

## „Wpływ induktorów odporności na proces potranskrypcyjnego wyciszania genów (PTGS) u roślin oraz jego supresji podczas infekcji wirusowej”

Rośliny w toku ewolucji wykształciły szereg mechanizmów odpornościowych, m.in. fizycznych (jak ściana komórkowa) oraz chemicznych, umożliwiających im walkę z atakującymi je patogenami (grzybami, bakteriami, czy wirusami). Mimo, że nie posiadają one układu odpornościowego jaki występuje w świecie zwierząt, to nie pozostają one jednak bierne w obliczu patogenez. Wirus, wnikając do komórki roślinnej, uwalnia swój materiał genetyczny, co stanowi sygnał dla rośliny, aby zacząć się bronić. Roślina rozpoczyna syntezę czynników obronnych, takich jak kwas salicylowy czy białka związane z patogenezą (PR), które mają na celu osłabienie wirusa i zapobieganie dalszemu rozprzestrzenianiu się infekcji. Dodatkowo, roślina aktywuje proces wyciszania genów, tzw. potranskrypcyjne wyciszanie genów (*Post-Transcriptional Gene Silencing*, PTGS), w którym dochodzi do degradacji obcego materiału genetycznego, w tym również materiału genetycznego wirusa.

PTGS polega na wytworzeniu krótkich (ok 21-24 nukleotydowych) małych RNA (sRNA) przy udziale enzymów z grupy RNaz (RNazy III) (zwanymi białkami DCL (Dicer-like proteins)). Następnie sRNA zostają metylowane i transportowane z jądra do cytoplazmy, gdzie łączą się w kompleksy z białkami Argonaute (AGO) tworzącymi kompleks wyciszeniowy RISC (*RNA-induced silencing complex*). Kompleks ten rozpoznaje homologiczne fragmenty wirusowego materiału genetycznego i łącząc się z nimi na zasadzie komplementarności powoduje zahamowanie ich dalszej syntezy. Sygnał wyciszeniowy przesyłany jest od miejsca infekcji do dalszych tkanek roślin, przygotowując organizm do powstrzymania rozprzestrzenienia się patogenu wirusowego.

Wirusy jednak wykształciły swoje własne mechanizmy, zabezpieczające je przed tym procesem. Syntetyzują specjalne czynniki, zwane supresorami wyciszania, które blokują PTGS na różnych etapach. Jednymi z najbardziej znanych supresorów są białka 2b wirusa mozaiki ogórka (CMV) i HC-Pro wirusa ziemniaka Y (PVY).

Aby wspomóc rośliny w walce ze szkodnikami oraz patogenami stosuje się różnego rodzaju komercyjnie dostępne pestycydy. Nie zawsze jest to sposób w 100% skuteczny, a częste ich stosowanie wywiera znaczącą presję ewolucyjną na patogenach i szkodnikach, co może spowodować powstanie form silnie odpornych. Coraz częściej więc mówi się o stosowaniu integrowanej ochrony roślin i zielonej chemii (naturalnych substancjach, które roślina syntetyzuje, jednak w niewystarczającej ilości lub syntetycznie stworzonych związków, będących zwykle analogami lub polimerami tych pierwszych). Do grupy takich związków należą induktory odporności (IR), takie jak benzothiadiazole (BTH, analog kwasu salicylowego) czy chitozan (CHT, polimer  $\beta$ -1,4-glukozy). Potraktowanie nimi rośliny prowadzi do aktywacji odporności typu SAR (*Systemic Acquired Resistance*), poprzez syntezę wielu genów obronnych czy fitohormonów (hormonów roślinnych), zanim jeszcze w otoczeniu pojawi się patogen.

Nasze wcześniejsze badania wykazały pozytywny wpływ stosowania IR na odpowiedź rośliny na późniejszą infekcję wirusową. Stwierdzono zmniejszony poziom akumulacji wirusowego RNA w roślinach tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum*) traktowanych BTH. W badaniach transkryptomicznych związanych z jedną z ważniejszych roślin uprawnych jaką jest pomidor (*Solanum lycopersicum*), zauważono wpływ zastosowania BTH na wzrost ekspresji genów związanych z procesem PTGS, mianowicie kodujących wspomniane wcześniej białka DCL, a także znaczący wzrost poziomu kwasu abscysynowego (ABA), którego pośredni wpływ na proces wyciszania genów także został opisany. Te wyniki zwróciły naszą szczególną uwagę i spowodowały chęć przyjrzenia się bliżej fenomenowi wpływu stosowania IR na proces potranskrypcyjnego wyciszania u roślin.

W naszych badaniach będziemy chcieli sprawdzić wpływ użycia dwóch typów IR: BTH oraz CHT na rośliny tytoniu (*Nicotiana benthamiana*), wykorzystując rośliny dzikie i wcześniej przygotowane mutanty pozbawione syntezy wybranych genów *DCL*, u których PTGS jest znacząco osłabiony. Dodatkowo użyte zostaną dwa wirusy (CMV oraz PVY), syntetyzujące znane i silne supresory. Spodziewamy się, że w wyniku naszych eksperymentów, użyte związki nie tylko wzmocnią efektywność procesu PTGS, ale i osłabią działanie wirusowych supresorów tego procesu. Podejrzewa się, że IR aktywują również inne szlaki, związane z tym procesem. Uzyskane wyniki rzucają nowe światło na wciąż jeszcze słabo poznaną tematykę interakcji wirus-roślina i wzbogacają stan wiedzy w takich dziedzinach jak: fitopatologia i ochrona roślin czy wirusologia.

Lepsze zrozumienie mechanizmów działania IR może przyczynić się do ich włączenia do ochrony roślin w przyszłości i pomóc w ograniczeniu stosowania agresywnej chemii, poprawie odporności roślin i zmniejszeniu strat w uprawach spowodowanych przez patogeny wirusowe.