

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/4



ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1.Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	L1-2278
Naslov projekta	Biološka raznovrstnost virusa PVY in njen vpliv na obrambni odgovor rastlin krompirja
Vodja projekta	5229 Maja Ravnikar
Tip projekta	L Aplikativni projekt
Obseg raziskovalnih ur	8342
Cenovni razred	C
Trajanje projekta	05.2009 - 04.2012
Nosilna raziskovalna organizacija	105 Nacionalni inštitut za biologijo
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	104 Kemijski inštitut 481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta 1655 BIA Separations d.o.o. Podjetje za separacijske tehnologije d.o.o.
Raziskovalno področje po šifrantu ARRS	1 NARAVOSLOVJE 1.03 Biologija 1.03.04 Rastlinska fiziologija
Družbeno-ekonomski cilj	08. Kmetijstvo

2.Raziskovalno področje po šifrantu FOS¹

Šifra	1.06
- Veda	1 Naravoslovne vede
- Področje	1.06 Biologija

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3.Povzetek raziskovalnega projekta²

SLO

Rastline krompirja se srečujejo z mnogimi okoljskimi faktorji ki vplivajo na njihovo rast, razvoj in pridelek. Njihov vpliv ima raznovrstne posledice na kmetijstvo ter okoljski in družbeni aspekt. Virusi so kmetijsko izredno pomembni biotski faktor. Med njimi je

najpomembnejši krompirjev virus Y (PVY). Nekatere variante kot na primer PVY^{NTN}, ki povzroča bolezen obročkasta nekroza gomoljev krompirja, so odgovorne za najbolj resne ekonomske posledice za proizvodnjo krompirja po celem svetu. Namen raziskovalnega projekta je bil raziskati naravno raznolikost PVY izolatov (na nivoju genoma in plaščnega proteina virusov) in na drugi strani izražanje bolezni na rastlinah krompirja. Povezava med raznolikostjo in izražanjem bolezenskih znamenj je trenutno najvišja prioriteta v virologiji. Uporabili smo izolate iz različnih držav, vključno s slovenskimi in francoskimi in jih karakterizirali. Nukleotidno zaporedje virusnega genoma smo analizirali z uporabo sekveniranja ter primerjali določanje razlikov z dvema molekularnima metodama razvitima v naših laboratorijih: PCR v realnem času (NIB) in SNaPSHOT metodo (INRA). Variabilnost plaščnih proteinov različnih izolatov smo ugotavljali z uporabo ELISA in v ta namen uvedli površinsko plazmonske resonanco za raziskave interakcije protitelo - virus. Raziskali smo preživetje in prenos virusov v vodah, kar je pomemben epidemiološki podatek. Za hitro koncentriranje iz okoljskih voda in čiščenje virusov smo uporabili monolitne kromatografske nosilce. Zbrani podatki bodo omogočili opis molekularnih in bioloških lastnosti izbranih PVY izolatov. Izbrani agresivni in mili izolat smo uporabili za okuževanje rastlin krompirja. Za transkriptomске študije okuženega krompirja smo uporabili mikročip tehnologijo in PCR v realnem času v kombinaciji z biostatistiko in bioinformatiko ter identificirali metabolne poti, ki vodijo do nastanka simptomov, ki jih povzroča agresivni izolat. Projektna skupina je bila sestavljena iz priznanih raziskovalcev na Nacionalnem inštitutu za biologijo, Laboratorija za površinsko plazmonske resonanco (dr. Gregor Anderluh, Biotehniška fakulteta, UL), INRA (dr. Emmanuel Jacquot, INRA, Rennes, Francija, ustanovitelj mednarodne PVY organizacije), Centralnega laboratorija FERA (Dr. Neil Boonham, CSL, York, GB) in biotehnološkega podjetja BIA Separations, vodilnega na svetu v razvoju in uporabi monolitne kromatografije. Novo znanje o epidemiologiji, genski in proteinski raznolikosti, ki determinirajo razvoj bolezni bo doprineslo k boljšim strategijam gojenja 'semenskega' in jedilnega krompirja kakor tudi k podatkom, ki vodijo k boljši eksploataciji CIM kromatografskih nosilcev podjetja BIA Sep.

ANG

Potato plants encounter many factors which influence their growth, development and harvest. These factors are important for agronomical, environmental and cultural aspects. Viruses are agronomically extremely important biotic factors. Among them the most important for potato plants is the Potato virus Y (PVY). Indeed, specific PVY variants, such as PVY^{NTN}, cause potato tuber ring necrotic disease and are responsible for the most devastating economic losses in production of potato worldwide. The aim of the research project was to investigate the variability of PVY isolates (genome and protein variabilities) and the disease expression in potato plants. The correlation among variability and disease symptom expression is now a hot topic and the subject of many investigations in virology. Isolates from different countries (including Slovenia and France) were collected and characterised. The sequence of viral genomes was analysed using sequencing and two molecular techniques developed in our labs (Real time qPCR - NIB and SNaPSHOT assays - INRA). The PVY coat protein variability was characterised using ELISA and using surface plasmon resonance approach, which was implemented for the research of antibody - virus interaction. Moreover, the survival and transmission of PVY in water, an important parameter in epidemiology of disease, was explored. Quick concentration from environmental waters and purification of viruses was performed using monolithic chromatographic supports. All together, the produced data makes possible the description of molecular and biological characteristics of the tested PVY isolates. Then, selected severe and mild isolates were used in potato infection experiments. Using transcriptomics/microarray technology and Real time qPCR, in combination with biostatistics and bioinformatics, metabolic pathways which lead to the expression of symptoms caused by severe isolate were identified. The proposed project team consisted of recognized scientists from the research groups at the National Institute of Biology, Laboratory of the Surface Plasmon Resonance (led by Dr. Anderluh, from the Biotechnical Faculty, UL), the INRA researchers (led by Dr. Jacquot, INRA, Rennes, France, founder of PVY wide organisation), Central Laboratory FERA (led by Dr. Boonham, CSL, York, GB) and a biotech company BIA Separations, world leading

company in separation using monolith based chromatography. New knowledge on PVY epidemiology, diversity of genetic and protein determinants responsible for the development of disease will improve a plant protection management of seed and ware potato, and will also offer new possibilities for exploitation of CIM chromatography columns of the company BIA Separations.

4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu³

Realizacijo programa raziskovalnega projekta bomo opisali glede na plan in časovni okvir predlagan v prijavi projekta.

1. Genetska variabilnost in validacija metode (NIB, INRA, CSL), (mesec 1 do 36).

Z namenom ocene genetske variabilnosti izolatov virusa PVY smo v več slovenskih pokrajinah vzorčili rastlinski material in preverili okuženost z virusom PVY. Vse vzorce, ki so se po testiranju s testom ELISA izkazali kot okuženi s PVY, smo nadalje testirali z različnimi testi, ki omogočajo karakterizacijo virusnega izolata. Tako smo najprej vse virusne isolate prenesli na testne rastline tobaka in krompirja ter opazovali razvoj tipičnih bolezenskih znamenj. Nato smo isolate testirali s testom ELISA, RT-PCR in PCR v realnem času in določili za kateri različek virusa PVY gre. Rezultati so pokazali da je v okolju v največji meri prisoten različek PVY^{NTN}, ki obenem predstavlja največjo nevarnost za pridelovalce krompirja. V okolju se pojavljajo tudi ostali različki, vključno z novimi, še neopisanimi različki v Sloveniji. Rezultati so pokazali tudi, da se izolati virusa PVY^{NTN} med seboj razlikujejo, saj povzročajo različno huda bolezenska znamenja na testnih rastlinah. Rezultati so bili vključeni v študijo genetske variabilnosti in evolucije virusa PVY v Evropskem prostoru, v kateri sta vključena tudi laboratorija INRA, Francija in FERA, Velika Britanija.

Vzorci okuženega krompirja smo testirali z molekularno metodo SNaPshot v partnerskem laboratoriju INRA, Rennes. Rezultati so pokazali prisotnost tako različkov O, N, W in NTN ter nekaj mešanih okužb, kar je enako kot kažejo rezultati naše metode s PCR v realnem času. Razlika med metodama pa je delež detekcije različka N. Z metodo SNaPshot je bilo 17/21 vzorcev določenih kot okužba z različkom N, medtem ko so bili ti isti vzorci z metodo qPCR določeni kot okuženi z različkom NTN. Določili smo nukleotidno zaporedje virusnega genoma sedmim izolatom iz Slovenskih polj. Informacijo o nukleotidnem zaporedju izolatov NTN smo uporabili za interpretacijo razlik med tipizacijo izolatov z metodo qPCR in metodo SNaPshot. Glede na informacijo iz nukleotidnega zaporedja lahko rečemo, da metoda SNaPshot zaznava marker, ki je manj značilen za NTN različke, ki povzročajo bolezen PTRND (bolezen obročkaste nekroze gomoljev krompirja). Zbrane podatke primerjave molekularnih metod PCR v realnem času in SNaPshot smo strnili v obliki osnutka znanstvenega članka, ki je bil sprejet v objavo leta 2012 v reviji Journal of Virological Methods.

2. Prilagoditi CIM kromatografske nosilce za čiščenje in koncentriranje PVY (NIB, BIA), (mesec 6 do 36)

V okviru začetne faze projekta smo optimizirali vezavo mozaičnega Pepino virusa (Pepino mosaic virus, PepMV) na monolitne nosilce CIM. Po optimizaciji vezave modelnega nitastega virusa mozaika pepina (PepMV) na CIM kromatografske nosilce, smo v letu 2010 vključili v omenjeni poskus tudi krompirjev virus Y (PVY). Najbolj optimalni pogoji vključujejo uporabo rastlinskih tkivnih kultur krompirja okuženega s PVY kot začetni material, CIM-QA disk, 10mM citratni pufer, pH 7,4 z 1M ureo kot vezavni pufer in pufer za spiranje CIM diska. Rastlinski material se najprej homogenizira v ekstrakcijskem pufru (0,5M citratni

pufer pH 7,4 z dodatkom DIECA in EDTA), homogenat se nato centrifuga, da se odstranijo večji rastlinski delci ter zbistri z dodatkom Triton X-100 od 3% volumna. Tako zbistren homogenat se centrifugira, da se virusni delci strnejo v usedlino na dnu centrifugirke. Ta usedlina se ponovno resuspendira v pufru za vezavo in naloži na CIM-QA disk. Prvi korak elucije naredimo s pufrom za vezavo z 250 mM NaCl, temu koraku sledi gradientna elucija, kjer dvigujemo vsebnost soli od 250 mM NaCl do 1000 mM NaCl v pufru za vezavo. Celi in čisti virusni delci se s kolone eluirajo na začetku gradienta (4-5 ml gradienta). Najzanimivejše frakcije kažejo le en pas na SDS-PAGE. Le ta po velikosti ustreza plaščnemu proteinu virusa PVY. V njih je največja vsebnost virusne RNA (merjeno z metodo PCR v realnem času), tudi do 50% celotne začetne RNA, in z elektronskim mikroskopom opazimo veliko količino nepoškodovanih virusnih delcev, ki so še vedno sposobni okužiti testne rastline preko mehanske inokulacije. V teh frakcijah rastlinska RNA ni prisotna.

Rezultate naših raziskav so bili objavljeni v znanstveni članek v reviji Journal of Chromatography A.

3.Vpliv genetske variabilnosti na imunogenost PVY (NIB, BF, CSL), (mesec 6 do 36)

Preverili smo vpliv genetske variabilnosti virusnih različkov PVY^{NTN} in PVY^N na imunogenost virusa, pri čemur smo okužen rastlinski material redčili v zdravem rastlinskem materialu in s testom ELISA merili reakcijo med virusom in protitelesi specifičnimi za PVY^{NTN} viruse. Količino virusa smo preverili s PCR v realnem času. Ugotovili smo, da v primeru virusnega različka PVY^{NTN} zaznamo virus v 100-krat bolj redčenem vzorcu kot v primeru virusa PVY^N. Glede na to, da smo v obeh primerih imeli enako količino virusa, lahko zaključimo da ima virusni različek PVY^{NTN} večjo imunogenost kot različek PVY^N.

Površinska plazmonska resonanca (SPR) je potencialno pomembno orodje za raziskovanje imunogenosti različnih protiteles za različne izolate PVY. Izvedli smo prve poskuse SPR, v katerih smo lahko reverzibilno vezali očiščene delce PVY na CM-5 čipe prek poliklonskih protiteles za PVY. Taka virusna površina je bila uspešno uporabljena za raziskovanje vezave monoklonskih protiteles na plaščni protein virusa PVY in za izračun disociacijske konstante KD.

Primerjali smo SPR tehniko z metodo ELISA in PCR v realnem času. Primerjali smo občutljivost metod in njihovo območje zanesljive kvantifikacije.

V nadaljevanju smo opazovali vezavo monoklonskih protiteles na površino virusnih delcev, ki so bili stabilno vezani na površino poliklonskih protiteles. Za opazovanje interakcij smo uporabili dva različna virusna izolata iz dveh različnih skupin, PVY^N in PVY^O. Nekatera monoklonska protitelesa so bila specifična le za enega izmed obeh virusnih izolatov, spet druga pa so se vezala na oba izolata.

SPR tehniko smo uporabili tudi za ugotavljanje, ali izbrani par monoklonskih protiteles tekmuje za vezavo na isti epitop, na dva tesno povezana epitopa ali pa se neodvisno vežeta na ločena epitopa. S tem poskusom smo pridobili zelo obetavne rezultate.

Površinska plazmonska resonanca se je izkazala kot močno orodje za raziskovanje interakcij med delci PVY in protitelesi. Vsi zbrani rezultati bodo uporabljeni za objavo znanstvenega članka, ki je bil poslan v recenzijo v letu 2013.

4.Voda kot potencialni vir PVY okužbe (NIB, BIA), (mesec 1 do 36)

Ocenili smo sposobnost preživetja virusa PVY^{NTN} v vodovodni vodi ohlajeni na 4 °C in v vodovodni vodi shranjeni v karantenskem rastlinjaku na sobni temperaturi. Rezultati so pokazali, da je v vodi shranjeni na 4 °C PVY preživel od 49 do 70 dni, v vodi shranjeni na sobni temperaturi pa največ en teden.

Ali se virus PVY^{NTN} iz okuženih korenin paradižnika sprošča v hranilno raztopino, ter ali je zmožen preko korenin okužiti druge rastline paradižnika, smo ugotavljali v dveh poizkusih, kjer smo posnemali princip gojenja rastlin v hidroponskih sistemih. V enem akvariju smo imeli okužene rastline, v drugem pa zdrave rastline (t.i. rastline za vabo). V obeh akvarijih so bili nadzemni deli rastlin ločeni od korenin s pregrado, tako da hranilna raztopina ni prišla nikoli v stik z nadzemnimi deli rastlin. Hranilno raztopino iz akvarija z okuženimi rastlinami smo štiri mesece in pol pretakali v akvarij z rastlinami za vabo. V prvem poizkusu smo imeli za okužene rastline in za rastline za vabo rastline paradižnika cv. Moneymaker, v drugem poizkusu pa rastline krompirja cv. Igor iz tkivne kulture. Ugotovili smo, da se je virus PVY močno namnožil v koreninah okuženih rastlin in da se je sproščal iz korenin v hranilno raztopino. Koncentracija virusa je bila v hranilni raztopini premajhna, da bi z njo lahko mehansko okužili testne rastline. Že kmalu po pričetku pretakanja hranilne raztopine iz akvarija z okuženimi rastlinami v akvarij z zdravimi rastlinami, smo PVY dokazali na vzorcih korenin rastlin, ki smo jih imeli za vabo, kasneje pa tudi na nadzemnih delih rastlin. V primeru paradižnika smo prve okužbe v nadzemnih delih rastlin za vabo potrdili tri do štiri mesece po pričetku poskusa, v primeru krompirja pa med prvim in drugim mesecem. Okužene so bile le posamične rastline, poleg tega pa je bila razporeditev virusa po rastlini zelo neenakomerna, saj so bili nekateri poganjki okuženi, drugi pa ne. Glede na rezultate RT-PCR v realnem času sklepamo, da je bila koncentracija PVY v teh nadzemnih delih rastlin zelo nizka. V primeru poskusa kjer smo imeli za vabo rastline krompirja, smo gomolje, ki so se formirali na teh rastlinah posadili v neokuženo zemljo. Iz teh gomoljev so zrastle rastline, kjer smo okužbo s PVY v veliki večini potrdili. Na podlagi teh rezultatov lahko zaključimo, da se PVY lahko močno namnoži v koreninah okuženih rastlin, da se lahko sprošča iz korenin v hranilno raztopino, kjer lahko preživi vsaj nekaj dni. Dokazali smo tudi, da se rastline lahko okužijo z okuženo vodo preko korenin in da so lahko gomolji, ki se formirajo na teh rastlinah vir novih okužb. Voda je torej eden izmed možnih načinov širjenja PVY, zato je smiselno, da se izvaja monitoring vod, ki se uporabljajo za namakanje. Ker smo dokazali, da že nizke koncentracije virusa v vodi lahko vodijo do okužbe rastlin, moramo vzorce vode pred analizo koncentrirati in potem le-te analizirati z visoko občutljivimi diagnostičnimi testi. Uspešno smo koncentrirali modelni nitasti virus PepMV iz spajkiranih vzorcev vode z uporabo CIM DEAE 8 ml kolon. Delo je del zaključene diplomske naloge in del doktorata, ki se bo zagovarjal v letu 2013/2014.

5. Rastlinski odgovor na okužbo z blagimi in agresivnimi različki PVY (NIB), (mesec 1 do 36)

Pri preučevanju odgovora na okužbo z blagim in agresivnim različkom virusa PVY, smo pripravili ves rastlinski material potreben za analizo z mikromrežami. Tako smo pripravili tri biološke ponovitve poskusa, pri čemer smo rastline krompirja sort Igor in Nadine, v skupinah po 8, inokulirali z virusom PVY^{NTN}, PVY^N ali slepo inokulirali. Po inokulaciji smo v treh časovnih zamikih (30 min, 12 ur in 48 ur) liste krompirja vzorčili in jih shranili na -80 °C. Iz rastlinskega materiala smo izolirali RNA in jo prepisali v cDNA, s kitom, ki omogoča označevanje posameznega primerjanega vzorca. Tako smo vzorce, ki smo jih inokulirali s PVY^{NTN} in s PVY^N različno označili, kar nam je omogočalo opazovanje sprememb v izražanju genov po hibridizaciji na mikromreže. Pripravili in vzpostavili smo tudi sistem za statistično analizo podatkov in ga prilagodili našim poskusom z mikromrežami. Opazovali in ocenili smo tudi razvoj bolezenskih znakov na rastlinah krompirja inokuliranih s posameznim virusnim različkom. Po pričakovanjih so rastline krompirja obeh sort inokulirane s PVY^{NTN} razvile huda

bolezenska znamenja, vidna kot kloroze in nekroze, medtem ko so rastline po inokulaciji s PVY^N razvile le mile znake bolezni (blag mozaik). Kot statistično pomembni so se izkazali geni, ki so vključeni v proces fotosinteze, geni odgovorni za zmanjševanje oksidativnega stresa, in geni povezani z zgodnjim odgovorom na okužbo. Spremenjeno izražanje izbranih genov smo potrdili tudi s PCR v realnem času in ga obenem primerjali z izražanjem v zdravih rastlinah. Ugotovili smo da se rastlina odzove na PVY^{NTN} z zakasnitvijo v spremembi izražanja genov povezanih s metabolizmom sladkorjev. Ugotovili smo tudi da virusna različka sproži različen odziv mehanizma metabolizma oksidativnih spojin. Poleg tega smo pokazali da širjenje virusa PVY^{NTN} po rastlini ni učinkovito zaustavljeno z β -glukanazami in s pektin metilesteraznim inhibitorjem. Pokazali smo, da se obe občutljivi sorti Igor in Nadine odzoveta na okužbo zelo podobno, vendar ne enako.

Rezultat je bila publikacija leta objavljena 2010, Kogovsek et al., *Plant Pathol.*, 2010, vol. 59, issue 6, str. 1121-1132.

5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Kot je opisano v prejšnji točki, so bili vsi zastavljeni raziskovalni cilji realizirani znotraj časovnih okvirjev. Variabilnost genoma virusa PVY smo z uporabo metode PCR v realnem času določili na večjem številu virusnih izolatov vzorčenih na poljih. Primernost obeh metod, RT-qPCR in SNaPshot, za ocenjevanje nukleotidne variabilnosti PVY je bila preverjena v sodelovanju s francoskim partnerjem (INRA). Znanja pridobljena z modelnim PepMV v začetku projekta, so služila za optimizacije vezave in elucije PVY na CIM nosilce. Z uporabo krompirja iz tkivnih kultur so rezultati dobri, saj sta izkoristek in čistost virusa velika. Nam je uspelo z metodo CIM monolitne kromatografije skrajšati izolacijo virusa PVY iz rastlinskega tkiva iz 4 dni kolikor trajajo zamudni postopke klasične izolacije na vsega dan in pol. Hitra metoda čiščenja je lahko zelo uporabna pri imunizaciji za pridobivanje protiteles ali pa za SPR aplikacije, ki so bile osnovane znotraj tega projekta. Preživetje v vodi ter možnost in pomen prenosa PVY, kot tudi PepMV, z vodo skozi sistem hidroponije je bila ocenjena na rastlinah paradižnika in krompirja. Poleg že omenjenega, smo prvič merili interakcijo protiteles in PVY z SPR. Glede na dejstvo, da je PVY dolg nitast virus, sta uspešna imobilizacija virusa na čip in zmožnost spremljanja interakcije z protitelesi spodbudna rezultata. To orodje lahko pripomore k pripravi in izboljšanju mešanic monoklonalnih protiteles za detekcijo PVY, lahko pa se uporablja tudi kot ter kot kontrola kvalitete monoklonalnih protiteles. Glede odzivov rastlin na okužbo z virusom, je analiza hibridizacije na mikromrežah z uporabo biostatističnih orodij omogočila, da raziščemo različne vplive v odzivu rastlin krompirja, ki jih izzove različek PVY, ki povzroča bolezenska znamenja (NTN) v primerjavi s sistemom, ki tega ne sproži (N). Komunikacija in izmenjava informacij med vsemi partnerji je bila tekoča. Dva člana iz Francije (Emmanuel Jacquot in Agnes Delaunay, INRA) sta obiskala Ljubljano (NIB) v septembru 2010. Matevž Rupar in dr. Ion Gutierrez Aguirre (NIB) pa sta v decembru 2010 odšla na 5 oziroma eno tedenski delovni obisk v INRO. V letu 2011 jo bilo organiziranih več sestankov med partnerji na projektu. Med 11. in 16. septembrom sta bila na delovnem obisku na Nacionalnem inštitutu za biologijo raziskovalca partnerskega inštituta iz Francije, Laurent Glais in Maryse Guillet (INRA-Rennes). V tem času sta sodelovala pri poteku SPR poskusov, v katerih so bila testirana tudi protitelesa proizvedena na inštitutu INRA-Rennes. Poleg tega je Laurent Glais tudi predaval o svojem delu na področju priprave mešanic monoklonalnih protiteles za detekcijo PVY. Te izmenjave so bile namenjene izvedbi projektnih nalog, izmenjavi znanja in

izkušenj ter za načrtovanje dela v prihodnosti. Informacije glede napredka v projektu so bile izmenjane tudi s partnerjem iz Velike Britanije (Dr Neil Boonham, FERA, bivša CSL). Tekoče je potekalo tudi skupno delo s partnerjema BIA Separations in Biotehniško fakulteto, Katedra za Biokemijo, v veliki meri tudi zaradi dolgoletnih znanstvenih sodelav, ki jih ima NIB z obema skupinama.

6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Ni bilo sprememb

7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	21244646	Vir: COBISS.SI
Opis	Naslov	SLO	Hitra metoda čiščenja filamentoznega Krompirjevega virusa Y z monolitnimi kromatografskimi nosilci
		ANG	Fast purification of the filamentous Potato virus Y using monolithic chromatographic supports
		SLO	V tej študiji smo razvili postopek za hitro čiščenje filamentoznega Krompirjevega virusa Y (velikost virusnih delcev 740 nm × 11 nm) iz rastlinskega tkiva. Krompirjev virus Y je en izmed najbolj pomembnih rastlinskih virusov, ki povzroča veliko ekonomsko škodo v pridelavi krompirja. Optimiziram protokol čiščenja vsebuje korake klarifikacije katerim sledi kromatografija z uporabo CIM monolitnih diskov s kemijo kvartarnih amino skupin (CIM-QA). Novo razvita CIM-QA metoda dosega podoben izkoristek, koncentracijo in čistost virusnega izolata v primerjavi s klasičnimi postopki izolacije kjer viruse čistimo s pomočjo ultracentrifugacije v saharoznem gradientu in gradientu cezijevega klorida. Čiščenje s CIM-QA uspešno odstrani tudi rastlinsko RNA in kaže dobro ponovljivost. V primerjavi s klasičnimi postopki čiščenja ki trajajo do 4 dni pa je CIM-QA metoda tudi veliko krajša in traja le dan in pol. To je prva študija kjer je iz kompleksnega vzorca s CIM monoliti očiščen filamentozni virus. Zaradi svojih prednosti je metoda zelo primerna za uporabo v produkciji seroloških orodij za detekcijo virusov, kjer potrebujemo očiščene viruse za imunizacijo. Rezultati te študije pa lahko služijo tudi kot začetna točka za izboljšanje metod čiščenja drugih filamentoznih virusov.
		ANG	In this study a CIM monolith based procedure was developed for the fast purification from plant tissue of the filamentous Potato virus Y (PVY) (virion size, 740 nm × 11 nm), which is one of the most important plant viruses causing great economical losses in potato production. The optimized procedure involves initial clarification steps, followed by chromatography using CIM quaternary amine (QA) monolithic disk column. In comparison to classical purification procedure involving ultracentrifugation through sucrose and caesium chloride, the developed CIM-QA purification achieved comparable yield, concentration and purity. Plant nucleic acids were successfully removed. Purification showed good reproducibility and moreover it reduced the purification time from four working days required for classic purification to a day and a half. This is the first study where a filamentous virus was purified using CIM monolithic supports. The advantages of this new purification procedure make it an attractive method in serological diagnostic tool production, which requires purified viruses for the immunization step. Moreover, the outcome of this study could serve as starting point for the improvement of the purification methods of other important filamentous viruses.
		Elsevier; Journal of chromatography A; 2013; Vol. 1272; str. 33-40;	

	Objavljeno v		Impact Factor: 4.531; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.215; A': 1; WoS: CO, EA; Avtorji / Authors: Rupar Matevž, Ravnikar Maja, Tušek-Žnidarič Magda, Kramberger Petra, Glais Laurent, Gutierrez-Aguirre Ion
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID		2745423 Vir: vpis v poročilo
	Naslov	SLO	Ocena molekularnih metod SNaPshot in enokoračnega PCR v realnem času z reverzno transkripcijo za detekcijo in razlikovanje skupin Krompirjevega virusa Y
		ANG	Assessment of SNaPshot and single step RT-qPCR methods for discriminating Potato virus Y (PVY) subgroups.
	Opis	SLO	Preverili smo delovanje dveh »state of the art« molekularnih metod za detekcijo in karakterizacijo virusa PVY; ss RT-qPCR (Kogovsek et al., 2008) in SNaPshot (Rolland et al., 2008). Ocenjevali smo njuno zmožnost pravilnega razvrščanja PVY okuženih vzorcev v skupine različkov. Rezultati molekularnih metod so bili validirani biološko na testnih rastlinah, serološko z ELISA-o in in silico analizo nukleotidnih zaporedij. Spekter različkov med katerimi lahko razlikuje metoda SNaPshot je širši kot pri ss RT-qPCR, vendar pa je slednja bolj uspešna pri določanju različkov PVY NTN, ki so znani po tem da na nekaterih kultivarjih povzročajo bolezen obročkaste nekroze na gomoljih. Vzrok za različno natančnost določevanja različkov PVY med metodama je ta, da metodi ciljata različne molekularne markerje. Obe metodi uporabljata genotipske markerje za določevanje PVY-NTN skupine različkov. V prihodnje bo potrebno identificirati molekularne markerje v virusnem genomu, ki so odgovorni za nastanek boleznih obročkaste nekroze gomoljev pri kromprju. Do takrat pa aa RT-qPCR in SNaPshot ostajata najboljši orodji za določanje PVY različkov, ki jih najdemo v Evropi.
		ANG	Two state of the art characterization tools based on detecting molecular markers – RT-qPCR (Kogovsek et al., 2008) and SNaPshot (Rolland et al., 2008) – were assessed for their ability to assign PVY accurately to the correct group. The results were validated by bioassay, ELISA and in silico sequence analysis. The spectrum of PVY strain groups distinguished by SNaPshot is broader than that by RT-qPCR. However, the latter was more reliable in discriminating the PVYNTN group members, known for their ability to induce PTNRD on selected potato cultivars. The difference in discrimination precision was due to different molecular markers being targeted by RT-qPCR and SNaPshot. Both tools use genotypic markers for detecting PVYNTN strain groups. Future development, however, should be focused on identifying the genomic determinants of the tuber necrosis property. Until then, the RT-qPCR and SNaPshot methods remain the most powerful diagnostic tools for detecting the PVY subgroup isolates found in Europe.
	Objavljeno v		Elsevier; Journal of Virological Methods; 2013; Vol. 1272; str. 33-40; Impact Factor: 2.011; Avtorji / Authors: Rupar Matevž, Kogovšek Polona, Pompe-Novak Maruša, Gutierrez-Aguirre Ion, Delaunay Agnes, Jacquot Emmanuel, Ravnikar Maja
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
3.	COBISS ID		2662735 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Fiziologija interakcije kromir- krompirjev virus Y
		ANG	Physiology of the potato-Potato virus Y interaction
			Razpoložljivost nukleotidnega zaporedja genoma krompirja odpira možnost za napredek v razumevanju fiziologije odziva krompirja na okužbo s Krompirjevim virusom Y. Interakcije med rastlinami krompirja in Krompirjevim virusom Y (PVY), najbolj uničujočim virusom krompirja, so

	Opis	SLO	bile opisane in povzete v poglavju v knjigi. Ustvarjena je bila natančna slika dosedanjih raziskav na tem področju začeni z biološko variabilnostjo virusa PVY, metodami za detekcijo virusa, porazdelitev in akumulacija PVY v rastlinah ter odziv rastlin krompirja na infekcijo s PVY na različnih nivojih. Odziv na makroskopskem in citološkem nivoju bolezenskih znakov, glavnih presnovnih poteh vključenih v odzivu na okužbo. Prikazane so bile spremembe v fotosintezi, hormonskih poteh, obrambnih in signalnih mehanizmih ter drugih. Opisane so tudi najpomembnejše metode, ki so omogočile razkrivanje mehanizmov in signalnih poti vključenih pri odzivu krompirja na okužbo s PVY.	
		ANG	The availability of the potato genome sequence opens up the possibility of advancing the understanding of the physiology of potato response to virus infection. Interaction between potato plants and Potato virus Y (PVY), the most devastating potato virus, will be described, starting with the biological variability of PVY, available detection methods, viral movement, and its accumulation in plants. The response of potato plants to PVYinfection will be described, first the symptoms` development from differentpoints of view, from macroscopical to cytological, and second the main metabolic pathways involved in response to infection. Alterations in photosynthesis, hormonal pathways, defense and signaling mechanisms, and otherpathways will be demonstrated. The most important methods enabling disclosure of potato response mechanisms and pathways will be described.	
	Objavljeno v		Springer; Progress in botany; 2013; Str. 101-133; Avtorji / Authors: Kogovšek Polona, Ravnika Maja	
	Tipologija		1.16 Samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji	
4.	COBISS ID		2254415	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Agresiven in blag različek krompirjevega virusa Y sprožita različne specifične odzive na občutljivih rastlinah krompirja	
		ANG	Aggressive and mild Potato virus Y isolates trigger different specific responses in susceptible potato plants	
	Opis	SLO	V tem članku smo prvič spremljali razlike v prvih odzivih dveh kultivarjev krompirja, Igor in Nadine, na okužbo z blagim (PVYN) in agresivnim različkom PVY (PVYNTN). Različno izražene gene smo po okužbi z obema različkoma določali z mikromrežami in kvantitativnim PCR v realnem času.	
		ANG	Differences in the early responses of two potato cultivars, Igor and Nadine, to two isolates of Potato virus Y (PVY), the aggressive PVYNTN and the mild PVYN, were monitored for the first time. Microarray and quantitative real-time PCR analyses were carried out to identify differentially expressed genes after inoculation with each virus isolate.	
	Objavljeno v		Her Majesty's Stationery Office; Plant Pathology; 2010; Vol. 59, issue 6; str. 1121-1132; Impact Factor: 2.237;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.149; A': 1; WoS: AM, DE; Avtorji / Authors: Kogovšek Polona, Pompe Novak Maruša, Baebler Špela, Rotter Ana, Gow Lisa, Gruden Kristina, Foster Gary D., Boonham Neil, Ravnika Maja	
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek	
5.	COBISS ID		3825016	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Convective interaction media monoliti za ločbo in čiščenje pDNA in virusov	
		ANG	Convective interaction media monoliths for separation and purification of pDNA and viruses	
	Opis	SLO	V poglavju knjige z naslovom "Monolitna kromatografija in njene moderne aplikacije" je pregled aplikacij čiščenja in ločbe velikih biomolekul na monolitnih kolonah. Kot je opisano v tej publikaciji je bilo že v preteklosti pokazano, da so metakrilatni monoliti zelo učinkoviti pri čiščenju in	

		koncentraciji različnih virusov.
	ANG	This chapter in the book entitled "Monolithic chromatography and its modern applications" is an overview of applications with monolithic columns for purification and separation of large bio-molecules. As it is described in this publication methacrylate monoliths were already in the past proven to be very efficient in purification and concentration of different viruses.
Objavljeno v		ILM publications; Monolithic chromatography and its modern applications; 2010; Str. 489-508; Avtorji / Authors: Peterka Matjaž, Kramberger Petra, Štrancar Aleš
Tipologija		1.16 Samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji

8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine⁷

	Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	251011072	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Mentorstvo in zagovor doktorata, katerega tema je bil virus PVY in interakcija PVY z rastlinami krompirja
		ANG	Mentorship and defence of a doctorate dealing with the virus PVY and its interaction with potato plants.
	Opis	SLO	Mlada raziskovalka Polona Kogovšek (NIB) je zagovarjala doktorsko disertacijo v letu 2010 pod mentorstvom dr. Maja Ravnika (NIB). Obe sta članici projektne raziskovalne skupine. Doktorat je bil osredotočen na virus PVY in njegove interakcije z rastlinami krompirja, ki vključuje tehnike, kot sta mikromreže in qPCR. Rezultati iz projekta so prispevali k visoki kakovosti doktorata in odličnim publikacijam.
		ANG	The young researcher Polona Kogovsek (NIB) defended her doctoral thesis on 2010 under the mentorship of Dr. Maja Ravnika (NIB), both members of the project research group. The doctorate was focused on the PVY virus and its interaction with potato plant, involving techniques such as microarrays and qPCR. The results of the project have contributed to the high quality of the doctorate and excellent publications.
	Šifra	D.09 Mentorstvo doktorandom	
	Objavljeno v	[P. Kogovšek]; 2010; XVI, 127 f., [19] f. pril.; Avtorji / Authors: Kogovšek Polona. Naslov: Razlike v izražanju genov krompirja (<i>Solanum tuberosum</i> L.) po okužbi s krompirjevim virusom Y [zgoraj] N in njegovim nekrotičnim različkom Y [zgoraj] NTN	
	Tipologija	2.08 Doktorska disertacija	
2.	COBISS ID	254714624	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Organizacija 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin
		ANG	Organization of the 10. Slovenian conference on plant protection
	Opis	SLO	Društvo za varstvo rastlin Slovenije je v sodelovanju z Biotehniško fakulteto in Nacionalnim inštitutom za biologijo (s prof. dr. Majo Ravnika kot predsednica organizacijskega odbora) uspešno organiziralo 10. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, ki je potekalo od 1. do 2. marca 2011 v Podčetrtku. Na posvetovanju se je zbralo preko 300 udeležencev iz osmih držav (Slovenija, Belgija, Bolgarija, Madžarska, Nizozemska, Francija, Bosna in Hercegovina, Hrvaška). Pomemben del posvetovanja je bila tudi okrogla miza z naslovom Pojav novih bolezni in škodljivcev – vzroki in posledice (moderatorica okrogle mize: prof. dr. Maja Ravnika).

		ANG	Plant Protection Society, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana and National Institute of Biology (Prof.Dr. Maja Ravnikar as president of the organising committee) have successfully organised the 10th Slovenian Conference on Plant Protection with International Participation, which was held on 1st and 2nd of March in Podčetrtek, Slovenia. There were more than 300 participants present from 8 countries (Slovenia, Belgium, Bulgaria, Hungary, Netherlands, France, Bosnia and Herzegovina and Croatia). An important part of the conference was the round table with title: »Occurrence of new diseases and pests: causes and consequences" (moderator of round table: prof. dr. Maja Ravnikar)
	Šifra	B.01	Organizator znanstvenega srečanja
	Objavljeno v	Društvo za varstvo rastlin Slovenije = Plant Protection Society of Slovenia; 2011; 130 str.; Avtorji / Authors: Maček Jože, Trdan Stanislav	
	Tipologija	2.25	Druge monografije in druga zaključena dela
3.	COBISS ID	29465561	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Organizacija delavnice PCR v realnem času v rastlinski patologiji: diagnostika in raziskave.
		ANG	Organization of Real-time PCR workshop in plant pathology: diagnostics and research
	Opis	SLO	V Sloveniji se je med 29.11 in 2.12.2011 prvič odvijalo laboratorijsko izobraževanje na področju visoko tehnoloških raziskav in molekularne diagnostike povzročiteljev bolezni, pod naslovom PCR v realnem času v rastlinski patologiji: diagnostika in raziskave. Izobraževanje v soorganizaciji Nacionalnega inštituta za biologijo (NIB) in BioSistemike d.o.o., je potekalo pod okriljem evropskih projektov COST Action 873 in Q-Detect na Nacionalnem inštitutu za biologijo v Ljubljani. Udeleženci izobraževanja so se zbrali iz različnih raziskovalnih in diagnostičnih laboratorijev v Evropskih državah: Nizozemske, Finske, Španije, Italije, Estonije, Norveške, Francije, Poljske, Srbije in Slovenije. Svoje znanje in izkušnje so z udeleženci delili priznani slovenski strokovnjaki iz Oddelka za biotehnologijo in sistemsko biologijo pod vodstvom prof. dr. Maje Ravnikar na NIB-u, sodelavci BioSistemike ter vabljeni strokovnjak dr. Neil Boonham (Vodja oddelka na raziskovalni agenciji za hrano in okolje (FERA), York, Velika Britanija).
		ANG	In Slovenia between the 29.11 and 02.12 of 2011 was held a laboratory workshop in the field of high-tech research and molecular diagnostics of plant pathogens, entitled: real time qPCR in plant pathology- diagnostics and research. The training, co-organized by the National Institute of Biology (NIB) and BioSistemika d.o.o., was held under the auspices of the European projects COST Action 873 and Q-Detect at the National Institute of Biology in Ljubljana. Training participants have gathered from various research and diagnostic laboratories in different European countries: the Netherlands, Finland, Spain, Italy, Estonia, Norway, France, Poland, Serbia and Slovenia. The renowned Slovenian experts from the Department of Biotechnology and Systems Biology under the guidance of prof. Dr. Maja Ravnikar (NIB), colleagues from BioSistemika and the invited expert Dr. Neil Boonham (Head of Research at the Food and Environment Research Agency (FERA), York, Great Britain) shared their knowledge and experience with the participants.
	Šifra	B.01	Organizator znanstvenega srečanja
	Objavljeno v	NIB; 2011; Ni pag.; Avtorji / Authors: Dreó Tanja, Mehle Nataša, Pirc Manca, Ravnikar Maja, Baebler Špela, Čepin Urška	
	Tipologija	2.05	Drugo učno gradivo
4.	COBISS ID	14169366	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Aplikacije v biokromatografiji, biokonverziji in sintezi v trdni fazi

	ANG	Applications in biochromatography, bioconversion and solid phase synthesis	
Opis	SLO	Sofinancer projekta BIA Separations je v letu 2010 v Sloveniji, v Portorožu premierno organiziral bienale o monolitni kromatografiji z naslovom »Monolith summer school and symposium“. Bienale (4th MSS 2010) je bil četrti po vrsti in je v enem dogodku združil vse vodilne svetovne strokovnjake s področja monolitne kromatografije. Dogodek je omogočil razširjanje tako bazičnega znanja o CIM kromatografiji kot njenih aplikacij vključno z aplikacijami s področja čiščenja virusov. MSS2010 je pokrival široko paleto tematik od bazičnega delovanja monolitne kromatografije do zadnjih raziskav s področja čiščenja virusov, plazmidne DNA in proteinov. Predavanja so bila podprta tudi s številnimi delavnicami, ki so praktično nadgradile teorijo predavanj. Na dogodku je sodelovalo več projektnih partnerjev, katerih skupni rezultati so bili predstavljeni v obliki posterja.	
	ANG	The co financier of the project BIA Separations organized in 2010 the premier biannual monolith event, Monolith summer school and symposium, in Portorož, Slovenia. The 4th MSS 2010 event brought world leaders in monolith chromatography under one event and offered a great opportunity to expand the knowledge on CIM monoliths and their applications, including virus applications. MSS 2010 covered a broad range of topics from basics of monolithic chromatography to the latest findings in virus, pDNA and protein purification. The lectures were backed-up with an array of workshops each covering a special area to build up on the theory learned in lectures. Several project members participated in the event and the results obtained in the project were presented in the event in the shape of a poster: GUTIERREZ-AGUIRRE, Ion, STEYER, Andrej, KRAMBERGER, Petra, BANJAC, Marko, PETERKA, Matjaž, RAVNIKAR, Maja. Concentration and detection of plant and human viruses using CIM monoliths and real time QPCR. V: ŠTRANCAR, Aleš (ur.), ČUČEK, Karmen (ur.). MSS2010 - 4rd [!] Monolith Summer School & Symposium, May 29-June 2, 2010, Portorož, Slovenia. Applications in biochromatography, bioconversion and solid phase synthesis : book of abstracts. Ljubljana: BIA Separations, 2010, str. 42-43, P17. [COBISS.SI-ID 27453913] kategorija: SU (S)	
Šifra		B.01	Organizator znanstvenega srečanja
Objavljeno v		BIA Separations; 2010; 56 str.; Avtorji / Authors: Štrancar Aleš, Čuček Karmen	
Tipologija		2.25	Druge monografije in druga zaključena dela
5.	COBISS ID	28101081	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Prenos rastlinskih virusov z vodo	
	ANG	Water mediated transmission of plant viruses	
Opis	SLO	Tekom projekta smo raziskovali zmožnost preživetja in širjenja nekaterih virusov v vodnih okoljih, kot so namakalne vode v hidroponskih sistemih. S tem člankom, namenjenemu predvsem bralstvu usmerjenjem k agrikulturi, smo naredili pregled problematike rastlinskih virusov v vodah skupaj s potencialnimi rešitvami	
	ANG	During this project we have studied the ability of certain plant viruses to survive in water and therefore be transmitted through aqueous media such as irrigation water or hydroponic systems. In this article, intended for agriculture related population, we made an overview of this problem, including potential solutions	
Šifra		F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
Objavljeno v		Kmetijska založba; Kmetovalec; 2011; Letn. 79, št. 2; str. 6-7; Avtorji / Authors: Mehle Nataša, Ravnikar Maja	
Tipologija		1.04	Strokovni članek

9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

-Od leta 2009 do 2012 smo se redno udeležili mednarodne konference konzorcija PVYwide, katerega ustanovni član je tudi NIB. Namen ustanovitve konzorcija in organizacije srečanj, je v izmenjavi znanja o virusu PVY. Virus PVY je namreč prisoten po celem svetu in povzroča veliko škodo, zato so srečanja strokovnjakov s področja določanja in razlikovanja virusov PVY izrednega pomena. S udeleževanjem srečanj tako pridobivamo znanja o problematiki kot tudi prispevamo k boljšemu poznavanju razširjenosti bolezni v Evropi.

-Ustanovitelji CoBIK-a, Centra odličnosti za biosenzoriko, instrumentacijo in procesno kontrolo. Bia Separations in NIB sta dva izmed sedmih ustanoviteljev centra.

Center združuje najnaprednejše nacionalne tehnologije s področij kemije, biologije, nadzornih sistemov in preciznih električnih inštrumentacij. Center je bil ustanovljen v začetku leta 2010 kot eden najboljših slovenskih štiri letnih hi-tech projektov za izboljšanje konkurenčnosti evropskih inovacij. Ustanovljen je bil s strani štirih slovenskih visokotehnoloških podjetij z uveljavljeno globalno odličnostjo in štirih mednarodno priznanih slovenskih institucij znanja z močno globalno CoBIK vizijo.

V letu 2010 je bilo ustanovljeno spin-out podjetje Biosistemika d.o.o. Podjetje je usmerjeno k zagotavljanju celostnih rešitev za uporabnike zahtevnih laboratorijskih analiz s področja molekularne biologije. Podjetje je dobilo prvo nagrado za poslovni načrt na tekmovanju tehnološkega parka ter se uvrstilo v finalni izbor STARTUP 2010. Svojo inovacijo "Ekspertni sistem za molekularno diagnostiko" je predstavilo na Slovenskem forumi Inovacij ter zanj prejel bronasto priznanje.

10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

10.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Rezultati projektne skupine so prispevali k poznavanju raznolikosti in epidemiologiji gospodarsko najpomembnejšega virusa krompirja PVY, prav tako pa bodo prispevali k razvoju monolitne kromatografije in SPR ter njene uporabe za pripravo protiteles. Raziskave s področja PVY so potekale tudi v okviru mednarodne organizacije PVYWIDE, kjer so bili rezultati projekta predstavljeni mednarodnemu znanstvenem občinstvu. PVYWIDE organizacijo vodi projektni partner INRA iz Francije. Poleg validacije in primerjave že obstoječih tehnik (SNaPshot in RT-qPCR), ki bo pripomogla k hitremu in učinkovitemu ločevanju med milim in agresivnim virusnim izolatom, smo razvili tudi nove metodologije, ki lahko pripomorejo k nadaljnjim raziskavam na tem področju. Med njimi najdemo razvoj čiščenja PVY na osnovi CIM monolitov, ocena vode kot potencialni medij za širjenje PVY v primeru epidemije in prvič uporabljena metoda SPR za spremljanje interakcije PVY-protitelo. Raziskave diferencialno izraženih genov pri gostiteljskih rastlinah, okuženih z blagimi in agresivnimi različki PVY, pa so nam dodatno pomagale razumeti metabolne poti in gene, ki so vključene v izražanje simptomov. Rezultati bodo prispevali k nadaljnjem razvoju in vpeljavi CIM monolitnih kromatografskih nosilcev za vezavo, izolacijo in čiščenje virusov, saj CIM monoliti kažejo odlične lastnosti vezave virusov. Rezultati uporabe CIM monolitov in PVY znotraj tega projekta so zaokrožili predhodne rezultate, dobljene z uporabo CIM in drugih virusov, kot so fagi, rotavirusi, adenovirusi, virus mozaika paradižnika, itd, in bodo tudi osnova za nove aplikacije, na primer, uporaba CIM monolitov za pripravo vzorcev virusov za NGS. Spodbudni prvi rezultati na področju tehnike SPR pomenijo pomemben napredek, saj interakcija protitelo-virusni do sedaj še ni bila preučevana s tehniko SPR na primeru nitastih virusov. To bi bila lahko v prihodnosti osnova za oblikovanje učinkovitejših mešanic protiteles za diagnostiko virusa PVY. Dobljeni rezultati pa bodo pripomogli razvoju tehnik za proučevanje drugih interakcijah, na primer delcev PVY z rastlinskimi proteini ali lastnimi virusnimi proteini. Podobno velja za opravljene analize transkriptomike v primeru odziva rastlin na okužbo s PVY. Biološki pristopi in biostatistična orodja, razvita in optimizirana med to analizo se uporabljajo za eksperimente transkriptomike, ki se osredotočajo na druge presnovne poti, druge viruse in interakcije rastlin z bakterijami.

ANG

The results of the research project contribute to knowledge on biodiversity and epidemiology of

most important virus infecting potato PVY, but they will also add scientific advances to the field of monolithic chromatography and SPR. Regarding the PVY scientific field, the results of the project have been included in the PVY research under international association PVY WIDE which is led by project partner INRA. In addition to the validation and comparison of already existing techniques (SNaPshot and RT-qPCR), that will enable quick and efficient distinction between mild and severe PVY genotypes, new methodologies have also been developed, which might result benefitting for future research in the field. Among them we find the development of a CIM monoliths-based PVY purification protocol, the evaluation of water as potential factor in PVY epidemics, and the use, for the first time, of SPR to monitor the PVY-antibody interaction. In addition, the research on the differential gene expression observed in host plant, upon infection with mild and aggressive PVY strains, will help understanding the plant metabolic pathways and genes involved in symptom expression. On the other hand, the results will also help to the further development and establishment of CIM monolithic chromatographic supports as ideal material for the binding, isolation and purification of viruses. The results with CIM monoliths and PVY within this project will join previous satisfactory results obtained using CIM and other viruses, such as, phages, rotaviruses, adenoviruses, tomato mosaic virus, etc, and will be the basis for future applications such as the use of CIM for preparing virus samples for NGS. In the case of the SPR technique, the encouraging preliminary results obtained represent an important advance, as never before was the interaction antibody-virus, explored with SPR for a filamentous virus. This could be the basis of future strategies for designing more effective antibody cocktails for the research and diagnostic of PVY. The obtained results also open doors to the use of SPR for studying interaction of PVY with other proteins, such as the proteins from host plant or from the virus itself. The same is relevant for the performed transcriptomic analysis of the plant response to PVY infection. The biological approaches and biostatistics tools developed and optimized during the analysis are of benefit in the experiments of transcriptomics that focus on other metabolic routes, other viruses and interactions of plants with bacteria.

10.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Rezultati projekta se vklaplajo v najvišje prioritete Slovenije in Evropske unije, saj so umeščene v prvi prioritetni sklop: raziskovanja genomike in biotehnologije za zdravje, kakovosti in trajnosti živil ter trajnostnega razvoja, ter šesti prioritetni sklop: raziskave, vpete v razvojne potrebe slovenskih podjetij. Rezultati projekta so uporabni za sodelujoče podjetje BIA Separations, ki bo lahko na podlagi pridobljenih podatkov razširilo krog uporabe CIM monolitnih kromatografskih nosilcev, ki so sad lastnega razvoja, kar bo pospešilo že do sedaj uspešen prodor na tuje trge ter delo z domačo visokotehnološko industrijo. Direktno se bodo rezultati uporabili v kmetijski panogi, saj bodo nova pridobljena znanja o biologiji in epidemiologiji najpomembnejšega krompirjevega virusa PVY in njegovih različkov bistveno vplivala na kmetijsko proizvodnjo ter spreminjala pristope kmetijske prakse pri pridelovanju krompirja. Rezultati raziskave bodo bistveno pripomogli k bolj učinkovitim ukrepom zatiranja virusa, zato bodo spremembe kmetijske prakse z bolj usmerjenim odpravljanjem problema epidemij agresivnih PVY različkov vodile v smeri naravi prijaznejšega pridelovanja in metod varstva rastlin. Možnosti določanja virusov in znanja o novih epidemioloških možnostih pa bodo pomembna in prenosljiva tudi na druge rastlinske viruse, prav tako pa na živalske in humane viruse. Rezultati dobljeni pri raziskovanju vode, kot možne poti okužbe prispevajo k boljšemu razumevanju epidemiologije rastlinskih virusov in pripomorejo k odločitvi, če je potrebno pri pridelavi rastlin vključiti diagnosticiranje nekaterih rastlinskih virusov v namakalnih, hidroponskih in rečnih vodah. S tega področja smo že opravili uspešne raziskave detekcije in odkrivanja ToMV in PePMV ter Rotavirusov v okoljskih vodah, ki so bili izredno dobro sprejeti kot znanstvene publikacije, poleg tega pa razvite metode uporablja že več domačih in tujih mikrobioloških diagnostičnih laboratorijev. Oddelek za biotehnologijo in sistemsko biologijo že več kot 10 let intenzivno sodeluje z Ministrstvom za kmetijstvo in gozdarstvo ter fitosanitarno inšpekcijo ter drugimi strokovnjaki s področja varstva rastlin. Razvoj in optimizacija specifičnega qPCR testov za detekcijo in genotipizacijo so pomembni prispeva k izboljšanju diagnostike rastlinskih povzročiteljev bolezni, ki se izvaja vsako leto na zahtevo slovenske fitosanitarne uprave in inšpekcijske službe. Dobljeno znanje, ki bo plod ne le slovenskih temveč tudi tujih znanstvenikov jim bomo predstavili in omogočili njegovo uporabo. Izmenjava znanja in izkušenj z mednarodnimi partnerji (INRA in FERA) iz vodilnih institucij v rastlinski virologiji,

predstavlja dodatno vrednost tudi za izobraževanje podiplomskih študentov. Pridobljeno znanje se uporablja pri pedagoškem delu, tako na dodiplomski kot tudi podiplomski stopnji. Doktorska disertacija iz področja raziskav PVY in ena s področja PePMV sta bili končani v lanskem letu, medtem ko sta dve še dvv teku. Biološki pristopi in biostatistična orodja, razvita in optimizirana med to analizo se uporabljajo za eksperimente transkriptomike, ki se osredotočajo na industrijske bakterije – bioproducente zdravil.

ANG

The results of the project fit in the fields of biotechnology, genomics and systems biology for health and safe food, and therefore match the highest priorities of Slovenia and the European Union. As such they fit to the first priority of this call and sixth priority: research for development of Slovene companies. The project's results will directly help the collaborators at BIA separations on broadening the target user group of the CIM monolithic supports, which are a result of their own development. This will impulse even more their already successful expansion into the international market, as well as their work with national high-tech industry. At the same time, the obtained results will be directly used in the agriculture field. The new knowledge on the biology and epidemiology of the most important potato infecting virus (PVY) and its strains will affect the agriculture manufacturing by influencing the strategy of agricultural practice related to potato production. The results of the research done will help to adopt more efficient measures for virus eradication. Such changes in the agricultural practice, being better focused on resolving the problem of epidemics with PVY aggressive strains, will allow for a more environment friendly production and plant protection methods. The new options for virus detection and the knowledge on new epidemiologic sources will, on the other hand, be important and adaptable also to the case of other plant viruses, as well as animal and human viruses. The results obtained exploring water as a potential infection route also help to a better understanding of the plant virus epidemiology and to decide if in certain plant production systems, irrigation waters or river waters should be taken into account in the surveys of specific plant viruses. In this field, we already performed successful research focused on the detection of ToMV, PepMV and Rotaviruses, in environmental waters. Those results have been disseminated as high impact scientific publications, and in addition, the developed methods are being used by a number of national and international diagnostic laboratories. The department of biotechnology and systems biology collaborates intensively for more than 10 years with representatives from the Ministry of agriculture and forestry, from the phytosanitary inspection services and with other experts from the field of plant protection. The development and optimization of specific qPCR for diagnostics and genotyping will help in improving the diagnostic services that are performed each year for the Slovenian phytosanitary administration and inspection service. The knowledge obtained from the project, which will be generated not only by Slovene scientist but also by scientists from beyond our borders, will be presented to such representatives and at the same time its use enabled. The exchange of know-how with international partners (INRA and FERA), leading institutions in the plant virology field, represents an additional benefit especially in doctoral students exchange and education. The obtained knowledge will be extended to the pedagogic work, both in undergraduate and postgraduate level. Two doctoral theses were already defended last year, one on research of PePMV and the other on PVY, while other two are running now. . The biological approaches and biostatistics tools developed and optimized during the analysis are of benefit in the experiments of transcriptomics that focus on industrial bacteria – drug bioproducers.

11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj		
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	

	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen bo v naslednjih 3 letih
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih

F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Uporabljen bo v naslednjih 3 letih
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	V celoti
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☒ DA ☐ NE
	Rezultat	Dosežen
	Uporaba rezultatov	Ni uporabljen
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☒ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

Glavne novosti so povezane z uporabo CIM kromatografskih nosilcev za koncentriranje in čiščenje virusov ter pripravo virusov za sekveniranje nove generacije - NGS in uporabo

površinske plazmonske resonance za pripravo koktailov protiteles za diagnostične ali raziskovalne namene. Izboljšave diagnostičnih metod predstavlja tudi primerjalna študija dveh molekularnih metod Snap Shot in qPCR.

Poleg mentorske dejavnosti in posredovanja znanj študentom na dodiplomski in podiplomski stopnji so sodelavci projekta intenzivno sodelovali pri različnih televizijskih in radijskih oddajah ter strokovnih predavanjih (GZS, Hiša eksperimentov,...) ter ne tak način diseminirali nova znanja širši javnosti.

12.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!
Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visokošolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☒	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☒	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☒	☐	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☒	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☒	☐	☐	☐	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	☒	☐	☐	☐	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☒	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☒	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☒	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☒	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☒	☐	☐	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	☐	☒	☐	☐	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	☒	☐	☐	☐	
G.02.12.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	☐	☐	☐	☒	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	☐	☒	☐	☐	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	☐	☐	☐	☒	
G.03.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	☒	☐	☐	☐	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	☒	☐	☐	☐	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	☐	☐	☐	☒	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	☒	☐	☐	☐	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	☒	☐	☐	☐	

G.04.06.	Drugo:						
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete						
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj						
G.07	Razvoj družbene infrastrukture						
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura						
G.07.02.	Prometna infrastruktura						
G.07.03.	Energetska infrastruktura						
G.07.04.	Drugo:						
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva						
G.09.	Drugo:	razvoj zdravstvenega varstva rastlin					

Komentar

Vpliv na dodiplomsko in podiplomsko izobrazevanje se izkazuje z opravljenimi diplomami in doktorati v okviru projekta, za gospodarski in tehnološki razvoj zaradi možnosti opravljanja novih storitev in uporabe že obstoječih materialov za povsem nove storitve. Pomen za razvoj varovanja zdravja rastlin pa se izkazuje preko uvedenih diagnostičnih tehnik in novih znanj o raznolikosti in epidemiologiji najpomembnejšega virusa ki okužuje krompir.

13. Pomen raziskovanja za sofinancerje¹²

	Sofinancer		
1.	Naziv	BIA Separations d.o.o.	
	Naslov	Mirce 21, 5270 Ajdovščina	
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		109.373,64 EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		25 %
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.	Koncentriranje nove oblike virusov (filamentozni) s CIM monoliti.	F.01
	2.	Članek v soavtorstvu. Pomaga pri razširjanju znanja o CIM monolitih.	A.01
	3.	Predavanja na različnih mednarodnih konferencah. Pomaga pri razširjanju znanja o CIM monolitih.	B.03
	4.	Organizacija delavnice za uporabo PCR v realnem času, za zaposlene naročnika.	F.18
	5.	Ustanovitev centra odličnosti CoBik	D.02
	Komentar	V okviru projekta je bila prvič razvita metoda za čiščenje nitastega (filamentoznega) rastlinskega virusa (virus PVY, krompirjev virus Y) iz rastlinskega materiala na CIM monolitnih nosilcih. Rezultati tega projekta so bili objavljeni v mednarodni znanstveni reviji Journal of Chromatography A pod naslovom "Fast purification of the filamentous Potato virus Y using monolithic chromatographic supports" in na mednarodnem kongresu MSS2012 (5th Monolith Summer School &	

		Symposium) v Portorožu. Za zaposlene sofinancerja je bilo izvedeno izobraževanje o metodi PCR v realnem času. Leta 2010 je bil ustanovljen center odličnosti COBIK, med soustanovitelji sta tudi NIB in BIA Separations.
	Ocena	Za podjetje BIA Separations je bil projekt pomemben iz večih vidikov. V okviru projekta je bila razvita nova uporaba glavnega produkta podjetja, CIM monolitnih nosilcev. Le-ti so bili v preteklosti že uporabljeni za čiščenje različnih humanih, bakterijskih in rastlinskih virusov, ki pa so bili sferičnih ali paličastih oblik. Metoda, ki je bila razvita v okviru tega projekta pa je prvič pokazala učinkovitost CIM monolitnih nosilcev za čiščenje nitastih (filamentoznih) rastlinskih virusov iz rastlinskega materiala. To posledično pomeni, da se CIM monolitni nosilci lahko učinkovito uporabljajo tudi za čiščenje nitastih virusov iz kompleksnih vzorcev, s čimer se je potencialno povečal spekter uporabe CIM monolitnih nosilcev in obseg trga podjetja. Vzporedno z razvojem metode za čiščenje virusa PVY (angl. potato virus Y) na CIM monolitnih nosilcih je bilo izvedeno tudi klasično čiščenje omenjenega virusa iz rastlinskega materiala. Ponovno so se pokazale prednosti kromatografskega čiščenja virusov iz kompleksnih vzorcev v primerjavi s klasičnimi (dolgotrajnimi) načini čiščenja, s čimer se je potrdilo obstoječe vedenje o tem. Rezultati in ugotovitve projektne skupine so bili predstavljeni v mednarodnih znanstvenih revijah in na različnih mednarodnih srečanjih. S tem se je povečala prepoznavnost podjetja BIA Separations in njenih produktov predvsem pri določenem delu potencialnih strank podjetja: rastlinskih virologih. Podjetje BIA Separations je pridobilo oz. poglobilo znanja o metodi PCR v realnem času. Na delavnicah, ki jih je organiziral NIB so zaposleni spoznali teoretične in praktične vidike te metode, znanje pa se je nadgrajevalo ob spremljanju oz. interpretaciji rezultatov analiz v okviru samega projekta. Sodelovanje obeh partnerjev NIB in BIA Separations v tem projektu je poleg tega omogočilo tudi, da sta bila oba med ustanovitelji centra odličnosti COBIK, kjer sta lahko še razširila medsebojno sodelovanje ter sodelovanje z drugimi visokotehnološkimi podjetji.

14. Izjemni dosežek v letu 2012¹³

14.1. Izjemni znanstveni dosežek

Pregledni članek, ki obravnava problematiko okoljske vode kot medija za širjenje virusov, je bil objavljen reviji Water research journal, vodilni znanstveni reviji s področja raziskav vode. Revija je prva v kategoriji vodnih virov in ima faktor znanstvenega vpliva 4,865.

MEHLE, Nataša, RAVNIKAR, Maja. Plant viruses in aqueous environment : survival, water mediated transmission and detection. Water res. (Oxford). [Print ed.], 2012, vol. 46, str. 4902-4917. kategorija: 1A1 (Z1, A", A') [COBISS.SI-ID 2613327]

V preglednem članku smo se osredotočili na problematiko rastlinskih virusov, ki jih najdemo v okoljskih vodah ter na njihovo detekcijo. V članku diskutiramo preživetje virusov v vodnih okoljih in njihove vire. Fokus članka je možnost preživetja in pomembnost širjenja rastlinskih virusov preko vode ter možni ukrepi za preprečevanje le tega. Oboje je še posebej pomembno zaradi vse večje uporabe hidroponike ter intenzivnega namakanja agrikulturnih površin z okoljskimi vodami.

14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

Razširitev obsega akreditacije na področje mikrobiologija.

Vir: Slovenska akreditacija <http://www.slo-akreditacija.si/lp000/media/lp028.pdf>

Laboratorij je od leta 2003 akreditiran pri Slovenski akreditaciji (reg. Št. LP-028) za področje določanja GSO. V letu 2012 je laboratoriju uspelo razširiti akreditacijo tudi na področje

določanja mikroorganizmov - povzročiteljev bolezni rastlin. Za obe področji je obseg akreditacije delno fleksibilen, kar omogoča, da laboratorij po potrebi uvede nove metode in jih uvrsti na seznam akreditiranih metod. V Sloveniji je to prva podeljena akreditacija za omenjeno področje, ki še dodatno povečuje tako prepoznavnost laboratorija v svetu kot možnosti sodelovanja na mednarodnem nivoju. Tako laboratorij pomaga pri odkrivanju novih ali problematičnih mikroorganizmov več Evropskim laboratorijem, tudi kot referenčni laboratorij v primeru sodnih sporov. Evropska organizacija za varstvo rastlin je uporabila rešitve na področju validacij kot primer dobre prakse.

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba
raziskovalne organizacije:*

in

vodja raziskovalnega projekta:

Nacionalni inštitut za biologijo

Maja Ravnikar

ŽIG

Kraj in datum: Ljubljana 13.3.2013

Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/4

¹ Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

² Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

⁷ Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

¹³ Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00

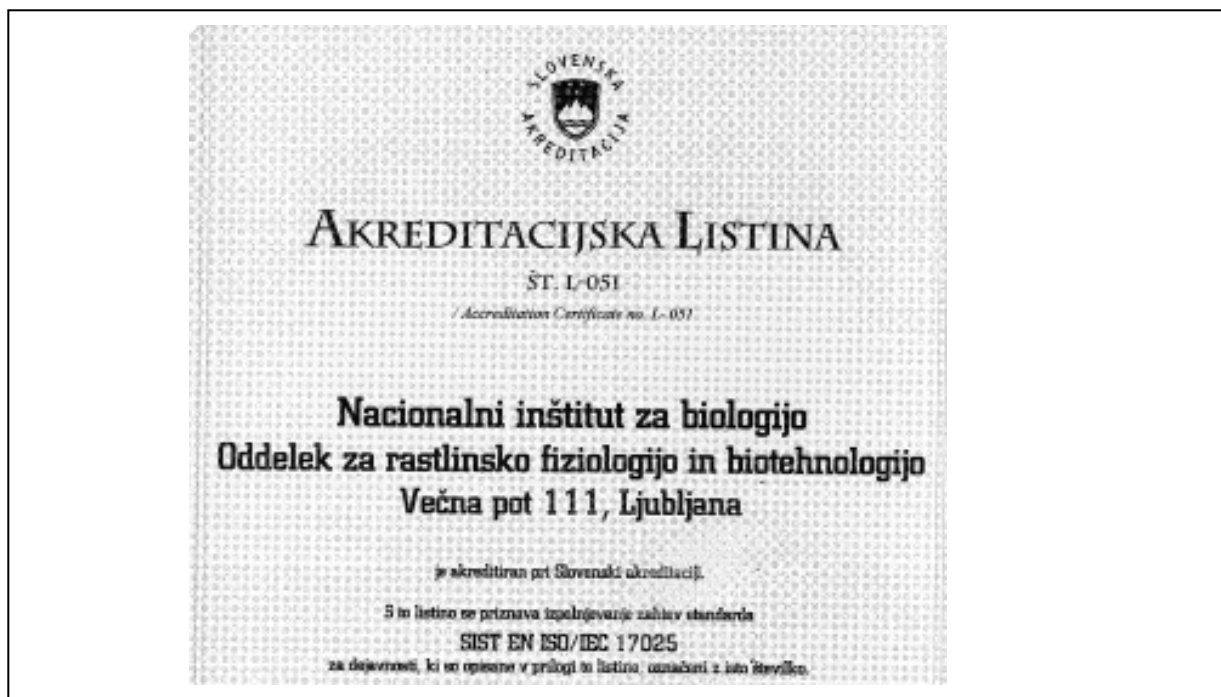
F1-91-7A-F6-65-47-1A-7C-99-B7-0B-59-5D-0E-EF-88-AB-BF-A6-C2

Naravoslovne vede

1.03.04: Biologija, Rastlinska fiziologija

Dosežek 1: Razširitev obsega akreditacije na področje mikrobiologija (molekularne metode).

Vir: Slovenska akreditacija <http://www.slo-akreditacija.si/lp000/media/lp028.pdf>



Laboratorij je od leta 2003 akreditiran pri Slovenski akreditaciji (reg. Št. LP-028) za področje določanja gensko spremenjenih organizmov. V letu 2012 je laboratoriju uspelo razširiti akreditacijo tudi na področje določanja mikroorganizmov - povzročiteljev bolezni rastlin. Za obe področji je obseg akreditacije delno fleksibilen, kar omogoča, da laboratorij po potrebi uvede nove metode in jih uvrsti na seznam akreditiranih metod. V Sloveniji je to prva podeljena akreditacija za področje določanje mikroorganizmov - povzročiteljev bolezni rastlin, ki še dodatno povečuje tako prepoznavnost laboratorija v svetu kot možnosti sodelovanja na mednarodnem nivoju. Tako laboratorij pomaga pri odkrivanju novih ali problematičnih mikroorganizmov več Evropskim laboratorijem (Norveška, Avstrija, Belgija, Bosna, itd), tudi kot referenčni laboratorij v primeru sodnih sporov. Evropska organizacija za varstvo rastlin (EPPO) je uporabila rešitve na področju validacij kot primer dobre prakse.

Naravoslovne vede

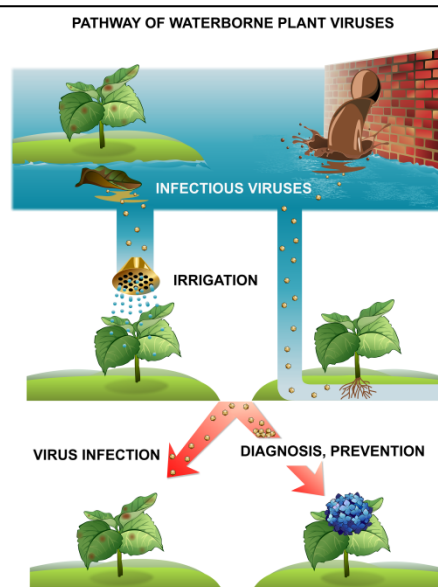
1.03.04: Biologija, Rastlinska fiziologija

Dosežek 1: Objava v vodilni znanstveni reviji s področja raziskav vode (A'')

Vir: MEHLE, Nataša, RAVNIKAR, Maja. Plant viruses in aqueous environment : survival, water mediated transmission and detection. Water res. (Oxford). [Print ed.], 2012, vol. 46, iss. 16, str. 4902-4917. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.07.027>, doi: 10.1016/j.watres.2012.07.027. [COBISS.SI-ID 2613327],

Pregledni članek, ki obravnava problematiko okoljske vode kot medija za širjenje virusov, je bil objavljen reviji Water research journal, vodilni znanstveni reviji s področja raziskav vode.

Revija je prva v kategoriji vodnih virov in ima faktor znanstvenega vpliva 4,865.



V preglednem članku smo se osredotočili na problematiko rastlinskih virusov, ki jih najdemo v okoljskih vodah ter na njihovo detekcijo. Do sedaj so bili vodnih virih najdeni številni infektivni rastlinski patogeni virusi iz vsaj 7 različnih rodov. Večina patogenih virusov izoliranih iz vodnih okolij je zelo stabilnih, rastline lahko okužijo preko koreninskega sistema brez pomoči prenašalcev pogosto pa imajo tudi zelo širok krog gostiteljskih rastlin. Sproščanje tovrstnih virusov iz rastlin v vodna okolja kot so potoki, reka in jezera lahko omogoči širjenje virusov, ki bi bili navadno omejeni na manjša območja na dolge relacije. V članku diskutiramo preživetje virusov v vodnih okoljih in njihove vire. Fokus preglednega članka je možnost preživetja in pomembnost širjenja rastlinskih patogenih virusov preko vode ter možni ukrepi za preprečevanje le tega. Oboje je še posebej pomembno zaradi vse večje uporabe hidroponskih sistemov ter intenzivnega namakanja agrikulturnih površin z okoljskimi vodami.

Za nadziranje (monitoring) voda za namakanje in uporabo v hidroponskih sistemih bodo v prihodnje uporabljene nove visoko zmogljive metode za detekcijo mnogo virusov hkrati kot sta mikromreže in sekveniranje nove generacije. V prihodnosti je smiselno pričakovati, da se bo seznam virusov najdenih v vodnih okoljih občutno povečal s čimer bo močno narasla tudi potreba po nadaljnjih raziskavah biološke pomembnosti prenosa virusov z vodo.