

Trascrizione del Corso della Virologia delle Piante, Settimana 5

5.1. (00:10 00:37) Benvenuto alla Classe Quinta del corso "Virologia delle Piante", che si occupa del rilevamento, identificazione e controllo dei virus.

Molti diversi metodi e tecniche sono utilizzati per la rilevazione e l'identificazione di virus vegetali. Abbiamo bisogno di loro per la diagnosi di un'infezione virale nei campi, durante molte situazioni epidemiologiche e quarantena, nonché ricerca di base di virus vegetali.

5.2 (00:37 01:06) L'analisi biologico è la prova che coinvolge la risposta delle piante indicatore per un'inoculazione (infezione artificiale). Il test permette di misurare l'infettività relativa di un virus patogeno. Avete bisogno di molto tempo, quindi la pianta indicatore risponde all'infezione (5-20 giorni fino a 1 anno).

5.3. (01:06 01:34) I metodi sierologici sono basati sulla reazione immunitaria di un virus (l'antigene) con gli anticorpi specifici (gamma globuline). Ci sono molte tecniche sierologiche, ma per analizzare piante ordinariamente su larga scala il test più utilizzato è il doppio anticorpo sandwich ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) (DAS-ELISA). (Vedere van Regenmortel, 1982).

5.4. (01:34 01:49) Di tecniche di microscopia elettronica, è possibile osservare direttamente le particelle virali e corpi di inclusione. A volte è possibile identificare il genere di virus vegetali in modo preliminare.

5.5. (01:49 02:17) I seguenti metodi di biologia molecolare vengono spesso utilizzati in virologia vegetale: elettroforesi in gel di poliacrilamide (PAGE), reazione a catena della polimerasi (PCR), reazione a catena della polimerasi preceduta da trascrizione inversa (RT-PCR), reazione a catena della polimerasi preceduto da trascrizione d'inversione con immuno cattura (IC RT-PCR), l'ibridazione usando Dot Blot (cDNA), Southern Blotting (DNA), Northern Blotting (RNA) Western Blotting (proteina) e molti altri.

5.6. (02:17 02:43) In generale, è importante prevenire le malattie virali delle piante. Finora, non c'è nessun controllo chimico diretto di phytovirus. È stato introdotto la strategia di utilizzare numerosi metodi integrati per ridurre le perdite di raccolto a livelli accettabili.

5.7. (02:43 03:00) Il controllo delle malattie virali delle piante dovrebbe essere basata sull'uso di materiale vegetale sano – avvio ottenute da materiale vegetale certificato come privo di virus (ad esempio, dopo la termoterapia, la punta della cultura *in vitro* del meristema o chemioterapia) o semi privo di virus. I programmi di certificazione della pianta forniscono i produttori locali di propaguli d'alta qualità e sani a partire i loro raccolti.

5.8 (03:00 03:21) L'uso di varietà di piante resistenti. La resistenza della pianta è la riduzione o l'eliminazione dell'infezione virale geneticamente determinata. È un ridotto potenziale di malattia causata da questo virus. La resistenza che esiste in piante prima dell'infezione, basato, ad esempio, le strutture morfologiche delle cellule vegetali e dei tessuti, è chiamata resistenza pre-esistente.

5.9. (03:21 04:24) I meccanismi di difesa della pianta che si evolvono dopo infezione includono:

Ipersensibilità -una risposta rapida dalla morte della cellula ospite, associata a difesa mediata da "geni di resistenza R",

Resistenza sistemica acquisita (SAR) in gran parte mediata da vie di l'acido salicilico, con produzione di proteine associate con patogenicità (proteine PR),

Resistenza sistemica indotta (ISR) mediata da vie dipendenti di acido jasmonico - etilene,

Meccanismi di silenziamento genico mediata da RNA d'interference. Il silenziamento del RNA si basa su degradare specifiche sequenze di RNA. I phytovirus codificano proteine che sopprimono il silenziamento del RNA vegetali (https://en.wikipedia.org/wiki/Plant_disease_resistance_).

5.10 (04:24 05:04) Il livello della resistenza della pianta all'inoculazione di virus e presentati nella figura. Quattro varietà di una pianta sono stati inoculati con lo stesso ceppo di specie di virus vegetali.

La varietà di piante resistenti ha la capacità intrinseca di superare o ritardare l'infezione dall'agente patogeno (virus). Una pianta può essere leggermente, moderatamente o altamente resistente. Le piante che appartengono ai gruppi tassonomici che rientrano nell'intervallo di ospite dell'agente patogeno (virus) sono chiamate "piante immuni". Si chiama anche "resistenza non dell'ospite".

5.11. (05:04 05:25) La varietà di pianta suscettibile ha l'incapacità di resistere a un'infezione da agente patogeno (virus). La varietà sensibile reagisce sempre all'infezione con i sintomi severi della malattia. Ci sono anche varietà tolleranti, cui tratti genetici consentono loro di ridurre la malattia potenziale e sono in grado di produrre buoni raccolti anche quando sono infettati.

5.12. (05:25 06:12) L'allevamento per la resistenza includono:

Metodi classici di miglioramento, come la selezione, incrocio con piante contenenti geni di resistenza naturale (Rx1-patata, N - tabacco, Tm1, Tm2-pomodoro)-la teoria del "gene per gene", e

Tecniche di ingegneria genetica per trasformazione genetica di cellule vegetali per la resistenza alle malattie. Trasformazione di piante con sequenze che codificano per la proteine del capsido (ad esempio, l'espressione della proteina del capsido del TMV in piante di tabacco protegge quelle pianta contro il virus del mosaico del tabacco (resistenza derivata dall'agente patogeno, PDR).

Altri metodi includono l'espressione in piante di RNA satelliti virale, l'applicazione del regolamento genica mediata anti-senso, ribozimi o l'espressione dei geni dell'interferone umano nelle piante (Gandolfi et al., 1990).

5.13. (06:12 06:44) altre norme per la protezione delle piante contro i virus includono: controllo chimico di insetti, nematodi e funghi vettori di virus vegetali, controllo chimico degli erbacce (ospiti naturali del virus), l'eliminazione delle fonti di infezione e l'uso di altri metodi di produzione agricola utile per la protezione delle piante e della conformità alle norme di quarantena. **Cross-protection** è un fenomeno che si verifica quando un'infezione lieve con un virus impedisce o sopprime gli effetti nocivi di una successiva infezione da un virus gravi correlato.

5.14. (06:44 07:05) Termoterapia e la coltura della punta del meristema vengono utilizzati per l'eradicazione del virus vegetali. Piante in una camera di crescita. Per termoterapia, i piante sono trattate con aria calda (28-42°C) per 4-6 settimane. Il trattamento termico riduce la concentrazione di virus nelle piante, e i nuovi germogli sono privi di virus.

5.15. (07:05 07:20) La maggior parte dei virus vegetali non può invadere il tessuto meristemato. Il meristemi apicali può essere tagliato e asetticamente coltivato "*in vitro*" o su un mezzo artificiale. Diagramma del meristema (punta crescente) con la linea di taglio del explant.

5.16. (07:20 07:28) Cultura di punta dei meristema. Suggestimento espianti su ponti di filtro immersi nel mezzo di M/S.

5.17. (07:28 07:34) Cultura di punta del meristema. Espianto in crescita.

5.18. (07:34 07:43) Piante rigenerate da coltura di punta del meristema pronto per il trasferimento a substrati sterili di perlite o vermiculite (pronti per invasatura).

5.19. (07:43 08:00) Schema per l'eradicazione del virus dal materiale di propagazione vegetale utilizzando termoterapia, seguita dalla cultura di punta del meristema.

5.20. (08:00 08:04) Grazie per la vostra attenzione.