Rośliny, podobnie jak inne organizmy są nieustannie narażone na różne czynniki chorobotwórcze. Statyczny charakter roślin jako organizmów nie mogących się przemieścić w bardziej korzystne warunki oraz brak aktywnego, układowego systemu immunologicznego (obronnego) podobnego do ludzkiego i zwierzęcego stanowi dla nich dodatkowe utrudnienie w przeciwstawianiu się czynnikom stresowym. A jednak w naturze infekcja chorobowa roślin jest raczej wyjątkiem niż regułą. Jest tak dlatego, że rośliny wypracowały szereg różnych, niekiedy bardzo wyrafinowanych mechanizmów obronnych przeciwko czynnikom chorobotwórczym, a szerzej przeciwko biotycznym stresom. Przy braku mechanizmów obronnych nawet minimalna ilość patogenu byłaby zabójcza dla roślin. Pierwszą linię obrony roślin stanowią bariery fizyczne, takie jak kutikula i pogrubione ściany komórkowe oraz metabolity szkodliwe dla patogenów. Jest to odporność konstytucjonalna, występująca stale bez względu czy patogen atakuje roślinę czy nie. Jest jakby częścią urody rośliny. Oprócz tego rośliny posiadają także aktywne mechanizmy obronne wzbudzane przez obecność patogenów. Dzięki uwarunkowaniom genetycznym roślina jest trwale wyposażona w odporność indukowaną, która jest zwykle w stanie większego lub mniejszego uśpienia (wyciszenia) i uruchamia się w czasie ataku czynnika chorobotwórczego. Obecnie u roślin rozpoznaje się dwa poziomy odporności indukowanej (dwie linie obrony): (1) Odporność indukowana przez molekuły patogenu występujące np. w ścianach komórkowych ; jest to odporność podstawowa, wcześniej nazywana odpornością poziomą. (2) Odporność indukowana przez specjalne białka (efektory), zwane awirulentnymi białkami (avr) produkowane przez patogena celem osłabienia odporności podstawowej. Z kolei roślina poprzez białko-receptor, produkowane przez jej odpornościowy gen R rozpoznaje efektor (avr) i następuje indukcja odporności. Wcześniej ten typ odporności nazywano odpornością pionową.

Spośród różnych mechanizmów obronnych odporności podstawowej (poziomej), duże nadzieję wiąże się z systemiczną odpornością nabytą (Systemic acquried resistance, SAR). Systemiczna odporność nabyta (SA) działa przeciwko szerokiemu zakresowi patogenów, jest trwała, może być przenoszona z pokolenia na pokolenie oraz jest indukowana nie tylko przez patogeny, ale także przez różne elicytory czyli substancje, które mają zdolność wzbudzania w roślinach odporności podobnej do tej indukowanej przez patogeny, imitując interakcji roślina-patogen. Substancje te, nawet syntetyczne, nie wywołują zjawiska odporności patogenów na nie, takiego jak u patogenów traktowanych klasycznymi środkami ochrony roślin. Naturalne elicytory to substancje wyizolowane z roślin, zwierząt oraz mikroorganizmów takie jak laminaryna, chityna, chitozan i inne, oraz naturalne substancje powstałe w procesie indukcji odporności takie jak kwas salicylowy (SA), kwas jasmonowy (JA), etylen i systemina które stosowane zewnętrznie wykazują zdolność do indukcji odporności.. Najwyższą efektywność jako elicytory odporności wykazują niektóre substancje chemiczne, a w szczególności: benzo(1,2,3)tiodiazol (BTH), kwas DL-ß-aminobutyrowy (BABA), kwas oksalikowy, kwas azelikowy, kwas 2,6-dichloroiso- nikotynowy (INA) i jego pochodne.

Wśród patogenów roślinnych najczęściej występują grzyby chorobotwórcze, przy czym ich występowanie i szkodliwość możemy efektywnie ograniczać przez stosowanie różnych fungicydów, syntetycznych środków ochrony roślin. Z kolei przeciwko wirusom roślinnym nie dysponujemy żadnymi środkami ochrony roślin, a działania profilaktyczne najczęściej zawodzą. Wirus jest pasożytem molekularnym ściśle związanym z gospodarzem i wszystkie substancje oraz związki chemiczne, które szkodzą wirusowi, szkodzą także roślinie. Z tego powodu szczególnie duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem indukcji SAR, która jest aktywnością pochodzącą od rośliny i która może ingerować w początkowe procesy infekcji i/lub w namażanie się wirusa. Co istotne, wirusy ze względu na ich specyfikę stawiają szczególnie duże wymagania efektywności SAR. Efektywność SAR na poziomie 80% jest wystarczająca do ograniczania występowania patogenów grzybowych do poziomu nieszkodliwego, ale nie jest wystarczająca w ochronie roślin przed wirusami. Dlatego celem proponowanego projektu jest zbadanie możliwości indukcji odporności, ocena skuteczności stymulatorów odporności, które w trakcie projektu będą tworzone oraz charakteryzowane pod względem fizyko-chemicznym, a także określenie sposobu ich działania na poziomie makroskopowym i molekularnym, tak aby zbadać naukowe podstawy funkcjonowania nowo opracowanych stymulatorów SAR w ograniczaniu infekcji wirusowych.

Pierwszym i najważniejszym zadaniem proponowanych badań jest opracowanie najefektywniejszych elicytorów SAR przeciwko wirusom. Proponuje się dwa sposoby modyfikowania induktorów odporności (1) poprzez włączenie do cząstki znanego induktora nowej grupy funkcyjnej wzmacniającej działanie SAR, oraz (2) tworzenie nowych dwufunkcyjnych induktorów przez syntezę soli, gdzie kation i anion są dwoma, różnymi substancjami chemicznymi, przy czym co najmniej jedna z nich zawsze jest induktorem SAR, a druga wprowadza dodatkową aktywność biologiczną. Modyfikowaniu będą poddawane znane induktory, szczególnie BTH, BABA, GABA, INA, oraz SA. Dotąd, w literaturze naukowej nie spotkano prac naukowych dotyczących prób wykorzystania dwufunkcyjnych soli jako induktorów SAR, tym bardziej przeciwko infekcjom wirusowym. Technologia ta daje możliwość trwałego łączenia dwóch, a nawet więcej różnych substancji chemicznych celem osiągnięcia poprawy ich właściwości fizykochemicznych i aktywności biologicznej. Tworzenie takich soli wymaga opracowania warunków modyfikowania wyjściowych substancji chemicznych do postaci kationów i anionów. Często modyfikacje te obniżają ich pożądane właściwości, albo uzyskana substancja nie spełnia oczekiwanych efektów końcowych. Jednakże wytworzenie dwufunkcyjnych soli daje szansę połączenia dwóch elicytorów indukujących SAR różnymi szlakami sygnalnymi dla uzyskania efektu synergistycznego indukowanej odporności.

W ekologii wirusów istotną rolę odgrywa rozprzestrzenianie ich przez owadzie wektory, co jest szczególnie uciążliwe w produkcji materiału nasiennego wolnego od wirusów. Jest to problem gospodarczo ważny i dotąd nie rozwiązany. Dlatego, w trakcie badań podejmujemy się syntezy dwufunkcyjnych soli, stanowiących połączenie induktora odporności z substancją czynną odpowiedniego insektycydu. Skutkować to będzie tym że insektycyd wyeliminuje mszyce, które jednak zanim padną zdążą jeszcze dokonać kilku nakłuć i wprowadzić wirusa do rośliny ale wtedy sprzężony induktor odporności powinien uniemożliwić lub ograniczyć jego rozwój w komórkach gospodarza.

Aktywność biologiczna nowych soli i modyfikowanych substancji będzie wstępnie oceniona na testach szklarniowych (testy przesiewowe) przy użyciu standaryzowanych modeli roślina-wirus np. tytoń (Nicotiana tabacum) odm. Xanthi nc i wirus mozaiki tytoniu (Tobacco mosaic virus, TMV), z wykorzystaniem zjawiska nadwrażliwości (lokalne, nekrotyczne plamki). Porównanie liczby nekrotycznych plam na liściach traktowanych elicytorem odporności i nie traktowanych (kontrola) pozwoli na precyzyjne wykazanie występowania indukowanej odporności oraz jej poziomu. Dodatkowo będzie oceniana fitotoksyczność substancji poprzez opryskiwanie siewek różnych gatunków roślin. Następnie, najbardziej obiecujące związki zostaną wybrane do szczegółowych testów biologicznych obejmujących: (i) bezpośredni wpływ soli na wirusy – rośliny tytoniu będą zakażane TMV inkubowanym w induktorach ; (ii) wpływ dwufunkcyjnych soli na indukcję odporności w różnych układach roślina-gospodarz,

przy różnych sposobach stosowania; (iii) wpływ na przenoszenie wirusów przez owady - na rośliny traktowane dwufunkcyjnymi elicytorami (induktor + insektycyd) będą nanoszone wektory skażone wirusami oraz (iv) na przenoszenie wirusów przez nasiona – rośliny pomidora zakażone wirusem czarnej pierścieniowej plamistości pomidora co dwa tygodnie, aż do zbioru nasion będą traktowane induktorem i potem będzie oceniany i porównywany zakres skażenia nasion wirusem pochodzących z roślin traktowanych i nie traktowanych induktorem odporności oraz (v) wpływ zróżnicowania genetycznego wirusa (różne biotypy) na efektywność SAR – rośliny pomidora będą traktowane elecitorami SAR i następnie zakażane różnymi biotypami tego same wirusa i po ok. 7 i 14 dniach po zakażeniu będzie określana akumulacja wirusów poszczególnych biotypów przy pomocy Real-time PCR.

Rośliny pod wpływem czynników biotycznych i abiotycznych uruchamiają aktywności wielu genów. W zależności od czynnika stresowego, a w tym przypadku typu induktora uruchamiane są szlaki sygnalne głównie powiązane funkcjonalnie z kwasem salicylowym (SA) ale także kwasem jasmonowym (JA) i etylenem (ET). które są markerami wskazującymi na aktywację poszczególnych szlaków sygnalnych. Aby wyjaśnić efekt biologiczny użycia nowych elicytorów, dla szeregu układów gospodarz-patogen wykonane zostaną eksperymenty z wykorzystaniem technik biologii molekularnej. Dla każdego z analizowanych układów roślina-wirus przeprowadzona będzie także analiza akumulacji patogenu w komórkach gospodarza po zastosowaniu różnych induktorów SAR, o różnych stężeniach i przy różnych sposobach stosowania (podawanie do korzenia, opryskiwanie itd.). Zostanie określony i porównany także poziom fitohormonu – kwasu salicylowego – w tkankach roślin, zarówno nie traktowanych (kontrola), jak i traktowanych induktorami odporności oraz wirusami roślinnymi.

Proponowane badania nad systemiczną odpornością nabytą (SAR) kontekście jej aktywności przeciwko infekcji wirusowej mogą dać podstawy i możliwości wykorzystania tego zjawiska jako ważnego elementu biologicznej ochrony roślin, konkurencyjnego względem środków ochrony roślin oraz roślin transgenicznych, wciąż nieakceptowanych przez większość konsumentów.