

Współczesne rolnictwo musi sprostać wielu wyzwaniom, którymi niewątpliwie są nastawienie na zwiększanie wydajności w połączeniu z ograniczeniem użycia konwencjonalnych środków ochrony roślin, takich jak środki chwasto- czy grzybobójcze. W tej sytuacji poszukuje się alternatywnych metod ochrony roślin wykazujących wysoką skuteczność w niskich dawkach. Jedną z takich grup są induktory odporności roślin, których działanie polega na stymulowaniu naturalnych mechanizmów immunologicznych rośliny (działając analogicznie do szczepionek dla ludzi bądź zwierząt), zapobiegając infekcjom wirusowym czy grzybiczym. Większość z induktorów ma strukturę kwasów karboksylowych lub ich pochodnych (np. estrów, tioestrów czy aminokwasów), które dopiero wewnątrz rośliny są metabolizowane na drodze hydrolizy do kwasu, indukując odporność.

Celem badań w ramach rozprawy doktorskiej jest zbadanie wpływu struktury, w szczególności zastosowanej pochodnej kwasu karboksylowego i jej podatności na hydrolizę, na skuteczność biologiczną induktorów odporności roślin. Hipoteza badawcza zakłada, że podwyższenie podatności na hydrolizę spowoduje wzrost skuteczności biologicznej induktorów odporności roślin. Potwierdzenie tej hipotezy umożliwi (i) świadome projektowanie nowych induktorów odporności roślin, (ii) zwiększenie skuteczności biologicznej nowych pochodnych i (iii) potwierdzenie mechanizmu indukcji odporności.

Metody badawcze

Badania zostaną zrealizowane w czterech etapach. Pierwszym z nich jest zaprojektowanie pochodnych induktorów odporności roślin, takich jak kwas salicylowy, nikotynowy czy tioester kwasu 7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolowego. Kierunek modyfikacji tych cząsteczek zostanie wyznaczony poprzez potencjał do hydrolizy przyłączonej grupy funkcyjnej. Im wyższy, tym bardziej prawdopodobna większa aktywność biologiczna. Są to tzw. grupy dobrze odchodzące, np. tosyłowa, mesyłowa, *tert*-butyłowa, fenyłowa, benzylowa, czy amidowa). W drugim etapie otrzymane związki zostaną przebadane pod kątem właściwości fizykochemicznych, takich jak stabilność termiczna czy temperatura topnienia oraz samego procesu hydrolizy. W trzecim etapie badań otrzymane związki zostaną zbadane pod względem ich aktywności biologicznej, czyli indukcji odporności w układzie Wirus Mozaiki Tytoniowej – Tytoń. Rośliny opryskiwane lub podlewane roztworem substancji aktywnej zostaną po 7 dniach zainfekowane wirusem (który będzie wtarty w liście). Po kolejnych 5 dniach zostanie oznaczona powierzchnia plam nekrotycznych na powierzchni rośliny i porównana do kontroli. Ich redukcja, (w stosunku do próby kontrolnej), będzie świadczyła o stopniu inhibicji choroby wirusowej, czyli indukcji odporności. W ramach stażu zagranicznego, założonego w ramach grantu ETIUDA, możliwe będzie poszerzenie badań biologicznych o układy: (i) papaja zarażona wirusem pierścieniowej plamistości papai (PRSV), (ii) kukurydza zarażona chorobą MLN (Maize Lethal Necrosis – występująca tylko w klimacie tropikalnym), czy (iii) cyfomandra grubolistna (tamarillo – *Solanum betaceanum*) zarażona kompleksem wirusowym składającym się m.in. z wirusów AMV, CMV, PLRV, PVY czy ToMV. Testy te zostaną wykonane w warunkach szklarniowych i polowych w naturalnym środowisku występowania tych roślin – czyli klimacie tropikalnym, charakteryzującym się zarówno dobrymi warunkami dla vegetacji roślin, jak również wysoką presją środowiskową. Ponadto, brak jest jednoznacznych doniesień literaturowych, dotyczących indukcji SAR dla wyżej wymienionych układów roślina-patogen. W ostatnim, czwartym etapie badań zostanie sprawdzona zależność pomiędzy otrzymanymi wynikami biologicznymi i podatnością związków na hydrolizę. Ostatecznie wybrana substancja, wykazująca wysoką aktywność biologiczną, zostanie zmodyfikowana tak, aby delikatnie zmienić podatność danej grupy funkcyjnej na hydrolizę, co wyeliminuje wpływ samej struktury tej grupy na aktywność biologiczną, a tylko jej właściwości jako grupy dobrze odchodzącej.

Uzasadnienie podjęcia problemu badawczego

Biorąc pod uwagę dane literaturowe oraz doświadczenie naszej grupy badawczej z prac nad pochodnymi BTH, okazuje się, że istnieje związek pomiędzy użytą pochodną kwasową, a jej skutecznością biologiczną. Realizacja niniejszych celów badawczych umożliwi odpowiedź na pytania (i) czy zastosowanie grupy dobrze odchodzącej (neutralnej biologicznie) spowoduje wzrost skuteczności biologicznej użytego induktora odporności oraz (ii) czy będzie to zależność liniowa. Otrzymane podczas doktoratu wyniki pozwolą na znalezienie zależności pomiędzy strukturą induktorów odporności roślin a ich skutecznością biologiczną. Zależność ta umożliwi w przyszłości projektowanie i celową syntezę tego typu związków o wysokiej skuteczności jak również da podstawy dla lepszego poznania mechanizmów indukcji odporności w roślinie. Ponadto, na drodze proponowanych badań zostanie otrzymanych i scharakteryzowanych pod kątem biologicznym, zarówno w warunkach szklarniowych, jak i polowych, na szerokim spektrum układów roślina-patogen pochodzących z różnych stref klimatycznych, ponad 20 nowych pochodnych obecnie znanych induktorów. Związki te, o przewidywanej wysokiej skuteczności, poszerzą gamę dostępnych substancji o zweryfikowanym działaniu biologicznym. Tak otrzymane substancje idealnie wpiszą się w nowoczesną konwencję ochrony roślin zakładającą użycie „inteligentnych” i wysoce wyspecjalizowanych substancji aktywnych, których z nadzieją wypatruje rolnictwo XXI wieku.