zwiększyć opłacalność jego produkcji.