

Cel projektu obejmuje określenie roli związków chemicznych, m.in. tlenku azotu (NO), siarkowodoru (H₂S) oraz lotnych związków siarki, we wzmacnianiu naturalnej ochrony roślin pomidora przed chorobą szarej pleśni, na drodze proekologicznej kontroli biologicznej.

Głównym powodem podjęcia niniejszych badań, jest fakt, że, szara pleśń należy do najczęściej występujących chorób grzybowych warzyw, roślin owocowych i ozdobnych. Grzyb *Botrytis cinerea*, wywołujący szarą pleśń, jest jednym z patogenów, powodujących znaczne straty w uprawach roślin, ich transporcie i przechowywaniu. Pomidor jest wymieniany wśród warzyw najczęściej porażanych przez *B. cinerea*. Poza kilkoma transgenicznymi odmianami pomidora, nie są dostępne żadne, komercyjnie akceptowalne odmiany odporne na *B. cinerea*, a stosowanie chemicznych środków ochrony roślin w postaci fungicydów, które według najnowszych obostrzeń unijnych powinno być ograniczane do minimum, nie jest wystarczająco skuteczne w ochronie pomidora przed tym patogenem. W czasach intensywnego rozwoju rolnictwa ekologicznego oraz integrowanej produkcji roślin, zwalczanie szarej pleśni stanowi nie lada wyzwanie. W związku z powyższym, jeszcze bardziej niż w ostatnim dziesięcioleciu, środowisko naukowe i gospodarcze podkreślają potrzebę poszukiwania nowych, alternatywnych metod ochrony roślin, m.in. na drodze biokontroli patogenów. Biokontrola, obejmująca zwalczanie patogenów naturalnymi preparatami mikrobiologicznymi, jest zjawiskiem złożonym, nad którym pochylają się naukowcy na całym świecie. Grzyby *Trichoderma* są jedną z grup mikroorganizmów, intensywnie badanych jako czynniki biokontroli. Wyniki badań przeprowadzonych na polskim szczepie *T. virens* TRS106 wykazały, że ogranicza on rozwój choroby wywoływanej przez *B. cinerea*, częściowo poprzez bezpośrednie hamowanie patogena, a przede wszystkim, poprzez wzmacnianie mechanizmów obronnych w roślinach pomidora. Mechanizmy te były silnie powiązane z akumulacją NO i prawdopodobnie wzmocnioną emisją metabolitów wtórnych, zawierających siarkę. W związku z faktem, że rola NO w odpowiedziach obronnych roślin na *B. cinerea* jest poznana w nieznacznym stopniu, a rola H₂S oraz lotnych związków siarki, nie były do tej pory brane pod uwagę w reakcjach obronnych wzmacnianych przez *Trichoderma* oraz TISR (ang. *systemiczna odporność indukowana przez Trichoderma*), niniejszy projekt podejmuje badania w tym obszarze.

Opis badań Badania zostaną przeprowadzone na dwóch odmianach pomidora tj. *S. lycopersicum* L. „Perkoz”, mniej podatnej, oraz *S. lycopersicum* L. „Remiz”, bardziej podatnej na porażenie przez *B. cinerea*. Rośliny będą uprawiane w warunkach kontrolowanych, ustalonych w badaniach wstępnych. Zawiesina zarodników *T. virens* TRS106 będzie aplikowana doglebowo, natomiast zawiesina *B. cinerea* dolistnie. Badane grupy roślin obejmą (I) rośliny uprawiane w glebie bez zarodników *T. virens* TRS 106 (Kontrola), (II) rośliny uprawiane w glebie z zarodnikami *T. virens* TRS 106 (TRS 106), (III) rośliny uprawiane w glebie bez zarodników *T. virens* TRS 106, zakażane *B. cinerea* (Bc) oraz (IV) rośliny uprawiane w glebie z zarodnikami *T. virens* TRS 106, zakażane *B. cinerea* (TRS 106+Bc). Rośliny będą badane w czterech punktach czasowych: 0, 24, 48 i 72 h po zakażeniu *B. cinerea*, w celu określenia czasu, w którym następuje najsilniejsze oddziaływanie hamujące rozwój szarej pleśni. Następnie, rośliny zostaną poddane serii analiz biochemicznych i molekularnych, wykorzystujących nowoczesną aparaturę pomiarową, m.in. nieinwazyjny system do obrazowania fluorescencji barwników fotosyntetycznych, FluorCam. Badane parametry obejmą, m.in. (i) oznaczenie dynamiki akumulacji NO i H₂S w jądrach komórkowych i chloroplastach oraz apoplasmie, równoległe z analizą zmian w ich ultrastrukturze i zmian warunków jakie w nich występują, (ii) analizę ekspresji genów związanych z odpowiedziami obronnymi (białka PR) oraz syntezą NO i H₂S w liściach pomidora, a także (iii) detekcję lotnych związków siarki, jako cząsteczek sygnałowych reakcji obronnych roślin przeciwko *B. cinerea*.

Głównym spodziewanym efektem projektu będzie poznanie i opisanie nowych potencjalnych szlaków sygnalizacyjnych, które angażują NO, H₂S oraz lotne związki siarki, we wzmacnianie naturalnych mechanizmów obronnych roślin pomidora na patogen *B. cinerea*. W kontekście międzynarodowych i multidyscyplinarnych badań naukowych, wyniki projektu będą kolejnym ważnym krokiem w wyjaśnieniu mechanizmów biokontroli patogenów grzybowych, na drodze naturalnej, pośredniej ochrony roślin. Wyniki projektu mogą mieć znaczenie dla rozwoju różnych dziedzin nauki, od fizjologii i biochemii roślin, poprzez mikrobiologię, aż po agronomię. Poznanie molekularnych mechanizmów działania NO, H₂S i lotnych związków siarki w reakcjach obronnych roślin może stworzyć nowe możliwości ich zastosowania praktycznego. W dalszej perspektywie, uzyskane wyniki badań mogą przyczynić się do wprowadzenia alternatywnej, ekologicznej metody ochrony roślin przed szarą pleśnią, pozwalającej na ochronę odmian pomidora o szczególnych walorach spożywczych i smakowych, których wycofanie z rynku spożywczego jest związane, m.in. z ich większą wrażliwością na atak patogenów grzybowych. Uzyskane wyniki, pośrednio, będą mogły wskazać kierunek badań, prowadzonych na owocach pomidora i innych roślin, w celu znalezienia ekologicznych metod ich ochrony przed *B. cinerea*, w czasie transportu oraz przechowywania.