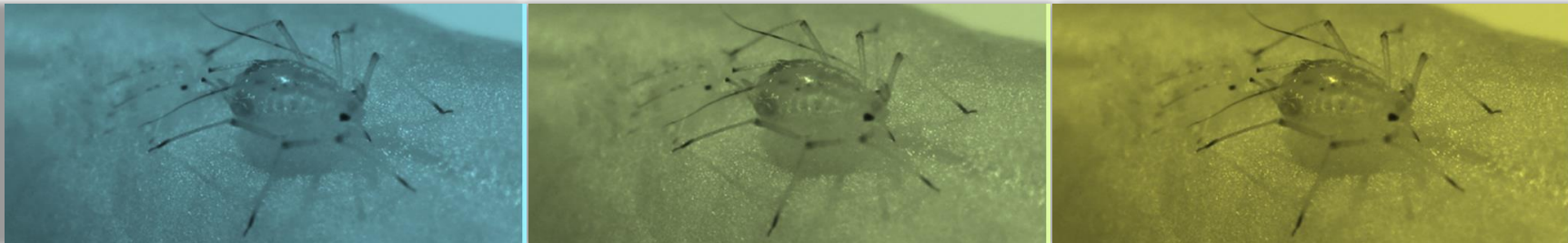


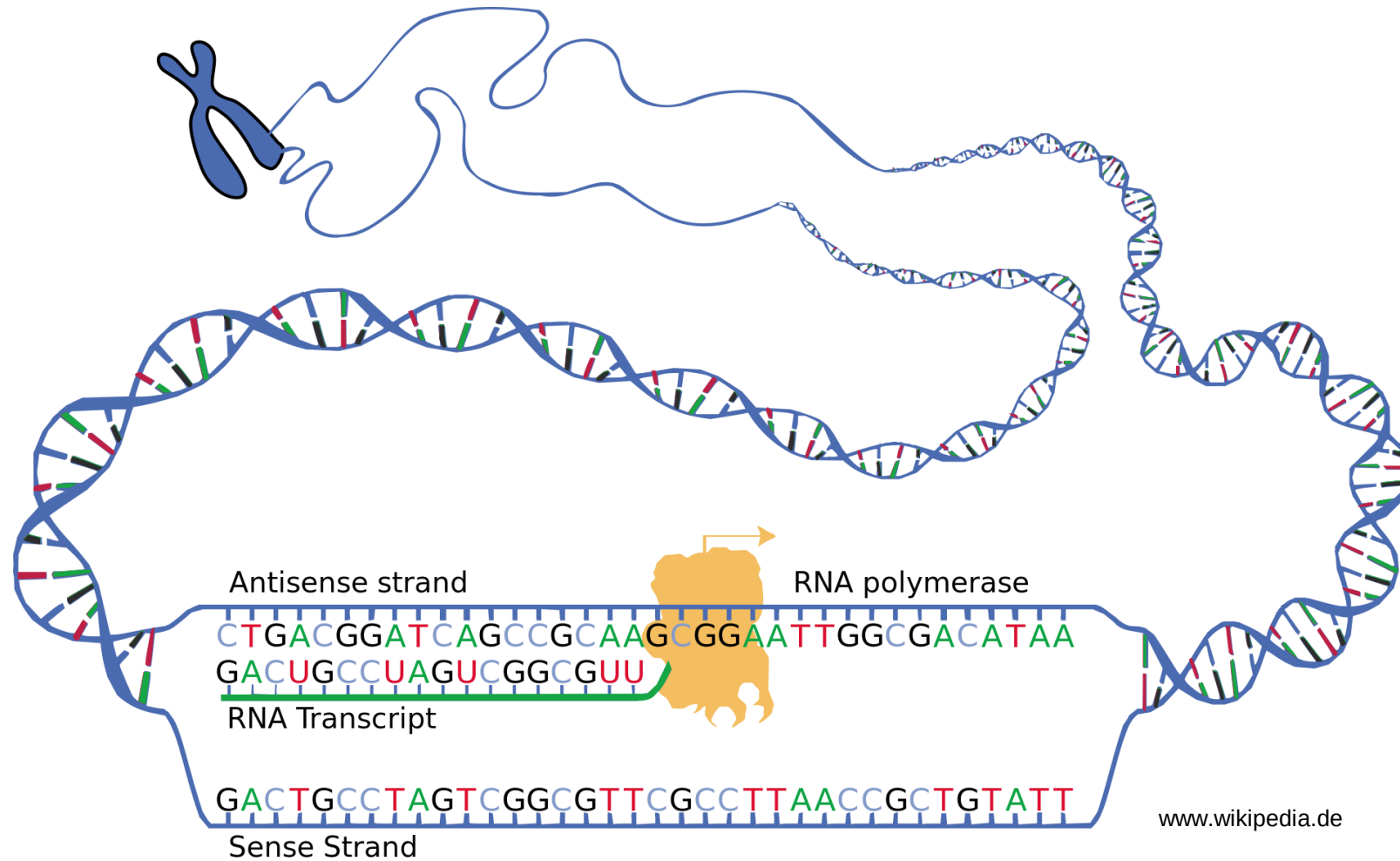
dsRNA im Integrierten Pflanzenschutz

WOR Dr. Torsten Will

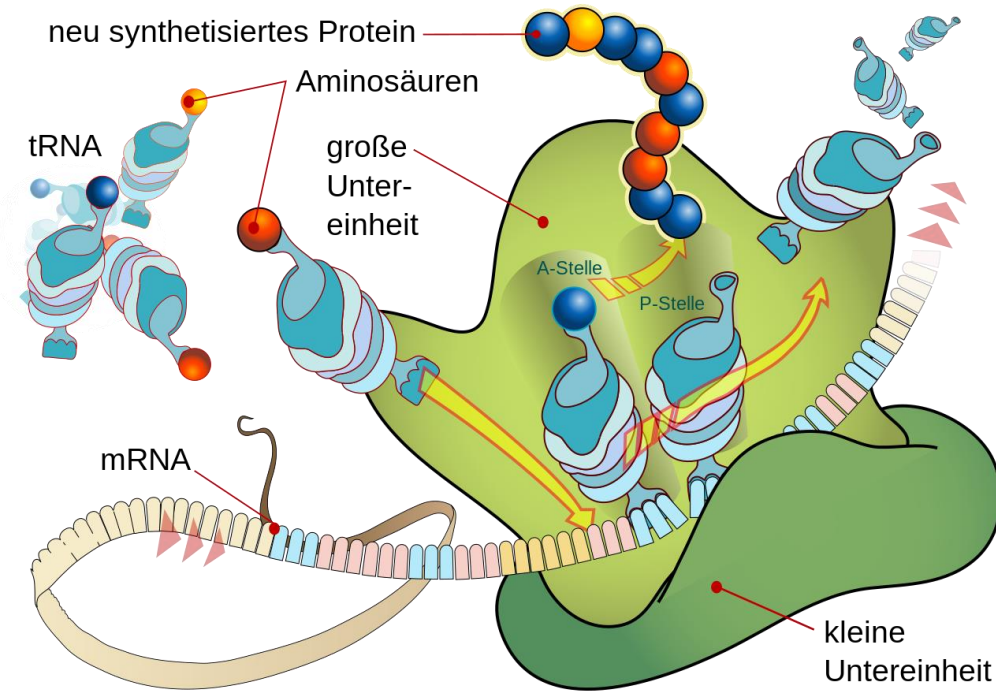
Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz



- Transkription und Translation



- Transkription und Translation



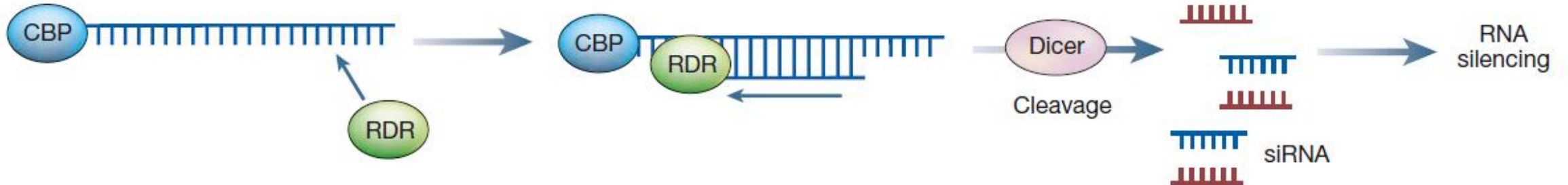
www.wikipedia.de

- RNA Interferenz

a Normal RNA, no silencing



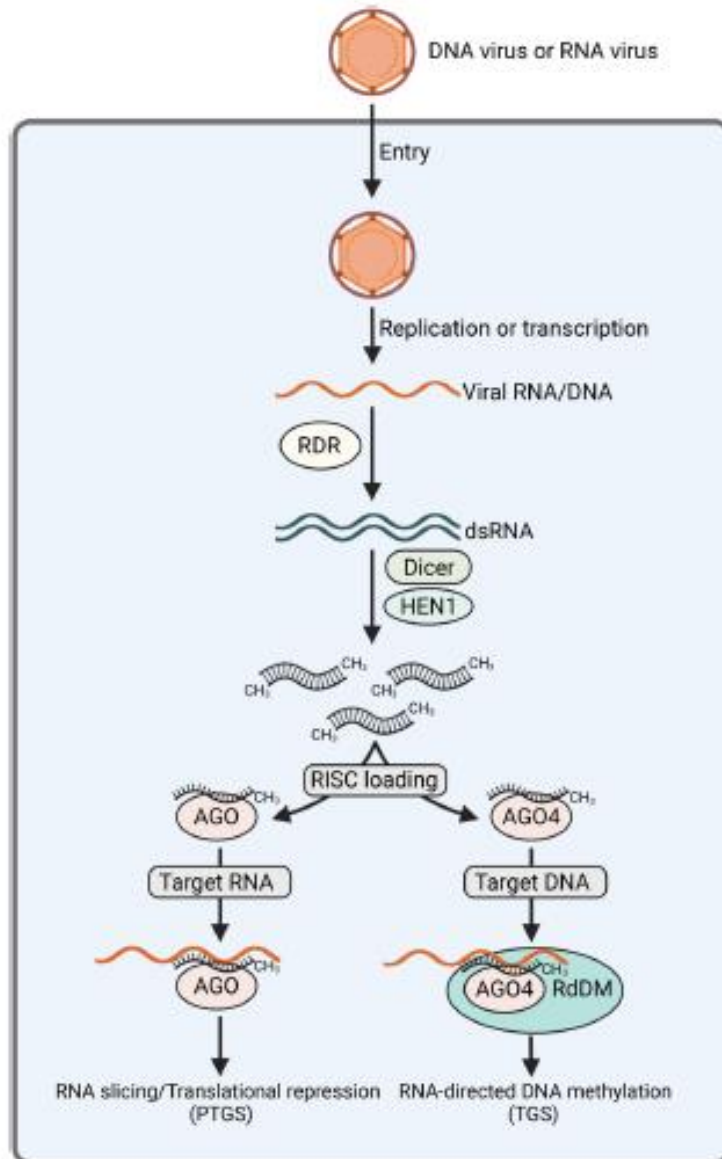
b Aberrant RNA, de novo silencing



siRNAs weisen eine Länge von 21-23 Nukleotiden auf. miRNA hat hingegen eine Länge von 18-25 Nukleotiden. (Je nach Quelle variieren die Angaben)

Baulcombe (2002) Nature 431

- RNA Interferenz – Ein natürlicher Mechanismus der Virusabwehr



Schematische Darstellung des pflanzlichen RNAi-Wegs, der durch eine Virusinfektion aktiviert wird. Bei der Replikation von RNA-Viren entstehen dsRNA-Zwischenprodukte. Sie dienen als Auslöser für das **posttranskriptionale** Gen-Silencing (PTGS). Die Infektion mit DNA-Viren induziert auch die RNA-gesteuerte DNA-Methylierung (RdDM), die an der Modifizierung von DNA und/oder Histonen beteiligt ist, was zu **transkriptionellem** Gen-Silencing (TGS) führt

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH
VOL. 37 WASHINGTON, D. C., AUGUST 1, 1928 No. 3
HOSTS AND SYMPTOMS OF RING SPOT, A VIRUS DISEASE
OF PLANTS¹
By S. A. WINGARD²
Associate Plant Pathologist, Virginia Agricultural Experiment Station
INTRODUCTION

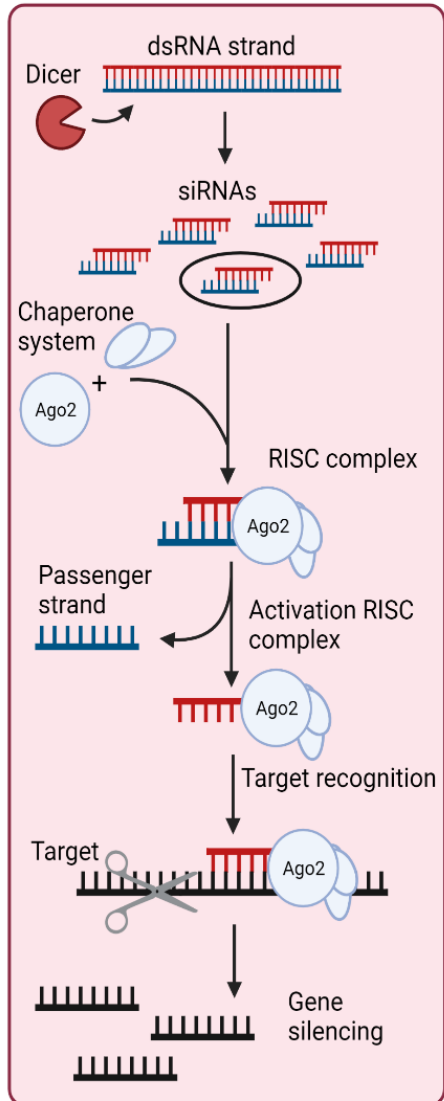


Baulcombe (2002) Nature 431

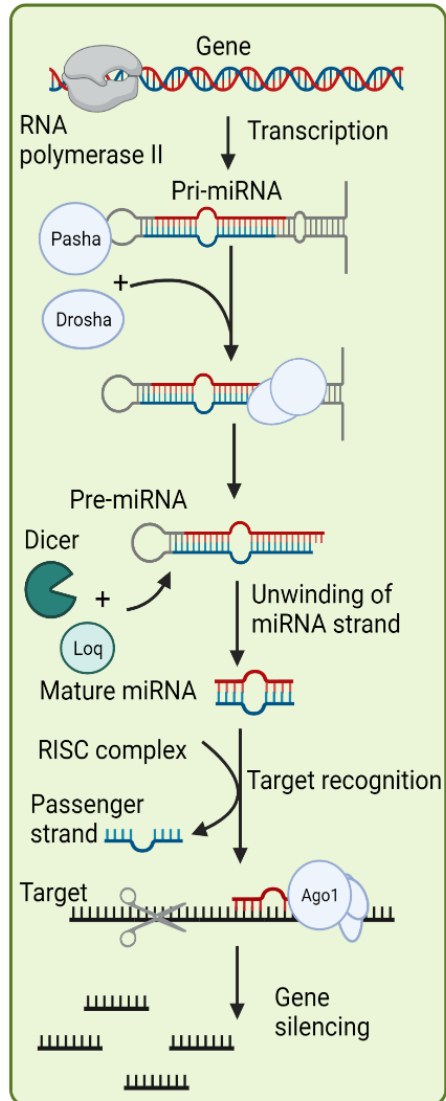
Erholung von Tabakpflanzen, die mit dem Tabak-Ringspot-Virus infiziert sind.

- RNA Interferenz

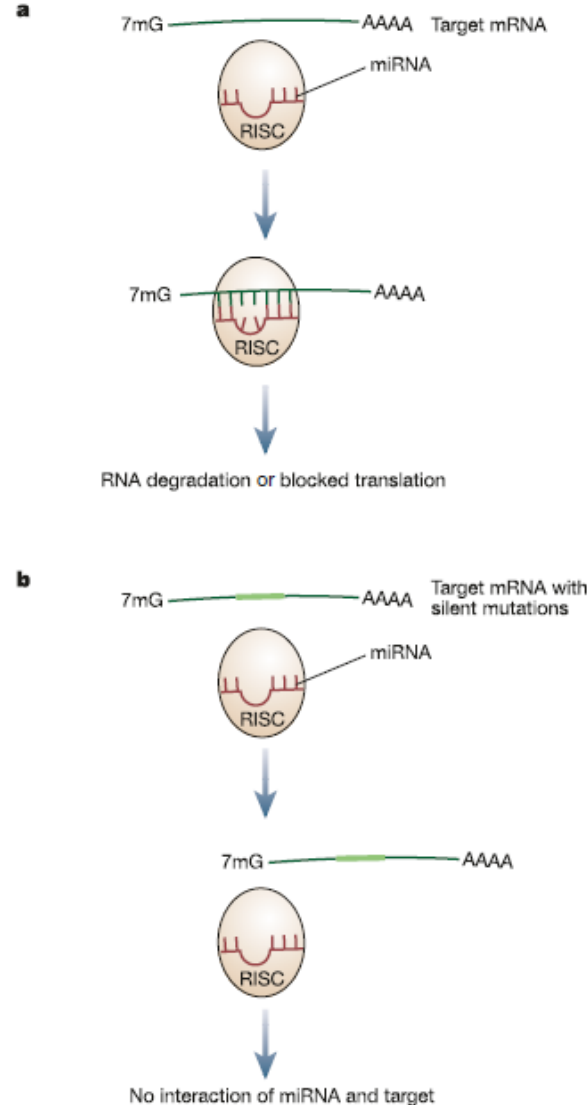
siRNA pathway (a)



miRNA pathway (b)



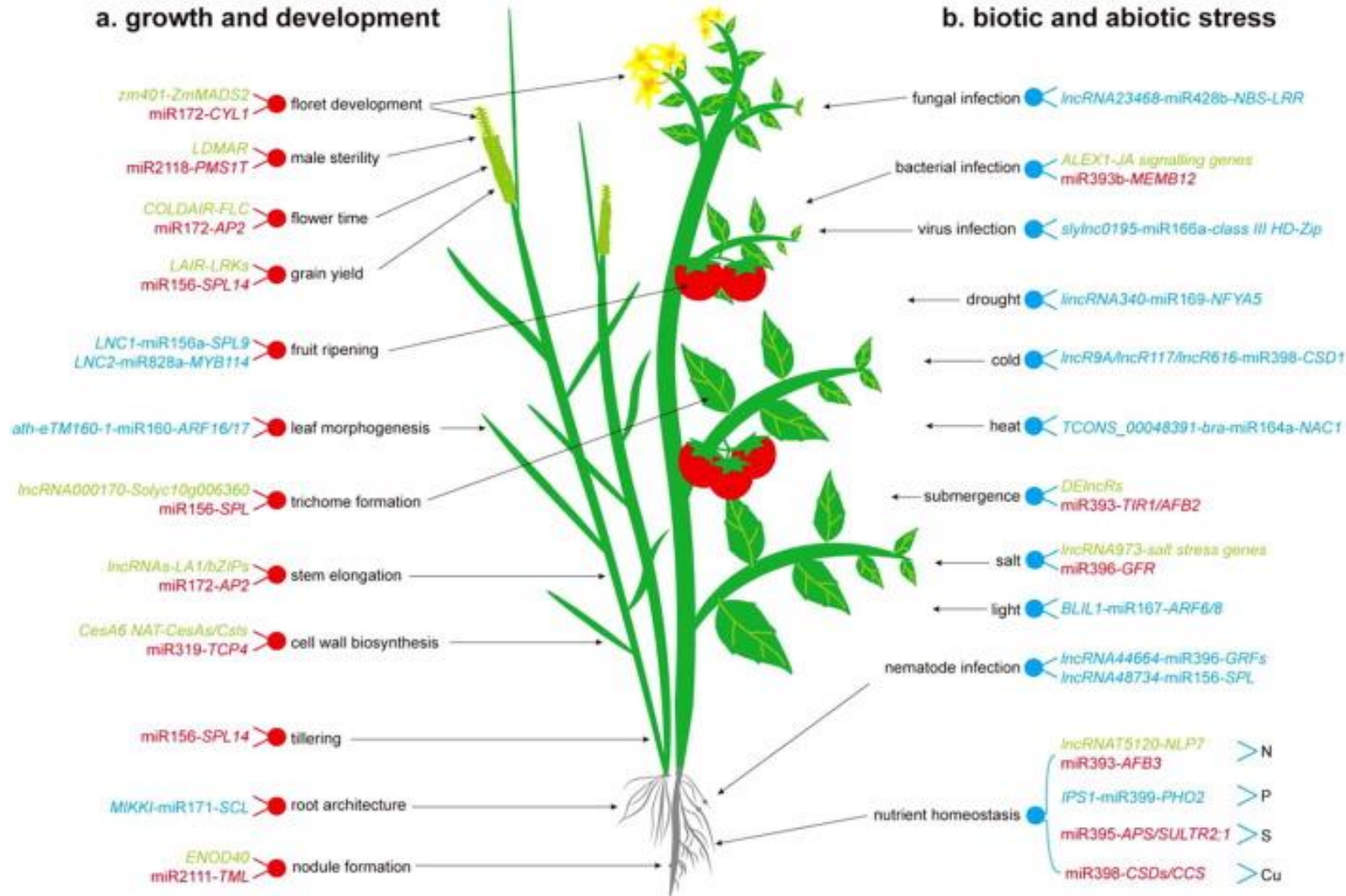
Notredam et al., 2022



Baulcombe (2002) Nature 431

siRNAs und miRNAs unterscheiden sich in ihrem Ursprung und in ihrer Funktion. Beide zeigen eine weitgehende Sequenzspezifität.

- RNA Interferenz

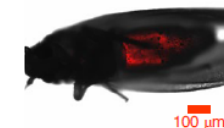
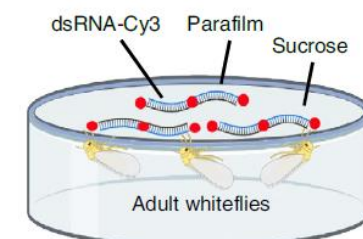
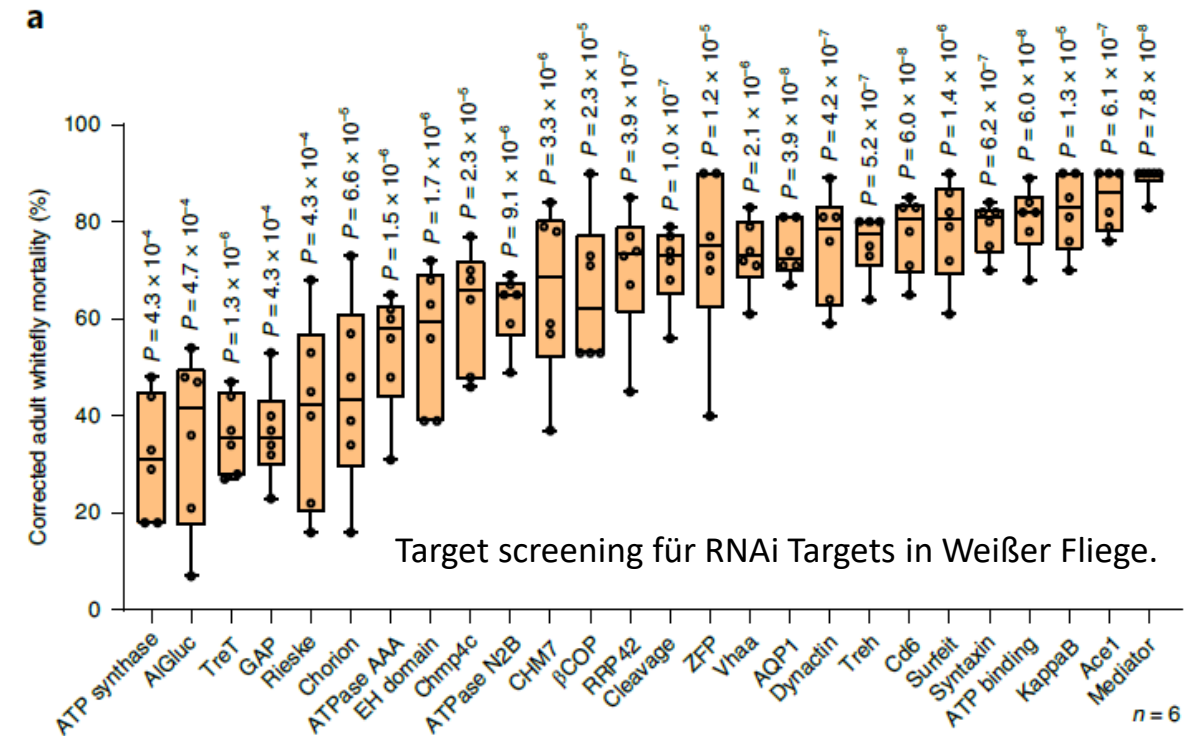


Die biologische Rolle von lncRNAs und miRNAs und ihr Zusammenspiel bei Pflanzenwachstum und -entwicklung sowie biotischem und abiotischem Stress.

Meng et al., 2021 (<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.04.062>)

RNAi im Pflanzenschutz

Ziele für den Einsatz von RNAi bei Pathogenen/Schadinsekten

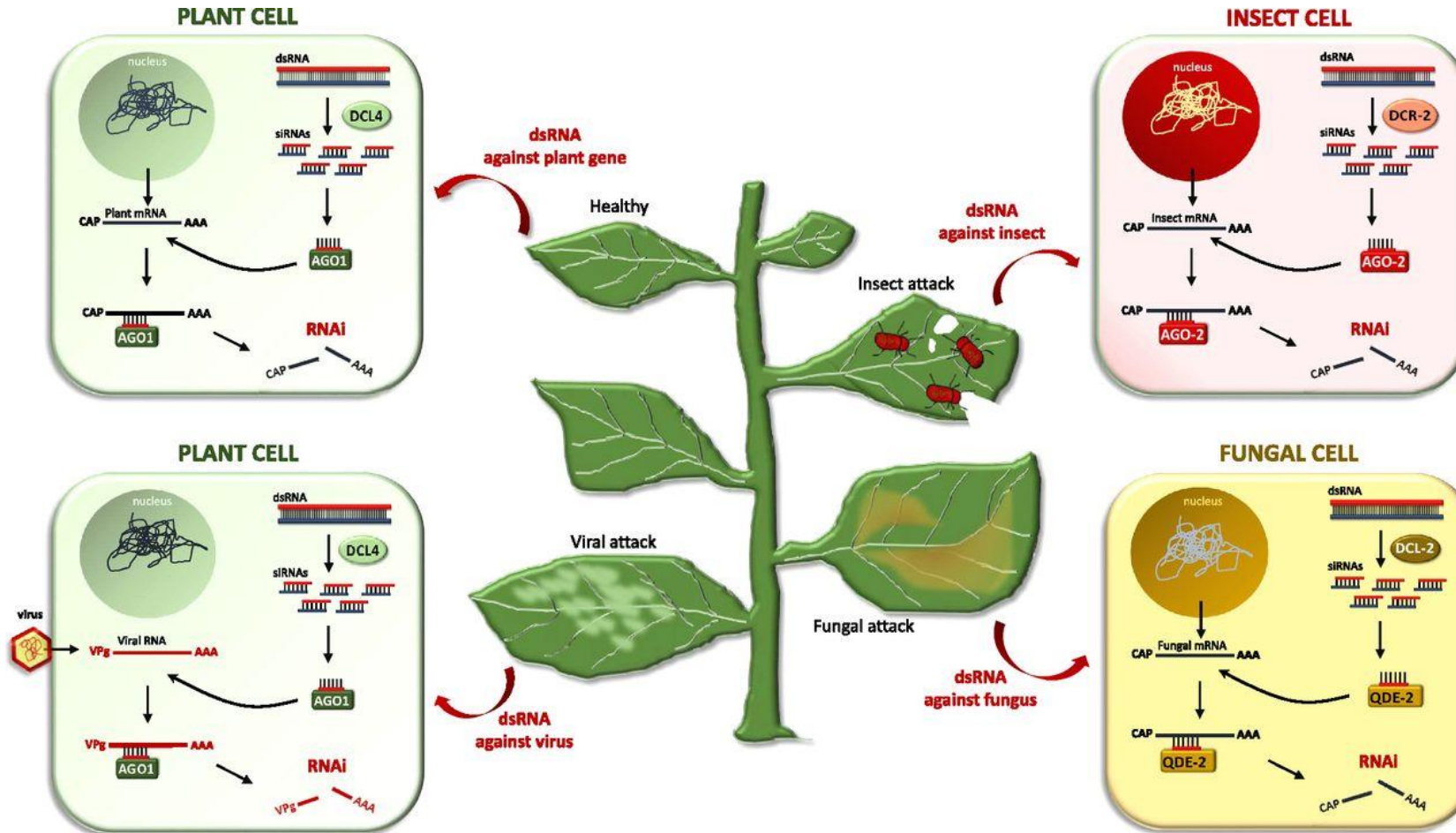


Artificial diet-mediated uptake of dsRNA

Jain et al., 2022 (<https://doi.org/10.1038/s41477-022-01152-8>)

- RNAi im Pflanzenschutz

Host induced gene silencing (HIGS) und *Spray induced gene silencing* (SIGS) wirken gegen ein breites Spektrum an Pathogenen auf unterschiedlichsten Nutzpflanzen (Haupt- und Sonderkulturen).



Dalakouras et al. Plant Physiology (2020)
<https://doi.org/10.1104/pp.19.00570>

- RNAi im Pflanzenschutz bei Insekten

nature
biotechnology



Control of coleopteran insect pests through RNA interference

James A Baum¹, Thierry Bogaert², William Clinton¹, Gregory R Heck¹, Pascale Feldmann², Oliver Ilagan¹, Scott Johnson¹, Geert Plaetinck², Tichafa Munyikwa¹, Michael Pleau¹, Ty Vaughn¹ & James Roberts^{1,3}

Non-transgenic corn

Transgenic corn



Diabrotica virgifera virgifera

nature
biotechnology

Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol

Ying-Bo Mao^{1,2}, Wen-Juan Cai^{1,2}, Jia-Wei Wang^{1,2}, Gao-Jie Hong^{1,2}, Xiao-Yuan Tao^{1,2}, Ling-Jian Wang¹, Yong-Ping Huang¹ & Xiao-Ya Chen¹

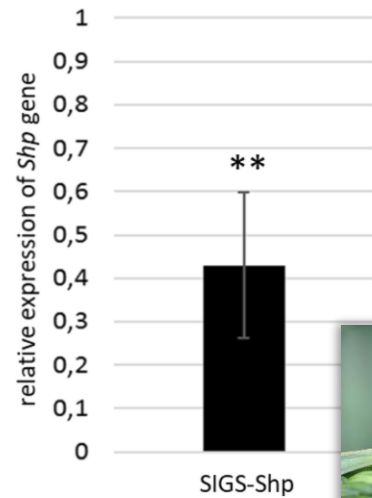


Helicoverpa armigera

Von Gyorgy Csoka, Hungary Forest Research Institute, Bugwood.org - This image is Image Number 5371126 at Insect Images, a source for entomological images operated by The Bugwood Network at the University of Georgia and the USDA Forest Service., CC BY 3.0 us, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=6615449>

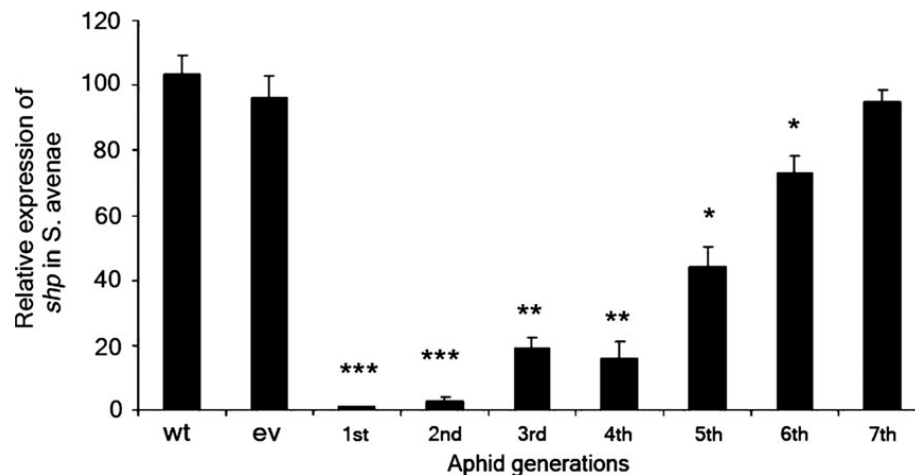
Von Siga - Eigenes Werk, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=42148414>

• RNAi im Pflanzenschutz bei Insekten



Silencing des Shp-Gens in ***S. avenae***, nach Fraß auf dsRNA besprühten Gerstenblättern (SIGS). Die Blätter wurden in einem semisystemischen Ansatz mit einer Endkonzentration von 20 ng μl^{-1} dsRNA besprüht. Die Genexpression wurde für den 5. Tage nach der dsRNA-Sprühungapplikation bestimmt.

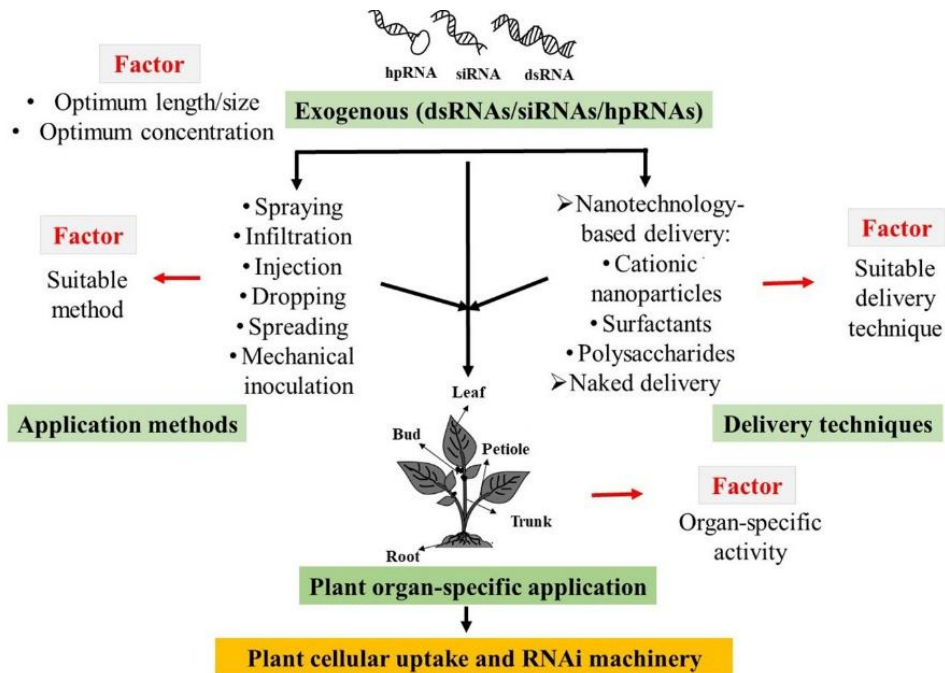
Abdellatif et al. Plant Biotechnology J (2015) doi: 10.1111/pbi.12322



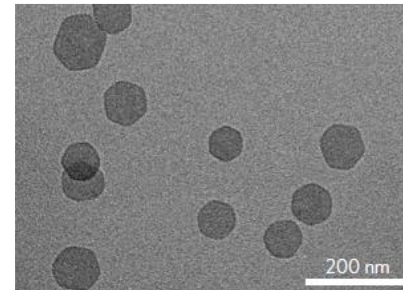
Transgenerationaler Effekt des shp-Silencing durch HIGS. *S. avenae* wurde zwei Wochen lang auf shp-dsRNA L26 und Kontrollen mit leerem Vektor (ev) und Wildtyp (wt) gefüttert und durften sich anschließend auf wt vermehren. Der shp-Transkriptlevel wurde in sieben aufeinanderfolgenden Blattlausgenerationen bestimmt.

• RNAi im Pflanzenschutz bei Insekten

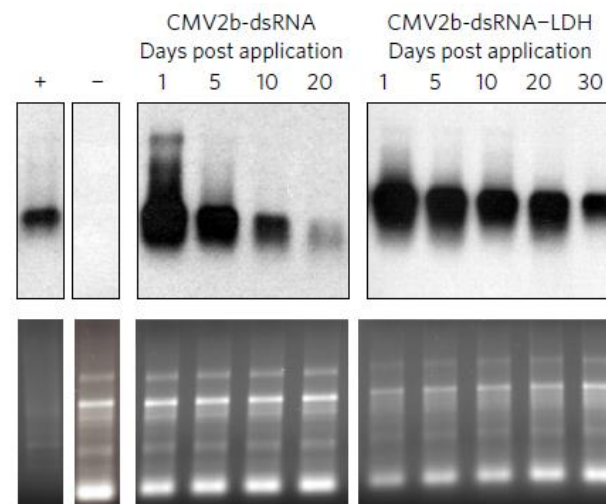
Die Formulierung von dsRNA u.a. durch das Binden an Nanopartikel lässt dsRNA auf Blattoberflächen anhaften und schützt vor Abbau. Darüber hinaus können bereits auftretende Resistenzen bei Insekten durch die Umgehung des Verdauungstraktes und das Durchdringen der Cuticula umgangen werden.



Applikationswege und Verabreichungsformen (z.B. Bindung an Nanopartikel) von RNAi auslösenden RNAs.



dsRNA kann an designte, nicht-toxische, abbaubare, geschichtete Doppelhydroxid (LDH) Ton-Nanoblätter gebunden werden (Tonpartikel).



dsRNA gebunden an Doppelhydroxid (dsRNA-LDH) Ton-Nanoblätter wird gegen Abbau als Folge von RNAsen und Umwelteinflüssen geschützt. Hierdurch ergibt sich ein lang anhaltender Schutz, u.a. gegen Cucumber mosaic virus (CMV) am Beispiel von Augenbohne (*Vigna unguiculata*). dsRNA ohne Bindung an Nanopartikel wird nach kurzer Zeit abgebaut und schützt nicht mehr gegen Virusbefall.

Das PR and Sherif SM, Frontiers in Plant Science (2020) doi: 10.3389/fpls.2020.00946

Mitter et al., Nature Plants (2020) doi: 10.1038/nplants.2016.207

- RNAi im Pflanzenschutz – praktische Anwendung

2030 Targets for sustainable food production



Reduce by 50% the overall use and risk of **chemical pesticides** and reduce use by 50% of more hazardous **pesticides**



Reduce **nutrient losses** by at least 50% while ensuring no deterioration in soil fertility; this will reduce use of **fertilisers** by at least 20 %



Reduce sales of **antimicrobials** for farmed animals by 50%



Achieve at least 25% of the EU's agricultural land under **organic farming** and a significant increase in **organic aquaculture**

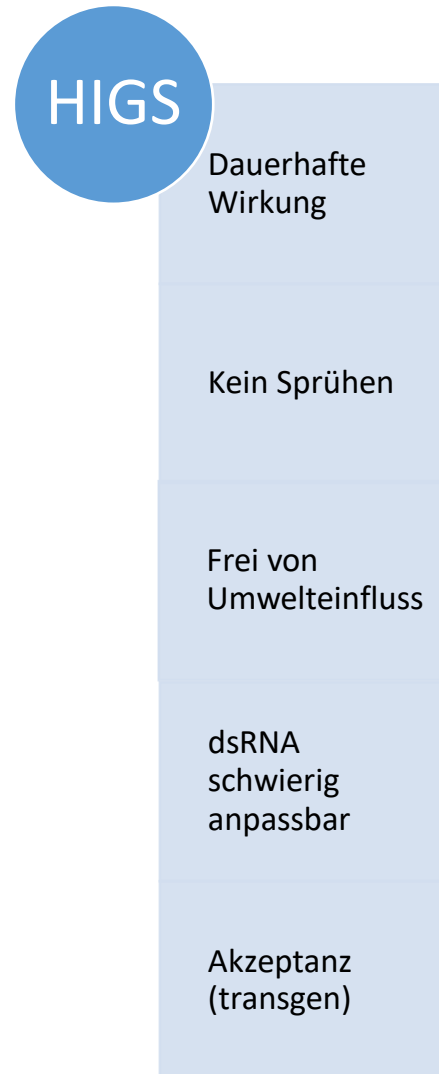
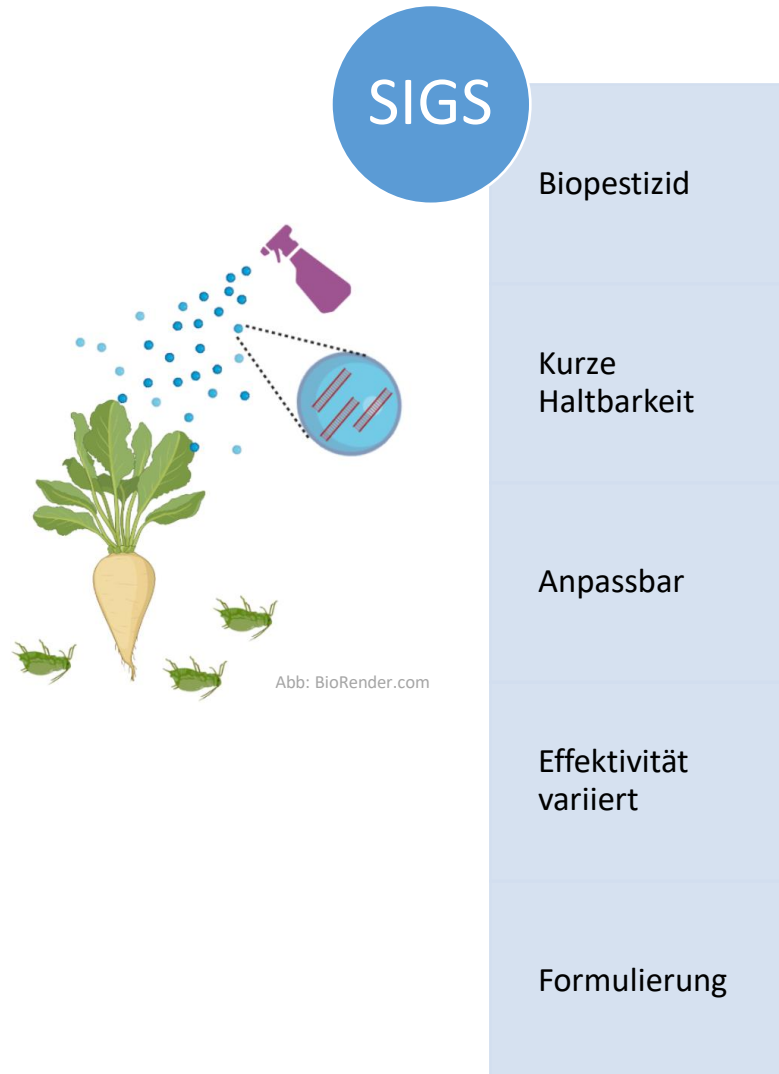
Als Konsequenz werden Wirkstoffe vom Markt genommen (Zulassung läuft aus). Resistenzen gegen Insektizide erschweren den Einsatz verbliebener Mittel.



Quelle: European Commission

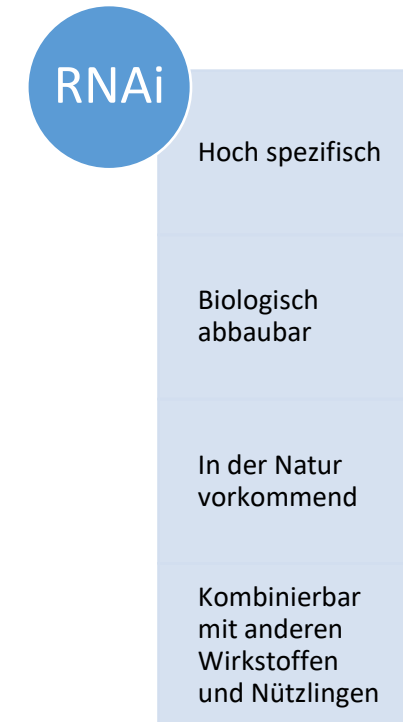
• RNAi im Pflanzenschutz – praktische Anwendung

Vor- und Nachteile der jeweiligen Applikationsformen

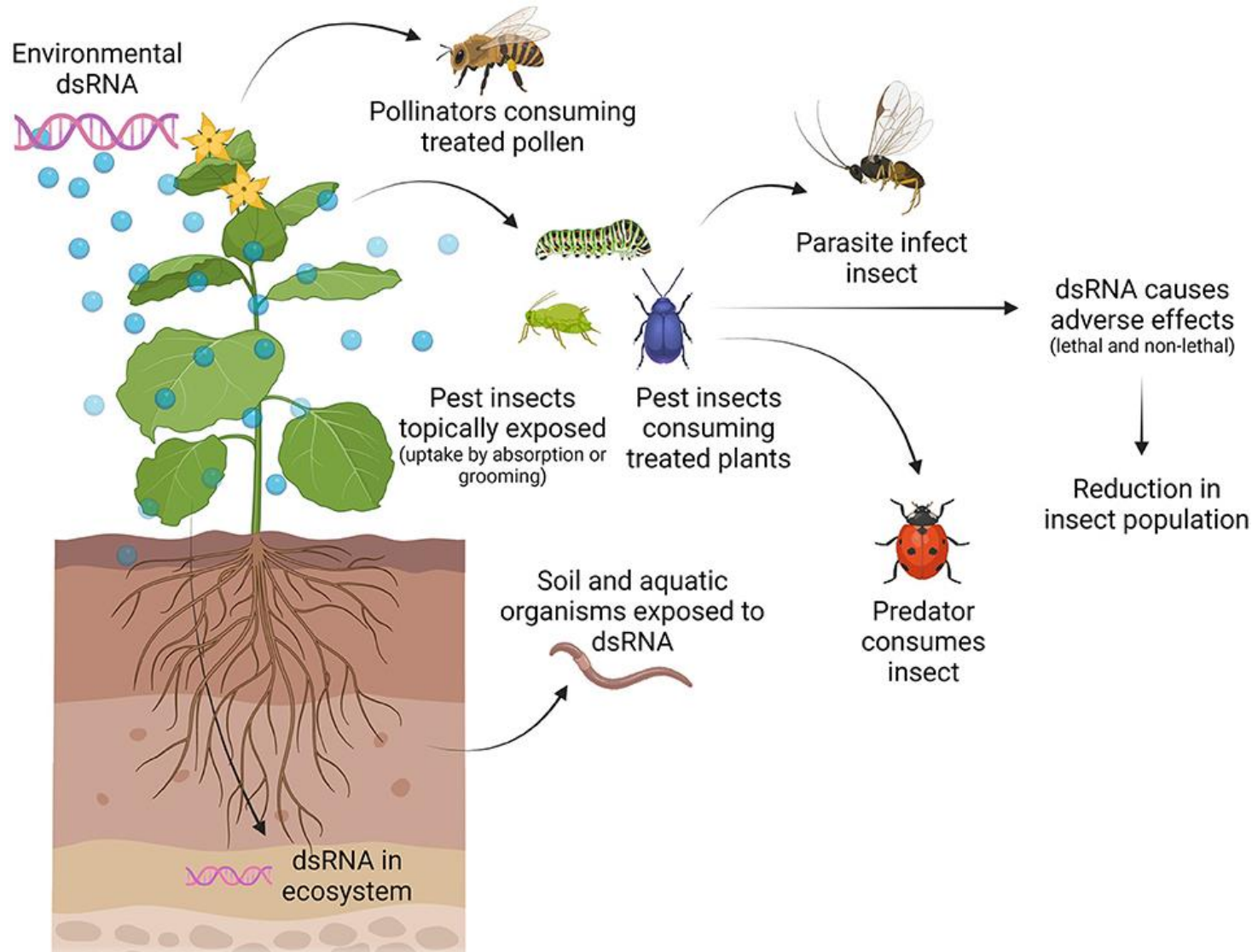


Neuartige nicht chemische, risikoarme und natürliche Wirkstoffe (Biopestizide), die sich in eine Integrierte Schädlingsbekämpfung einfügen.

Allgemein wird angenommen:



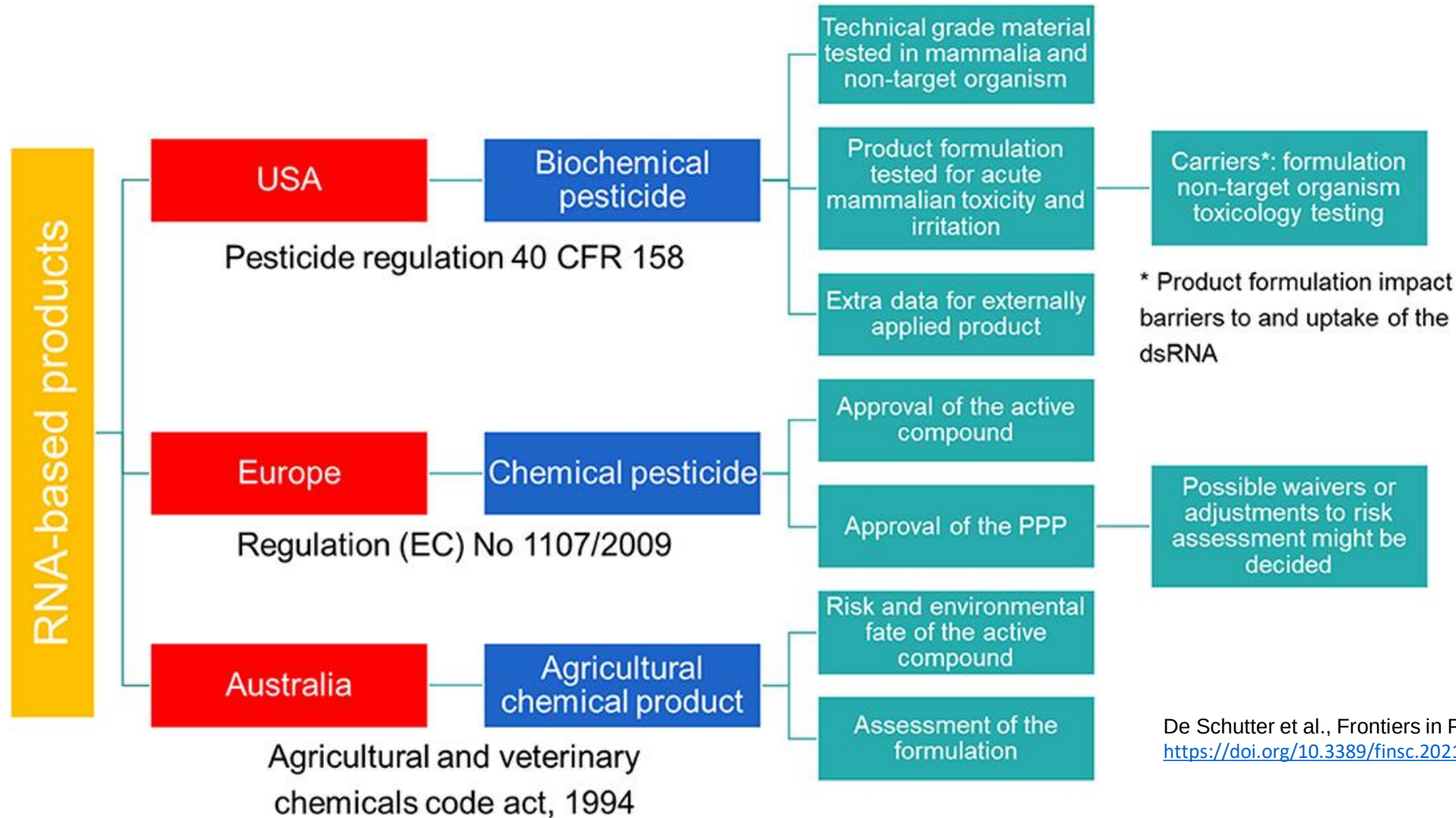
- RNAi im Pflanzenschutz – praktische Anwendung



Expositionspfade von Ziel- und Nichtzielorganismen gegenüber extern applizierter dsRNA. Die Anwendung von dsRNA führt zum Vorhandensein von dsRNA auf/in der Pflanze und im Ökosystem. Zielinsekten (Schädlinge) und Nichtzielinsekten (z. B. Bestäuber) können durch direkten Kontakt mit dsRNA auf/in der Pflanze (Fressen und/oder Putzen) oder während der dsRNA-Anwendung (topisch) exponiert werden. Außerdem können natürliche Feinde (Räuber und Parasitoide) des Schädlings mit der dsRNA in Berührung kommen, wenn sie sich von dem Schädling ernähren. Andere nützliche Organismen wie Bodenzersetzer und Wasserorganismen können im Ökosystem mit dsRNA in Berührung kommen.

De Schutter et al., Frontiers in Plant Science (2020)
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.818037>

- RNAi im Pflanzenschutz – praktische Anwendung



Ledprona (Greenlight Bioscience) steht in den USA für die Kontrolle von Kartoffelkäfern vor der Zulassung

De Schutter et al., Frontiers in Plant Science (2020)
<https://doi.org/10.3389/finsc.2021.818037>

Wichtig innerhalb der EU ist, wie dsRNA selbst hergestellt wird, ob hierbei ein GVO basierter Ansatz verwendet und die die aktive Substanz im Anschluss gereinigt wird, oder ob dsRNA chemisch synthetisiert wird.

- **Literaturtipp**



Aline Koch¹, Georg Petschenka²

Exogene Anwendung von RNA zur umweltfreundlichen Bekämpfung von Schadinsekten

Exogenous application of RNA for the eco-friendly control of insect pests

Affiliationen

¹Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, FG Phytopathologie, Stuttgart.

²Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, FG Angewandte Entomologie, Stuttgart.

Kontaktanschrift

Dr. Aline Koch, Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, FG Phytopathologie, Otto-Sander-Straße 5, 70599 Stuttgart,
E-Mail: aline.koch@uni-hohenheim.de

DOI: 10.5073/JfK.2022.03-04.05 |

dsRNA im Integrierten Pflanzenschutz

WOR Dr. Torsten Will

Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz

