

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙΝΟΤΟΜΩΝ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΦΥΤΩΝ ΜΕΣΩ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΣΙΓΗΣΗΣ

Επαμεινώνδας Παπλωματάς, Ομότιμος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

E-mail: epaplom@aua.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η έλλειψη θεραπευτικών μέτρων στη γεωργική πράξη για την αντιμετώπιση παθογόνων που προσβάλλουν το αγγειακό σύστημα των φυτών καθιστά αναγκαία τη διερεύνηση εναλλακτικών και καινοτόμων προσεγγίσεων φυτοπροστασίας. Η ταχεία πρόοδος της βιοτεχνολογίας προσφέρει νέες δυνατότητες μέσω της αξιοποίησης μηχανισμών γονιδιακής σίγησης.

Προς αυτή την κατεύθυνση, διερευνήσαμε την εφαρμογή της τεχνολογίας της RNA παρεμβολής (RNA interference - RNAi) έναντι του καταστρεπτικού εδαφογενούς μύκητα *Verticillium dahliae*, ενός ευρέως φάσματος παθογόνου που προκαλεί αδρομυκώσεις σε περισσότερα από 400 φυτικά είδη και είναι το σοβαρότερο πρόβλημα στην καλλιέργεια της ελιάς και του βάμβακος παγκοσμίως. Η RNA παρεμβολή είναι λειτουργία του κυττάρου που οδηγεί σε σίγηση γονιδίων. Η γονιδιακή σίγηση αποτελεί έναν ενδογενή μηχανισμό των φυτών διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση βιολογικών διαδικασιών (έλεγχος γονιδιακής έκφρασης, ενεργοποίηση αμυντικών μηχανισμών εναντίον ιώσεων). Αξιοποιώντας την RNAi τεχνολογία επιχειρήσαμε να αναπτύξουμε ένα καινοτόμο εργαλείο για τη διαχείριση αυτών των φυτοπαθογόνων. Μέσω βιοπληροφορικής ανάλυσης, επιλέχθηκαν ως γονίδια-στόχοι του *V. dahliae* τα *VdSNF1*, *VdNLP1* και *VdAK* (διάσπαση κυτταρικού τοιχώματος, νέκρωση/παραγωγή αιθυλενίου και μεταγωγή σήματος, αντίστοιχα).

Καθώς το παθογόνο αναπτύσσεται εντός των αγγείων του ξύλου, η μεταφορά του δίκλωνου RNA (dsRNA) των γονιδίων-στόχων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση τροποποιημένου φορέα του ιού TRV μέσω αagroδιήθησης, ενώ για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου ακολούθησαν δοκιμές σε φυτά βάμβακος και τομάτας, ιδιαίτερα ευπαθών στο παθογόνο ξενιστών.

Οι τεχνητές μολύνσεις στο βαμβάκι έγιναν και με τους δύο παθότυπους του μύκητα (αποφυλλωτικό και μη) ενώ στην τομάτα με τις φυλές 1 και 2 του παθογόνου. Στο βαμβάκι, η σίγηση του *VdSNF1* προκάλεσε σημαντική μείωση της ασθένειας από το μη-αποφυλλωτικό στέλεχος, περιορισμό του μεταχρωματισμού των αγγείων και σοβαρή μείωση της βιομάζας του παθογόνου. Για το πλέον μολυσματικό αποφυλλωτικό στέλεχος, αποτελεσματικότερη ήταν η ταυτόχρονη σίγηση των γονιδίων *VdNLP1* και *VdSNF1*. Στην τομάτα, η σίγηση των *VdSNF1* ή *VdNLP1* μείωσε την ασθένεια στη φυλή 1, ενώ στην περισσότερο επιθετική φυλή 2 είχε περιορισμένη αποτελεσματικότητα, πιθανώς λόγω διαφορετικού μηχανισμού παθογένειας μεταξύ των φυλών. Πέραν των ανωτέρω δοκιμών, αξιολογήθηκε και η αποτελεσματικότητα ψεκασμού dsRNA απευθείας στο φυτό, ως μέθοδος αντιμετώπισης παθογόνων φυλλώματος με πολύ καλά αποτελέσματα.

Τα παραπάνω ευρήματα αναδεικνύουν τη δυναμική της τεχνολογίας RNAi ως μιας πολλά υποσχόμενης, περιβαλλοντικά και κοινωνικά αποδεκτής μεθόδου φυτοπροστασίας. Η προσέγγιση αυτή δεν δημιουργεί Γενετικά Τροποποιημένους Οργανισμούς (GMOs), καθώς αδρανοποιεί στοχευμένα γονίδια χωρίς να μεταβάλλει τη γενετική τους αλληλουχία. Παράλληλα, η τεχνική της εξωγενούς εφαρμογής dsRNA με ψεκασμό προσφέρει προοπτικές αξιοποίησης και σε παθογόνα του φυλλώματος. Επόμενο άμεσο στόχος μας αποτελεί η αξιοποίηση της πλέον πρόσφατης τεχνολογίας CRISPR/Cas9 για την αντιμετώπιση παθογόνων των φυτών.