

OFERTA WDROŻENIOWA

Elektrochemiczne immunoczuJNIKI do wykrywania wirusa ospowatości śliwy (PPV) i nekrotycznej pierścieniowej plamistości drzew pestkowych (PNRSV)

Słowa kluczowe: wirusy roślinne, wykrywanie, elektrochemiczne czujniki, biosensory, PPV, PNRSV

Opis wdrożenia

Choroby wirusowe i wirozopodobne powodują, bezpośrednio lub pośrednio, znaczne straty produkcji roślinnej. Chore rośliny słabiej plonują i jakość plonu jest niższa niż uzyskiwana z roślin zdrowych. W przypadku wrażliwych odmian i/lub agresywnych szczepów wirusa może nawet nastąpić zamieranie chorych roślin. Porażenie wirusem, wiroidem lub fitoplazmą zwiększa także wrażliwość roślin na inne patogeny lub czynniki stresowe, na przykład na mróz czy suszę.

Rośliny porażone wirusami są źródłem infekcji dla innych roślin rosnących w pobliżu, co powoduje szybkie rozprzestrzenianie się choroby. Jest to szczególnie dotkliwe w sadach i jagodnikach ze względu na to, że są to z reguły uprawy wieloletnie i pojedyncza chora roślina może w krótkim czasie spowodować zakażenie całej plantacji. Ponieważ praktycznie nie istnieją metody eliminacji wirusów z zakażonej rośliny (jej wylecze-

nia), obecnie uważa się, że jedyną skuteczną metodą ograniczenia ich występowania jest wprowadzenie do uprawy odmian odpornych (których często brak) oraz stosowanie do nasadzeń zdrowego, wolnego od wirusów materiału, a w przypadku upraw trwałych, także usuwanie porażonych roślin z plantacji. Najbardziej szkodliwe wirusy i organizmy wirozopodobne podlegają ustawowemu obowiązkowi zwalczania (Ustawa o ochronie roślin z dnia 18 grudnia 2003 r. z późniejszymi zmianami). Ich lista publikowana jest w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa. Zwalczanie i ograniczanie rozprzestrzeniania się innych szkodliwych patogenów jest ważnym przedmiotem niektórych zapisów Ustawy o nasiennictwie z dnia 6 sierpnia 2003 r. Odpowiednie przepisy obowiązują także w Unii Europejskiej (między innymi Dyrektywy 92/34/EWG i 2000/29/WE) i w większości krajów rozwiniętych. Szczególną uwagę poświęca

się zapobieganiu rozprzestrzeniania się chorób (patogenów) na obszary dotychczas od nich wolne. Do tego celu niezbędne są szybkie, czułe, proste w użyciu i stosunkowo tanie metody wykrywania tych patogenów.

Obecnie do wykrywania wirusów roślinnych stosuje się biotesty oraz metody laboratoryjne oparte na wykrywaniu białka wirusowego (przede wszystkim ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay), kwasu nukleinowego wirusa (przede wszystkim RT-PCR – Reverse Transcription-Polimerase Chain Reaction) lub obu tych elementów, czyli białka i kwasu nukleinowego (Immunocapture-RT-PCR). Metody biologiczne są tanie i czułe, lecz długotrwałe (od kilku dni do kilku miesięcy, w zależności od wirusa) co znacznie ogranicza ich przydatność do badań przesiewowych. Metody immunochemiczne i molekularne trwają od kilkudziesięciu minut do kilku dni, lecz do ich przeprowadzenia niezbędne jest dobrze wyposażone laboratorium.

Od kilkunastu lat rozwijane są immunochemiczne czujniki pozwalające na szybkie i precyzyjne wykrywanie związków chemicznych czy mikroorganizmów. Do najlepiej znanych należą glukometry, które powszechnie stosowane są do oznaczania zawartości glukozy we krwi. Ponadto, wdrożone do praktyki zostały immunosensory do oznaczania poziomu niektórych hormonów w płazmie krwi oraz chorobotwórczych wirusów i bakterii, a wiele innych jest w trakcie opracowywania.

W Instytucie Ogrodnictwa w Skiernewicach, we współpracy z Instytutem Rozrodu Zwierząt i Badania Żywności PAN w Olsztynie, opracowano elektro-

chemiczne immunoczuJNIKI do wykrywania i ilościowego oznaczania PPV i PNR-SV w materiale roślinnym. Prace te były wykonane w ramach projektu rozwojowego nr N R12 0023 06: „Opracowanie elektrochemicznych immunosensorów i genosensorów do wykrywania wirusów ospowatości śliwy (PPV) i nekrotycznej pierścieniowej plamistości drzew pestkowych (PNRSV) w materiale roślinnym”, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju. Czułość opracowanej metody jest o rząd wielkości wyższa niż czułość standardowej metody ELISA i porównywalna z czułością metody IR-RT-PCR. Przy zastosowaniu przenośnych potencjometrów oraz czujników wyprodukowanych na bazie standardowych „drukowanych elektrod” złotych lub węglowych, metoda ta może być używana do wykrywania wirusów w warunkach polowych. Czas analizy, włącznie z homogenizacją materiału roślinnego i ekstrakcją wirusów, nie przekracza 30 min.

Po zastosowaniu innych przeciwciał w warstwie receptorowej, istnieje możliwość dostosowania czujników do wykrywania innych wirusów roślinnych.

Wdrożenie tej metody do praktyki pozwoli na szybkie wykrywanie nowych ognisk infekcji a przez to ograniczenie występowania chorób wirusowych w uprawach sadowniczych i rozprzestrzeniania się wirusów na obszary dotychczas od nich wolne.

Innowacyjność wdrożeniowa – efekty gospodarcze i społeczne

Oferta wdrożeniowa dotyczy metody wytwarzania elektrochemicznych immunoczuJNIKÓW do wykrywania wirusa ospowatości śliwy (PPV) i wirusa nekrotycznej pierścieniowej plamistości drzew pestkowych (PNRSV) w liściach chorych roślin. Obydwa te patogeny występują w Polsce i są przyczyną znacznych strat w produkcji sadowniczej. PPV jest organizmem kwarantannowym podlegającym ustawowemu obowiązkowi zwalczania w szkółkach i sadach zraŹnikowych.

CzuJNIKI skonstruowano na bazie elektrody złotej lub szklistej elektrody węglowej oraz monoklonalnych przeciwciał anty-PPV i anty-PNRSV. W produkcji seryjnej możliwe jest wykorzystanie do tego celu standardowych „drukowanych” elektrod (screen-printed electrodes). Do pomiaru sygnału analitycznego wykorzystano potencjometr/galwanometr.

Czułość bioczuJNIKÓW przy wykrywaniu PPV i PNRSV jest o rząd wielkości wyższa niż czułość standardowej metody ELISA a czas wykonania analizy nie przekracza 30 min.

Podmioty, do których skierowana jest oferta wdrożeniowa

Wytwórcy sprzętu laboratoryjnego i aparatury diagnostycznej.

Twórcy oferty wdrożeniowej:

Instytut Ogrodnictw w Skierniewicach,
Zakład Fizjologii i Biochemii Ochrony Roślin

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
PAN w Olsztynie, Zakład Biosensorów

Autorzy:

Prof. dr hab Lech Michalczuk
tel. 46 833434

e-mail: Lech.Michalczuk@inhort.pl

Dr Tadeusz Malinowski

tel. 46 8344335

e-mail: tadeusz.malinowski@inhort.pl

Prof. dr hab. Jerzy Radecki

tel: 89 5234696

e-mail: jerzy.radecki@pan.olsztyyn.pl

Dr hab. Hanna Radecka

tel: 89 5234696

e-mail: hanna.radecka@pan.olsztyn.pl