

Zadanie 6.9. Identyfikacja zagrożeń powodowanych przez wirusy i organizmy wirusopodobne w uprawach ogrodnictwa.

Streszczenie prac wykonanych w 2024 roku

Polska jest znaczącym producentem i eksporterem pieczarek. Ważnym zagrożeniem opłacalności tej uprawy są wirusy. Od kilkudziesięciu lat znany jest wirus związany z groźną chorobą 'La France'. Około 35 lat temu opisano 'wirusa pieczarki X (MVX)'. Od 2016 roku dzięki badaniom Deakin i współautorów, wiemy, że MVX to w istocie kompleks co najmniej 18 wirusów RNA. Dwa z nich (AbV 16 - Agaricus bisporus virus 16 oraz AbV 6 - Agaricus bisporus virus 6) są związane z silnymi symptomami, między innymi brązowieniem kapeluszy, deformacjami owocników i drastycznym spadkiem plonów. Wskazane jest dokładniejsze zbadanie występowania w Polsce oraz zróżnicowania izolatów AbV 16 i AbV 6 – w momencie rozpoczynania projektu 'Zadanie Celowe 6.9' obecność choroby MVX w Polsce była już potwierdzona, ale wirusy AbV 16 i AbV 6 nie były zbadane.

Stosując metodę RT-PCR dla dziesięciu próbek, w 5 próbkach wykryto AbV 16, nie wykryto AbV 6; w 3 próbkach wykryto AbV 16 oraz AbV 6; w 1 próbce wykryto AbV 6, nie wykryto AbV 16; w 1 próbce nie wykryto AbV 16 ani AbV 6. Łącznie wirusa AbV 16 wykryto w 8 próbkach a wirusa AbV 6 w 4 próbkach.

Z próbek RNA (wyizolowanego z pieczarek) przygotowano cDNA i odczytano fragmenty sekwencji AbV 16 (RNA 1, replikaza, sekwencjonowanie klasyczne) o długości 850 pz; Przeprowadzona została analiza filogenetyczna odczytanych sekwencji. Zbudowano dendrogram na podstawie porównania sekwencji fragmentów wirusa AbV 16 (segment RNA1 – fragment 850 p.z.). Wyniki wskazują na bardzo bliskie (100 %) pokrewieństwo w obrębie kilku grup a niewiele mniejsze pokrewieństwo w obrębie całego zbioru.

Dla pięciu próbek pieczarek odczytano transkrypty stosując NGS (sekwencjonowanie nowej generacji) i mapowanie odczytów na zbiór sekwencji wirusów pieczarek. Całkowita liczba odczytów (o długości około 150 nt.) wynosiła od 100 842 130 do 121 055 306 sparowanych odczytów na próbę. Liczba odczytów zmapowanych wynosiła od 19 173 851 do 42 587 228 co stanowiło 19% do 41% całkowitej liczby odczytów. Na podstawie szczegółowej analizy wyników mapowania pięciu transkryptomów na referencyjne sekwencje wirusów pieczarki w badanych próbkach wykryto 18 wirusów, w tym trzy uważane obecnie za najgroźniejsze: AbV 16, AbV6 i AbV1 (dawna nazwa 'La France' disease).

Wymierne/trwałe rezultaty realizacji zadania:

1. Wprowadzenie w Polsce do praktyki molekularnych metod diagnostycznych dla groźnych wirusów pieczarki AbV 16 i AbV 6.
2. Identyfikacja zagrożenia ekonomicznego z tytułu rozpoznania, że w Polsce występuje kilkanaście wirusów pieczarki, z czego co najmniej 3 wirusy stanowią bardzo poważne zagrożenie dla produkcji grzybów jadalnych. Uzyskana wiedza może pomóc w podjęciu poważnych kroków wyprzedzających rozprzestrzenianie się infekcji.