

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Wpływ satelitarnego RNA kukumowirusów na transmisję wirusa w obrębie rośliny i przenoszenie go przez owady

Satelitarne RNA (satRNA) stanowią małe cząsteczki RNA, które wymagają obecności wirusa pomocniczego do namnażania i transportu. Mogą one występować tylko u niektórych szczepów wirusów roślinnych, jak na przykład u wirusa karłowatości orzecha ziemnego (*peanut stunt virus*, PSV) oraz wirusa mozaiki ogórka (*cucumber mosaic virus*, CMV). Ponadto, podkreśla się podobieństwo w mechanizmie namnażania pomiędzy satRNA i wiroidami. Wiroidy także są małymi cząsteczkami RNA, jednak nie wymagają obecności wirusa pomocniczego do namnażania i transportu. W zależności od rodziny, mogą one lokalizować w jądrze lub chloroplastach. Natomiast uważa się, że satRNA występują w cytoplazmie. Jednakże ostatnie badania nad satRNA CMV wykazały możliwość jego lokalizacji w jądrze komórkowym. Nasze wcześniejsze wielkoskalowe badania białek oraz mRNA roślin *Nicotiana benthamiana* zakażonych PSV w obecności lub braku satRNA wykazały silny wpływ tej cząsteczki na chloroplasty, dlatego też naszym celem jest zbadanie lokalizacji satRNA PSV w roślinach *N. benthamiana*. W tym celu, wykorzystana zostanie metoda znakowania RNA umożliwiającą obserwację sygnału fluorescencji z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej.

Infekcja PSV oraz CMV prowadzi do zniekształcenia oraz przebarwienia liści, karłowacenia roślin, a także w niektórych przypadkach obumierania fragmentów tkanek. SatRNA mogą dodatkowo wpływać m. in. na objawy infekcji, zaostrzając je lub łagodząc. Mogą one oddziaływać na ilość wirusa w tkankach roślinnych i zmiany te wynikać mogą z reakcji obronnej roślin na poziomie małych cząsteczek RNA (*small RNA*, sRNA) określanej mianem wyciszania. sRNA w połączeniu z poszczególnymi białkami w komórkach gospodarza mogą wpływać na procesy namnażania materiału genetycznego wirusów, prowadząc do zmniejszenia jego ilości. Nasze ostatnie badania mRNA roślin *N. benthamiana* zakażonych PSV (z lub bez satRNA) wykazały silny wzrost poziomu genów kodujących białka uczestniczące we wspomnianym procesie, dlatego też chcielibyśmy zweryfikować, jaki wpływ satRNA ma na transport wirusa w obrębie rośliny oraz na zwiększenie aktywności wyciszania. Dlatego, z roślin zakażonych CMV i PSV (z lub bez satRNA) wyizolowane zostaną sRNA i przeanalizowane pod kątem ich uczestnictwa w procesie wyciszania, a także czy siła tego procesu ulega zmianie w obecności satRNA. Dodatkowo, zbadane zostaną ilości wirusów na poszczególnych poziomach roślin.

Wirusy nie tylko posiadły zdolność rozprzestrzeniania się w roślinie, ale także pomiędzy nimi. Wykorzystują one do tego owady i w związku z tym przenoszenie wirusów zależy od oddziaływania pomiędzy wirusem, owadem a rośliną żywicielską. Ponieważ satRNA wpływa na ilość wirusa w tkankach roślinnych, a także prowadzi do zmian w metabolizmie roślin to w efekcie ich obecność może skutkować zmianami w substancjach wydzielanych przez rośliny. Te z kolei, przyciągają lub odstraszą owady, co wpływa na ich preferencje żywieniowe. Dlatego też cząsteczka satRNA może regulować wydajność przenoszenia wirusów. W związku z powyższym planowane badania mają także na celu wykazanie wpływu satRNA na wydajność przenoszenia CMV i PSV przez mszyce oraz ich preferencji do żerowania na roślinach zarażonych samym wirusem lub wirusem i jego satRNA. Rośliny będą eksponowane na żerowanie mszyce uprzednio bytujących na roślinach zakażonych wspomnianymi wirusami w obecności lub braku satRNA. Zbadana zostanie obecność wirusa w owadach, a następnie określona zostanie szybkość powstawania objawów infekcji na roślinach poddanych żerowaniu. Ponadto mszyce zbadane zostaną pod kątem preferencji żywieniowych (intensywność żerowania) pomiędzy roślinami zakażonymi wirusem a wirusem z satRNA.

Tematyka wpływu satRNA na transport wirusów w roślinie oraz ich przenoszenie przez owady została podjęta, gdyż wiedza związana z biologią satRNA, a w szczególności obszarem, który chcemy zgłębić nadal jest niekompletna. Wyniki naszych wcześniejszych badań stanowią pewne przesłanki ku wspomnianym powyżej aspektom, dlatego też konieczne jest kontynuowanie badań w celu pełnego wyjaśnienia tych procesów. SatRNA ma bardzo silne oddziaływanie zarówno na wirusy jak i rośliny żywicielskie, ważne zatem jest wyjaśnienie, jakie są tego podstawy biologiczne.