Cel prowadzonych badań

Wirusy powodują znaczne straty w uprawach roślin gospodarczo-ważnych co stanowi poważne zagrożenie dla światowego bezpieczeństwa żywności. Wirusy są patogenami wewnątrzkomórkowymi i brak jest środków chemicznych umożliwiających ich bezpośrednie zwalczanie stąd też wiedza dotycząca molekularnych podstaw infekcji i mechanizmów warunkujących odporność roślin odgrywa kluczową rolę w projektowaniu strategii zwalczania chorób wirusowych. W niniejszym projekcie przenalizujemy szereg czynników związanych z dynamiką zmienności wirusów, ich oddziaływaniami z gospodarzem i trwaniem w środowisku. Do badań zostanie wykorzystany przedstawiciel tobamowirusów - wirus zielonej mozaiki ogórka (**cucumber green mottle mosaic virus,** CGMMV) stanowiący obecnie największe zagrożenie dla upraw roślin dyniowatych. Rośliny dyniowate (*Cucurbitaceae*) należą do głównych warzyw uprawianych na całym świecie, a ich globalna produkcja szacowana jest na ok. 151 milionów ton. Zwalczanie CGMMV jest bardzo trudne ponieważ wirus bardzo łatwo przenosi się przez kontakt roślina-roślina, z nasionami, zakażonymi sadzonkami i co istotne jego cząsteczki mogą przetrwać w wodzie i glebie. W ostatnim czasie obserwowano nasilone występowanie patogenu w Polsce w uprawie ogórka, przekładające się na straty w jakości i ilości plonów. Celem niniejszego projektu jest więc przeprowadzenie kompleksowych badań w celu analizy: (i) występowania CGMMV w uprawach ogórków oraz wodzie do nawadniania, która może być źródłem infekcyjnego wirusa w szklarniach ii) zróżnicowania genetycznego izolatów CGMMV, struktury jego populacji i dynamiki ewolucyjnej iii) wpływu pojedynczych mutacji na symptomy obserwowane na roślinach i akumulację wirusa iv) transkryptomu roślin ogórka porażonych przez CGMMV i ustalenie molekularnych szlaków zaangażowanych w odpowiedź roślin na infekcję. Tego typu badania nie były do tej pory prowadzone w Polsce.

Zastosowana metodyka badawcza

Zaplanowane w projekcie badania będą prowadzone z wykorzystaniem najnowocześniejszych technik biologii molekularnej, w tym sekwencjonowania wysokoprzepustowego (ang. *high-throughput sequencing*, HTS). Przeprowadzony zostanie monitoring upraw ogórka w komercyjnych szklarniach w latach 2025-2027. W ramach projektu będziemy analizować obecność CGMMV w uprawach, ale też wodzie stosowanej do nawadniania wykorzystując zagęszczanie próbek, HTS oraz biologiczne testy infekcyjności. Pobrane próbki zostaną przeanalizowane na obecność CGMMV, a szczegółowa analiza struktury populacji CGMMV zostanie przeprowadzona z wykorzystaniem izolatów zebranych przez nasz zespół badawczy w poprzednich latach, sekwencji uzyskanych w ramach projektu oraz dostępnych w Banku Genów. Analizy dotyczące struktury populacji wirusa i jego ewolucji zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem nowoczesnych programów bioinformatycznych pozwalających na analizę pokrewieństwa genetycznego między izolatami wirusa, zjawiska rekombinacji w populacji wirusa, korelacji między stopniem zróżnicowania genetycznego a pochodzeniem geograficznym izolatu i gospodarzem. Dane te poszerzą naszą wiedzę na temat dynamiki zmienności i epidemiologii CGMMV zwłaszcza w kontekście rosnącego obrotu materiałem roślinnym na świecie.

Uzyskane zostaną pełne sekwencje genomów wybranych izolatów wirusa (łagodne i ostre) i porównane z innymi opisanymi do tej pory. Sekwencje będą analizowane pod kątem zmiennych i zachowawczych regionów w genomie, jak i mutacji punktowych, które mogą wpływać na symptomy obserwowane na roślinach. W ramach projektu zostaną również skonstruowane infekcyjne kopie wirusa co pozwoli na analizę wpływu pojedynczych mutacji zidentyfikowanych w ramach projektu, jak i z danych literaturowych na powstawanie symptomów i akumulację wirusa w roślinach.

Proponujemy również wykorzystanie techniki HTS do wygenerowania danych, które umożliwią określenie molekularnych sieci oddziaływań jakie zachodzą podczas porażenia roślin ogórka przez różne izolaty CGMMV, i analizę jak zmienia się ekspresja poszczególnych genów, i czynników transkrypcyjnych w odpowiedzi na infekcję. Pozwoli to na zilustrowanie oddziaływań zachodzących pomiędzy wirusem a gospodarzem oraz w jaki sposób wirus wykorzystuje i manipuluje zasobami gospodarza na własną korzyść.

Wpływ spodziewanych rezultatów na rozwój nauki

Realizacja tego projektu będzie ważnym krokiem w poszerzaniu wiedzy na temat epidemiologii, zróżnicowania populacji CGMMV i interakcji żywiciel-patogen w celu identyfikacji genów ważnych z punktu widzenia hodowli odmian odpornych. Projekt będzie prowadzony we współpracy z badaczami z Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC, Hiszpania), the Netherlands Institute of Ecology (Holandia) oraz National Institute of Biology (NIB, Słowenia) którzy mają bardzo duże doświadczenie w zakresie epidemiologii i ewolucji wirusów. Otrzymane wyniki zostaną opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych oraz będą prezentowane na sympozjach i konferencjach. Wyniki dotyczące dystrybucji wirusa zostaną zamieszczone na Platformie Sygnalizacji Agrofagów (https://www.agrofagi.com.pl/) umożliwiającej monitorowanie występowania zagrożeń ze strony patogenów roślinnych w Polsce. Niezwykle istotnym elementem kształtującym jakość nauki w Polsce jest wspieranie i kształcenie młodej kadry naukowej stąd też w projekcie przewidziano zatrudnienia doktoranta.