

Wirusy roślinne są powszechnie występującymi patogenami porażającymi rośliny gospodarczo-ważne i ozdobne, a wywoływane przez nie choroby często skutkują obniżeniem ilości i jakości plonu. Dotychczas nie opracowano skutecznych środków chemicznych umożliwiających bezpośrednie zwalczanie wirusa w roślinie, dlatego strategie walki z tymi patogenami opierają się głównie na działaniach prewencyjnych np. stosowaniu materiału propagacyjnego wolnego od wirusa czy usuwaniu porażonych roślin ze środowiska. W ostatnich latach zauważono, że duży potencjał w ochronie roślin mogą mieć defektywne cząsteczki RNA (DI RNA) zasocjowane z niektórymi wirusami lub powstające *de novo* w czasie rozwoju infekcji. Cząsteczki te pochodzą z genomu wirusa pomocniczego, któremu towarzyszą, a ich powstawanie prawdopodobnie zachodzi na drodze rekombinacji w wyniku tzw. „poślizgu polimerazy”. Cząsteczki te mogą obniżać akumulację wirusa w roślinach, co skutkuje osłabieniem obserwowanych symptomów chorobowych (tzw. defektywne interferujące RNA, DI RNA). Ze względu na tę unikalną cechę, DI RNA mogłyby być wykorzystywane jako innowacyjne narzędzia do ochrony roślin przed wirusami. Niezwykle ważne jest więc uzyskanie wiedzy dotyczącej mechanizmów powstawania DI RNA oraz ich wpływu na namnażanie się wirusa w roślinach. Celem niniejszego projektu jest określenie roli specyficznych miejsc w genomie wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (ang. *Tomato black ring virus*, TBRV) w tworzeniu DI RNA oraz wpływu zmiany gospodarza na ich powstawanie.

Badania prowadzone do tej pory w Zakładzie Wirusologii i Bakteriologii Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego wykazały, że niektóre z izolatów TBRV zdolne są do tworzenia DI RNA *de novo* na drodze wielokrotnego pasażowania wirusa w tym samym gospodarzu. Cząsteczki te wpływają na symptomy chorobowe na roślinach i hamują namnażanie wirusa w roślinie. Wyróżniono dwa typy cząsteczek towarzyszących izolatom TBRV, a porównanie sekwencji nukleotydów DI RNA z sekwencją nukleotydów wirusa umożliwiło wyznaczenie motywów/regionów, które mogą być potencjalnie zaangażowane w proces tworzenia DI RNA.

W ramach projektu zaplanowano badania z wykorzystaniem technik biologii molekularnej, które pozwolą na wprowadzenie określonych mutacji do genomu wirusa, modyfikujących rejony/motywy, które są potencjalnie zaangażowane w proces tworzenia DI RNA. Analizowany będzie wpływ tych zmian na proces powstawania DI RNA, ich struktury oraz sekwencje. Ponadto sprawdzony zostanie wpływ zmiany gospodarza (tzw. host-jumping) na tworzenie DI RNA. Do tej pory badania były prowadzone tylko w kontekście wielokrotnego pasażowania wirusa w jednym, określonym gospodarzu np. tytoniu. Powstaje jednak pytanie czy wielokrotna zmiana gospodarzy w trakcie pasażowania będzie sprzyjała indukcji DI RNA czy wprost przeciwnie? Badania te będą prowadzone pod kątem analizy powstawania DI RNA, jak i wpływu tych cząsteczek na akumulację wirusa.

Zadania zaplanowane w projekcie pozwolą poszerzyć wiedzę na powstawania DI RNA zarówno w aspekcie wpływu określonych sekwencji w genomie wirusa macierzystego, jak i roli gospodarza w tym procesie. Otrzymane wyniki zostaną opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych i będą punktem wyjścia do dalszych badań nad rolą DI RNA i ich potencjalnemu zastosowaniu w ochronie roślin przed wirusami.