



Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Παραδοτέο Π.3.6.2: Αναφορά αποτελεσματικότητας *in planta* χορήγησης dsRNA εντομοκτόνων μέσω έγχυσης στον κορμό δέντρων

Πληροφορίες για το έγγραφο

Αριθμός παραδοτέου: Π.3.6.2

Ενότητα εργασίας: ΕΕ3

Επικεφαλής δικαιούχος: ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ

Συγγραφείς: Αθανάσιος Δαλακούρας

Έκδοση: 1.x

Είδος Παραδοτέου: Έκθεση

Ημερομηνία παράδοσης: 29.10.2025

Στοιχεία Πράξης

Τίτλος: Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Τίτλος (EN): InnoPP-Innovations in Plant Protection for sustainable and environmentally friendly pest control

Κωδικός πράξης: ΤΑΕΔΡ-0535675

Ακρωνύμιο έργου: InnoPP

Ημερομηνία έναρξης: 15 Μαΐου 2023

Διάρκεια: 28 Μήνες

Συντονιστής Φορέας: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Συντονιστής/ Επιστημονικός Υπεύθυνος: Ιωάννης Βόντας

Πίνακας Περιεχομένων

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ	4
2	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ	5
2.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	ΣΦΑΛΜΑ! ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΟΡΙΣΤΕΙ ΣΕΛΙΔΟΔΕΙΚΤΗΣ.
2.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	7
3	ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	11

Περίληψη του Έργου

Το έργο «Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος» στοχεύει στην ανάπτυξη σύγχρονων και καινοτόμων μεθόδων για την προστασία των καλλιεργειών όπως τα κηπευτικά, τα εσπεριδοειδή και το επιτραπέζιο σταφύλι. Περιλαμβάνει τη δημιουργία προηγμένων διαγνωστικών εργαλείων για την ανίχνευση εχθρών και παθογόνων με τεχνολογίες αιχμής, όπως ηλεκτρονικές παγίδες και βιοαισθητήρες, καθώς και πλατφόρμες αλληλούχισης για τον πλήρη προσδιορισμό των ιωμάτων. Επιπλέον, θα αναπτυχθούν μοντέλα πρόβλεψης επιδημιών και καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα, τα οποία θα αξιολογηθούν για την ασφάλεια τους σε μη στόχους οργανισμούς. Τέλος, οι νέες τεχνολογίες θα ενσωματωθούν σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης φυτοπροστασίας και θα δοκιμαστούν σε πραγματικές συνθήκες, ενώ θα αξιολογηθούν οι κοινωνικοοικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους.

Σύνοψη της ΕΕ3

Στην ΕΕ3 θα αναπτυχθούν καινοτόμες μεθοδολογίες και βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα φυτικής προέλευσης, νέας γενιάς εκλυστικά και απωθητικά, φερομόνες και παρεμποδιστές σύζευξης, βιοδραστικά μόρια ανάπτυξης αντοχής φυτών σε εχθρούς, μικροβιακά βιοεντομοκτόνα και βιοφυτοπροστατευτικά και, τέλος, μοριακά βιοφυτοπροστατευτικά βασισμένα σε δίκλινα RNA (dsRNA).

Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π.3.6.2.

Το Παραδοτέο **Π3.6.2** αφορά ανάλυση διασυστηματικότητας σημασμένη μορφής μοριακών εντομοκτονων (π.χ. CY3 ή FITC) για έγχυση σε κορμό/κλαδί δέντρου πορτοκαλιάς ή ψεκασμό, με στόχο την μεταφορά του RNA στον καρπό, και από εκεί στη μύγα της Μεσογείου, συνεσιακή μικροσκοπική παρατήρηση του σημασμένου RNA και υποκυτταρικό εντοπισμό του RNA στο έντομο.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Ο μηχανισμός σίγησης ή ασποσιώπησης γονιδίων μέσω RNA (RNA interference, RNAi) έχει γίνει ένα σπουδαίο εργαλείο με εφαρμογές σε διάφορους τομείς, συμπεριλαμβανομένης της γεωργίας. Επιγραμματικά, σύμφωνα με τον μηχανισμό RNAi, όταν ένα δίκλωνο RNA μόριο (double stranded RNA, dsRNA) βρεθεί μέσα σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο, κόβεται από τις κυτταρικές ενδονουκλεάσες DICER σε μικρότερα δίκλινα RNA μόρια μεγέθους 21 νουκλεοτιδίων που λέγονται short interfering RNAs (siRNAs). Έν συνεχεία, η μια αλυσίδα/κλωνος των siRNAs φορτώνεται στις κυτταρικές πρωτεΐνες ARGONAUTE (AGO). Το σύμπλοκο AGO:siRNA εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και μόλις ανιχνεύσει ένα αγγελιοφόρο RNA (messenger RNA, mRNA) που παρουσιάζει νουκλεοτιδική συμπληρωματικότητα, υβριδίζει μαζί του και το αποδομεί (Voinnet 2025; Vaucheret and Voinnet 2024). Τα siRNAs, κόβοντας συμπληρωματικά mRNAs, διακόπτουν τη ροή της γενετικής πληροφορίας, με αποτέλεσμα να μην παράγεται πρωτεΐνη και να καταστέλλεται η γονιδιακή έκφραση. Έτσι, το φαινόμενο RNAi ονομάζεται ευρέως και ως σίγηση γονιδίων (gene silencing). Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί μεγάλη έμφαση στην εφαρμογή στρατηγικών που εκμεταλλεύονται το RNAi ως εργαλείο μέσω της απευθείας εφαρμογής σε φυτά RNA μορίων (dsRNAs/siRNAs) εναντίον επιλεγμένων κάθε φορά στόχων. Αυτά τα dsRNA φυτοφάρμακα, τα οποία αποτελούν μέρος των βιολογικών μεθόδων καταπολέμησης παρασίτων, έχουν μελετηθεί ως ενισχυτικά της αντοχής των φυτών έναντι ιών, νηματωδών, εντόμων και μυκήτων (Dalakouras et al. 2020; Dalakouras et al. 2024).

Η οικογένεια Tephritidae των φρουτόμυγων περιλαμβάνει περίπου 4.300 αναγνωρισμένα είδη που εκτείνονται παγκοσμίως. Τα έντομα αυτά αποτελούν σημαντικούς γεωργικούς εχθρούς, καθώς είναι γνωστά για την προσβολή μιας μεγάλης ποικιλίας φρούτων και λαχανικών, στα οποία προκαλούν σημαντικές οικονομικές ζημιές. Ανάμεσά τους, η Μύγα της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*, Wiedemann) ξεχωρίζει ως το πιο διαδεδομένο και καταστρεπτικό είδος (Rao et al. 2024). Στο πλαίσιο της ΕΕ3 (Καινοτόμες μεθοδολογίες και βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα) επιχειρήσαμε να αναπτύξουμε μοριακά βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα βασισμένα σε dsRNA με σκοπό την καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* μέσω της επαγωγής της σίγησης γονιδίων μέσω RNA παρεμβολής (RNA interference, RNAi). Προκειμένου να διαπιστώσουμε πόσο ρεαλιστική είναι η dsRNA προσέγγιση για την καταπολέμηση της *C. capitata* σε συνθήκες αγρού, **θελήσαμε να διερευνήσουμε έναν πιθανό τρόπο εξωγενούς χορήγησης των dsRNA σε δέντρα (κουμκουάτ και μηλιάς) μέσω έγχυσης τους στον κορμό**, με το σκεπτικό ότι το εγχυόμενο dsRNA θα μεταφερθεί από τον κορμό στον καρπό και εν τέλει στη μύγα της Μεσογείου (Dalakouras et al. 2018; Hunter et al. 2012). Όντως, τα αποτελέσματα συνεστιακής μικροσκοπίας έδειξαν ότι **το εγχυόμενο στον κορμό dsRNA μεταφέρεται μέσω των αγωγών στοιχείων του ξύλου (xylem) συστηματικά στο δέντρο (και στον καρπό)**. Συνολικά, τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι με την κατάλληλη επιλογή γονιδίων-στόχων και την κατάλληλη σύνθεση (formulation), τα dsRNA θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα υποσχόμενο μοριακό εργαλείο στην καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου στο μέλλον.

2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

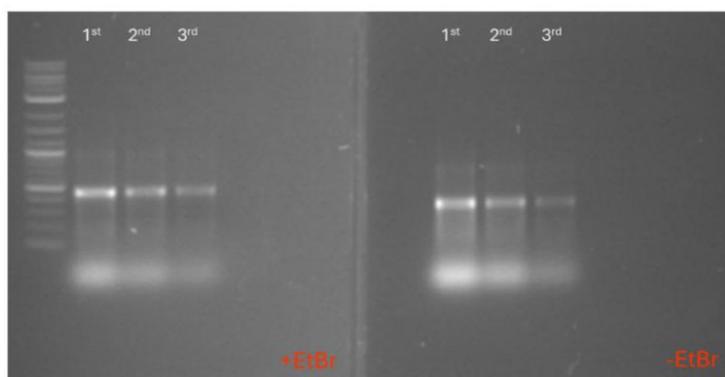
2.1 Υλικά και Μέθοδοι

Χρήση Συνεστιακής Μικροσκοπίας για παρατήρηση ιστών

Δείγματα ιστών απομονώθηκαν από φυτό κουμκουάτ (*Citrus japonica*) και περιλάμβαναν βλαστό (διάμετρος 4 mm), μίσχο φύλλου (2 mm), μίσχο καρπού (2 mm) και φλούδα του καρπού. Συνολικά συλλέχθηκαν δύο βιολογικοί επαναλήψεις ανά τύπο ιστού. Αρχικά, τα δείγματα σταθεροποιήθηκαν σε 4% παραφορμαλδεΐδη (PFA σε 1X PBS, pH 7,4) στους 4°C για 2 ώρες (βλαστοί, μίσχοι φύλλων και μίσχοι καρπών) και για 1 ώρα (φλούδα καρπού). Ο λόγος ιστού προς διάλυμα διατηρήθηκε στο 1:50 (Howat & Wilson, 2014). Μετά τη στερέωση, οι ιστοί πλύθηκαν δύο φορές με ψυχρό (4°C) 1X PBS, ώστε να αποφευχθεί υπερ-στερέωση και πιθανή αποικοδόμηση του ιστού. Στη συνέχεια, τα δείγματα επεξεργάστηκαν σε αυτόματο επεξεργαστή ιστών (MTP, Slee Medical) στο Εργαστήριο Γενετικής, Συγκριτικής και Εξελικτικής Βιολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Η αφυδάτωση πραγματοποιήθηκε με διαδοχικές συγκεντρώσεις αιθανόλης (70% για 30 λεπτά, 95% για 1 ώρα, 100% για 2 ώρες), ακολουθούμενη από καθαρισμούς με ξυλόλιο (αιθανόλη:ξυλόλιο 1:1 για 1 ώρα, ξυλόλιο για 2,5 ώρες) για την απομάκρυνση λιπιδίων και τη διευκόλυνση της εισόδου της παραφίνης. Στο τελικό στάδιο, οι ιστοί επώαστηκαν σε ξυλόλιο:παραφίνη (1:1) για 2 ώρες και κατόπιν σε καθαρή παραφίνη για επιπλέον 2 ώρες. Η ενσωμάτωση πραγματοποιήθηκε σε καλούπια από ανοξείδωτο χάλυβα, τα οποία γεμίστηκαν με λιωμένη παραφίνη (58°C). Οι ιστοί τοποθετήθηκαν στην κατάλληλη διάταξη, ενσωματώθηκαν και αποθηκεύτηκαν στους -20°C κατά τη διάρκεια της νύχτας, ώστε να στερεοποιηθεί η παραφίνη. Στη συνέχεια, οι παραφινικοί κύβοι κόπηκαν σε τομές πάχους 8 μm με μικροτόμο. Οι τομές αιωρήθηκαν σε υδατόλουτρο 47°C για 10 λεπτά, τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες και ξηράνθηκαν σε φούρνο στους 62°C για 15 λεπτά, ώστε να λιώσουν τυχόν υπολείμματα παραφίνης. Οι πλάκες εμβαπτίστηκαν σε ξυλόλιο για 15 λεπτά (Georgiou et al., 2016), αφέθηκαν να στεγνώσουν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και καλύφθηκαν με καλυπτρίδες χρησιμοποιώντας DPX (AppliChem, 255254). Όσον αφορά τα δείγματα εντέρου, οι ιστοί που απομονώθηκαν σταθεροποιήθηκαν σε 4% PFA (σε 1X PBS, pH 7,4) στους 4°C για 1 ώρα και στη συνέχεια πλύθηκαν δύο φορές με ψυχρό 1X PBS. Τα σταθεροποιημένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες και καλύφθηκαν με καλυπτρίδες χρησιμοποιώντας DPX. Όλα τα δείγματα αφέθηκαν να στεγνώσουν στο σκοτάδι κατά τη διάρκεια της νύχτας πριν από τη μικροσκόπηση. Η απεικόνιση των ιστών πραγματοποιήθηκε με συνεστιακό μικροσκόπιο σάρωσης με λέιζερ (LSCM, Zeiss LSM 800). Ο αρχικός στόχος ήταν η αξιολόγηση του ενδογενούς αυτοφθορισμού των ιστών κουμκουάτ στα 488 nm και 560 nm, ώστε να καθοριστούν οι κατάλληλες παράμετροι για τα επόμενα πειράματα με φθορίζοντα dsRNA. Ο φθοροφόρος CY3 διεγείρεται βέλτιστα στα ~550 nm και εκπέμπει στα ~570 nm, με φάσμα ανίχνευσης 560–620 nm. Το ChromaTide™ Alexa Fluor™ 488-5-UTP διεγείρεται στην περιοχή του μπλε (~495 nm), με μέγιστη εκπομπή γύρω στα 519 nm, παράγοντας έντονο πράσινο σήμα. Το λέιζερ 488 nm ευθυγραμμίζεται άριστα με την κορυφή διέγερσης του Alexa Fluor™ 488, εξασφαλίζοντας αποτελεσματική διέγερση και ισχυρή φθορισμό. Ως εκ τούτου, το λέιζερ 488 nm θεωρείται βέλτιστο για την απεικόνιση dsRNA που έχει σημανθεί με αυτή τη χρωστική. Η ανάλυση των εικόνων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό ImageJ.

Σύνθεση dsRNA με τη χρήση φθορίζουσας ουρακίλης (Alexa 488-UTP) και έγχυση στον κορμό δέντρου.

Για τη σύνθεση dsGFP με ενσωματωμένο Alexa Fluor 488 UTP, χρησιμοποιήθηκε το MEGAscript® RNAi Kit (Thermo Scientific, AM1626), ακολουθώντας το πρωτόκολλο του kit με ορισμένες τροποποιήσεις: αντί για 1 μL από 75 mM ριβονουκλεοτίδια, χρησιμοποιήθηκαν 1 μL από 10 mM ATP, CTP και GTP, καθώς και 0,75 μL UTP. Στη συνέχεια προστέθηκαν 2,5 μL από 1 mM UTP488 (ώστε η τελική ποσότητα όλων των ριβονουκλεοτιδίων να είναι 10 nmol). Η επώαση πραγματοποιήθηκε με DNase για 15 λεπτά, και η τελική εκλούση έγινε τρεις φορές με 40 μL buffer εκλούσης. Η ποσοτικοποίηση πραγματοποιήθηκε με το Qubit RNA BR Assay Kit (Invitrogen). Από κάθε εκλούση φορτώθηκαν 3 μL σε τζελ με βρωμιούχο αιθίδιο (Ethidium Bromide) και 3 μL σε πήκτωμα χωρίς βρωμιούχο αιθίδιο, καθώς το 488 είναι ορατό υπό υπεριώδη (UV) ακτινοβολία **Εικόνα 1**.



Εικόνα 1: Οπτικοποίηση των τριών εκλούσεων της αντίδρασης σύνθεσης dsGFP με ενσωμάτωση φθορίζοντος Alexa Fluor 488 UTP, με και χωρίς βρωμιούχο αιθίδιο.

Για την έγχυση στον κορμό δέντρου 1300 ng dsGFP 488 εγχύθηκαν στον βλαστό του κουμκουάτ (trunk injection) όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2**.

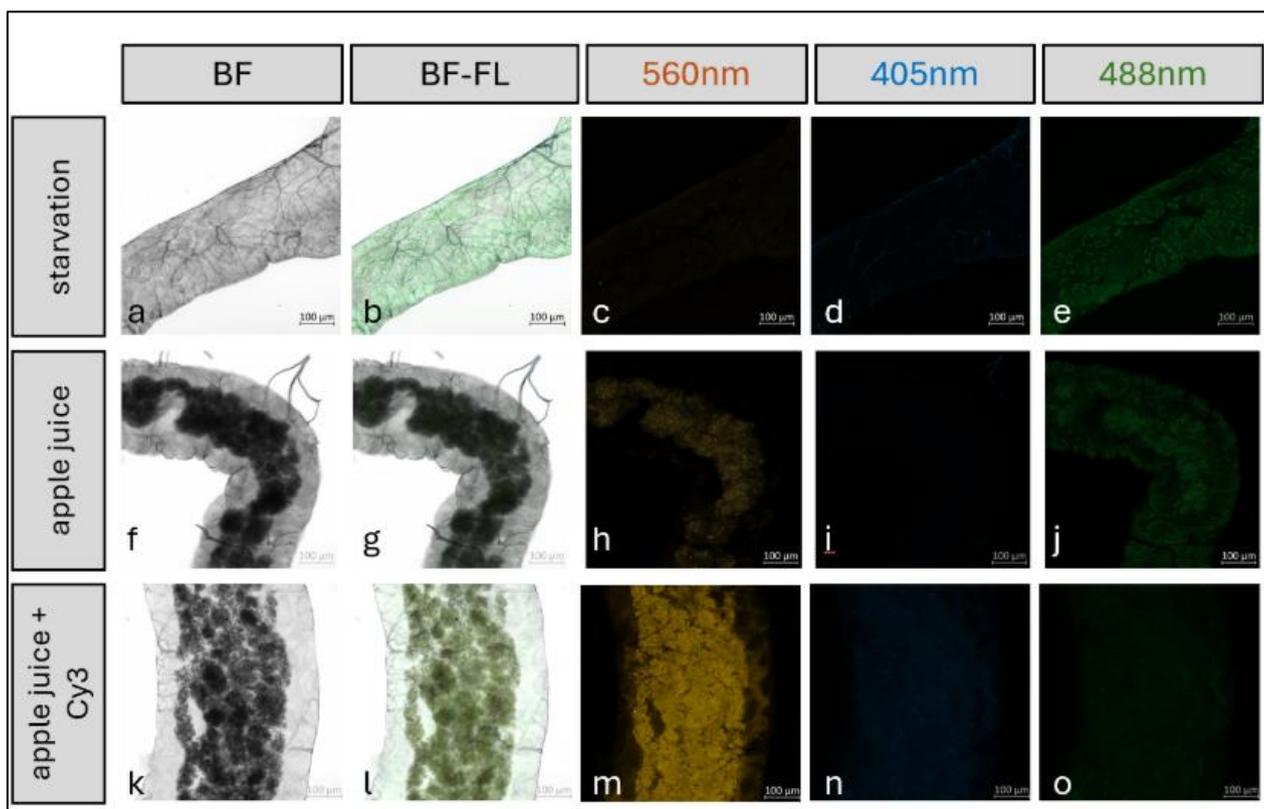


Εικόνα 2: Έγχυση στον κορμό του κουμκουάτ φθορίζοντος dsGFP-UTP488: Αρχικά δημιουργήσαμε μια οπή στον κορμό, όπου προσθέσαμε με τη βοήθεια σύριγγας το φθορίζον dsGFP.

2.2 Αποτελέσματα

Έλεγχος αυτοφθορισμού στο έντερο της Μύγας με συνεστιακή μικροσκοπία

Προκειμένου να επιλέξουμε το επιθυμητό φθορίζον μόριο για τη σήμανση του dsRNA και τη μεταφορά του μέσω έγχυσης σε κορμό δέντρου, ελέγξαμε τον αυτοφθορισμό στο έντερο των προνυμφών. Ερευνήσαμε δύο συνθήκες: το έντερο των προνυμφών όταν είναι άδειο (μετά από 1,5 ώρα νηστείας) και μετά από χορήγηση χυμού μήλου (droplet feeding assay). Παρατηρούμε (Εικόνα 3) ότι το έντερο έχει αυτοφθορισμό στα 488 nm και το μήλο στο έντερο στα 560 nm. Δοκιμάσαμε επίσης πόσο ορατό είναι το Cy3 κάτω από το συνεστιακό μικροσκόπιο, προσθέτοντάς το στο χυμό μήλου.

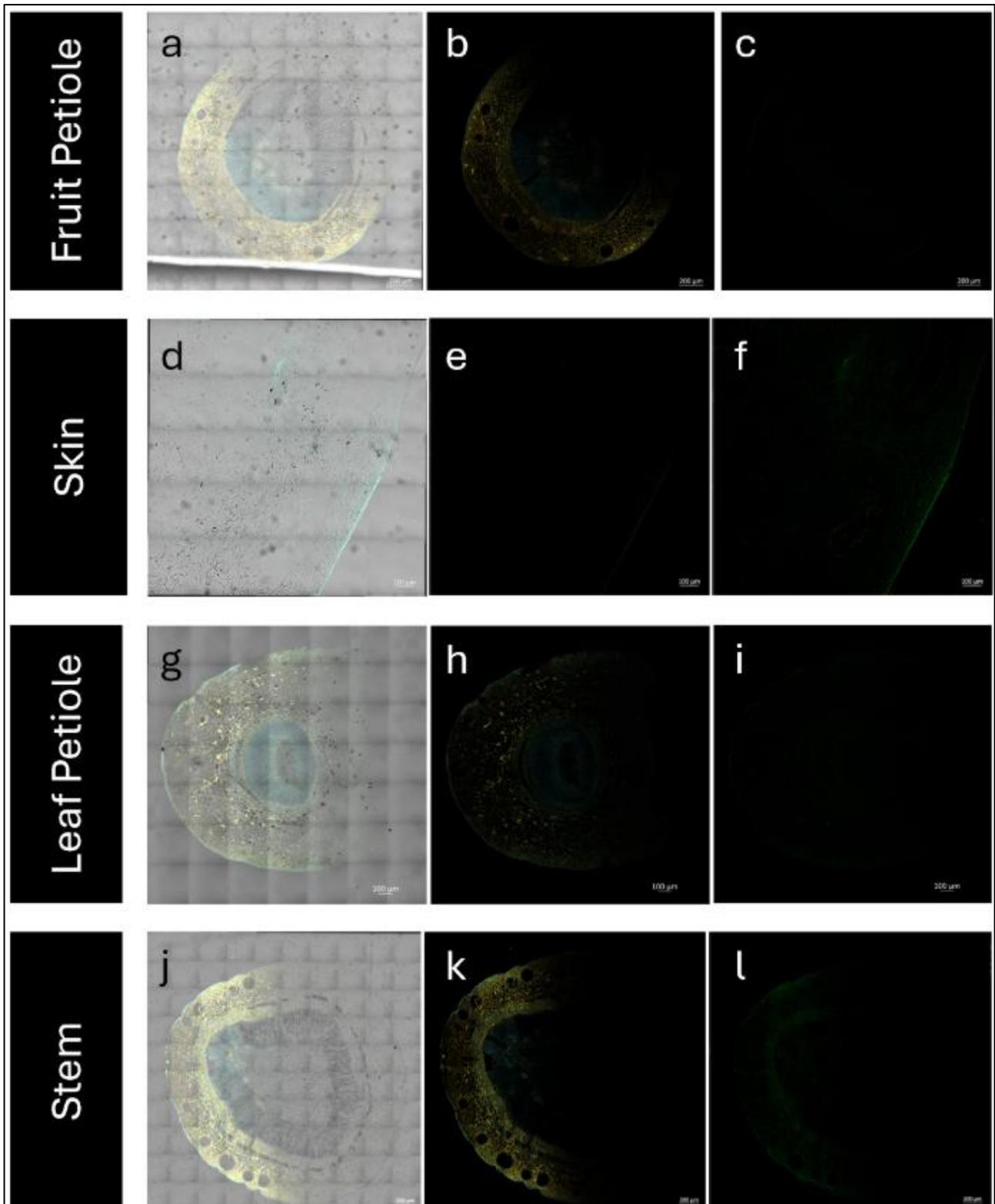


Εικόνα 3: Συνεστιακή μικροσκοπία σε ανατομές εντέρου προνυμφών *Ceratitidis capitata*. Οι εικόνες a, f, k δείχνουν το φωτεινό πεδίο (Bright Field), οι εικόνες b, g, l συνδυάζουν φωτεινό πεδίο με φθορισμό (560 nm, 405 nm και 488 nm), οι εικόνες c, h, m δείχνουν φθορισμό στα 560 nm, οι εικόνες d, i, n στα 405 nm και οι εικόνες e, j, o στα 488 nm.

Έλεγχος αυτοφθορισμού στο εσπεριδοειδές φυτό Κουμκουάτ (*Citrus japonica*) και έγχυση στον κορμό φθορίζοντος dsGFP

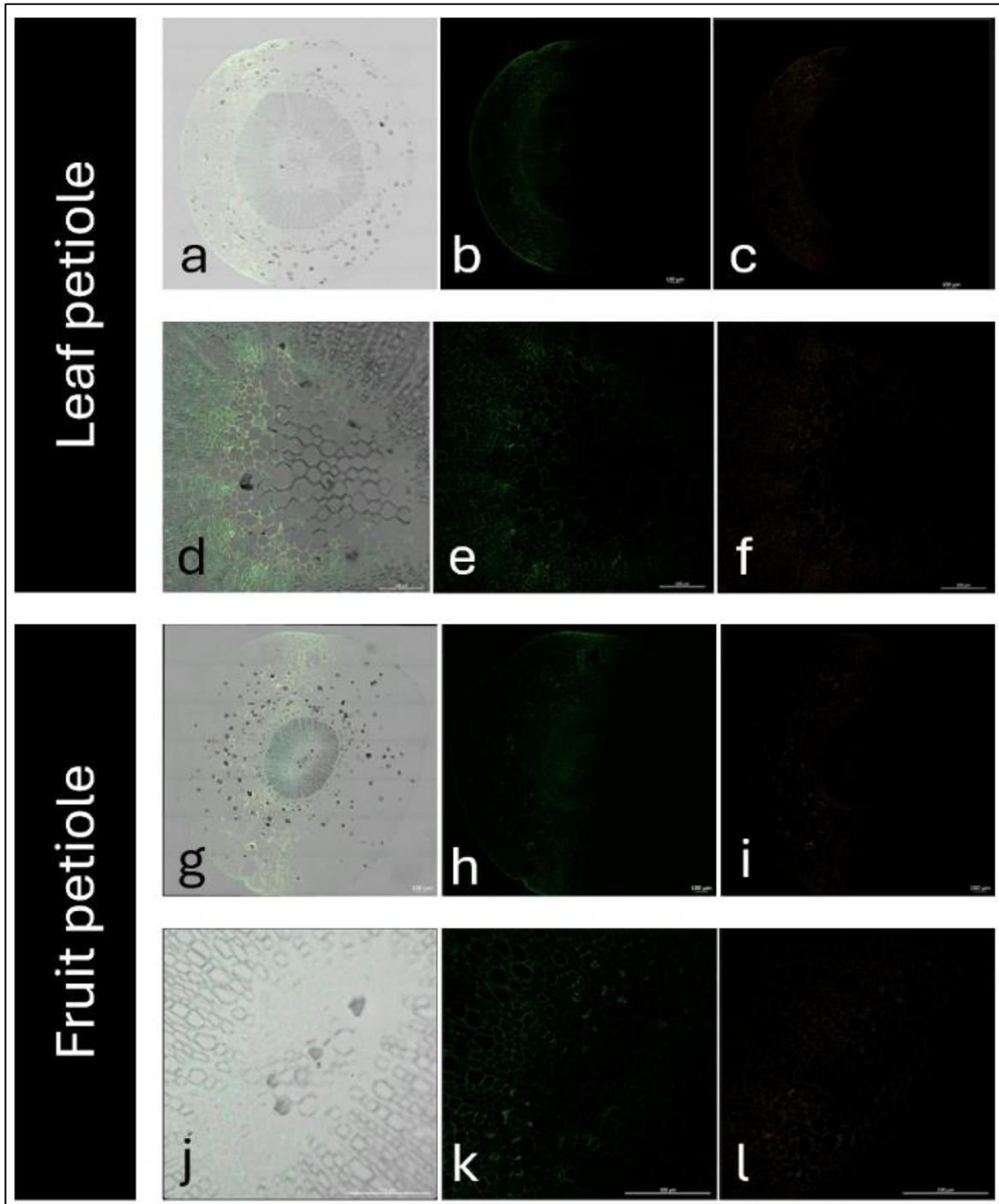
Η αυτοφθορισμός του φυτού κουμκουάτ (*Citrus japonica*) μελετήθηκε σε τέσσερις διαφορετικούς τύπους ιστών: καρπός, μίσχος καρπού, μίσχος φύλλου και βλαστός. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση συνεστιακού μικροσκοπίου με φακό 20X. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται ως εξής: Όσον αφορά τη μελέτη της αυτοφθορισμού του φυτού, αυτό παρουσίασε ενδογενές φθορίζον σήμα στα 560 nm (κίτρινο) στους μίσχους των καρπών (Εικόνα 4b), στους μίσχους των φύλλων (Εικόνα 4h) και στον βλαστό (Εικόνα 4k). Αντίθετα, δεν ανιχνεύθηκε ενδογενές σήμα στα 488 nm (πράσινο) σε κανέναν από αυτούς τους τρεις ιστούς (Εικόνες 4c, i, l). Αντίθετα, στη φλούδα του καρπού κουμκουάτ, η αυτοφθορισμός παρατηρήθηκε

αποκλειστικά στα 488 nm (πράσινο), ενώ δεν υπήρχε ανιχνεύσιμο σήμα στα 560 nm (κίτρινο) (Εικόνες 4f, e).



Εικόνα 4: Μελέτη αυτοφθορισμού στο κουμμκουάτ: οι Εικόνες a,d,g,j συνδυάζουν Bright-field με φθορισμό (488nm και 560nm), οι εικόνες b,h,k φθορισμό στα 488 και 560 nm, η εικόνα e φθορισμό στα 560nm και οι εικόνες c,f,i,l στα 488nm, για το φυτό κουμμκουάτ.

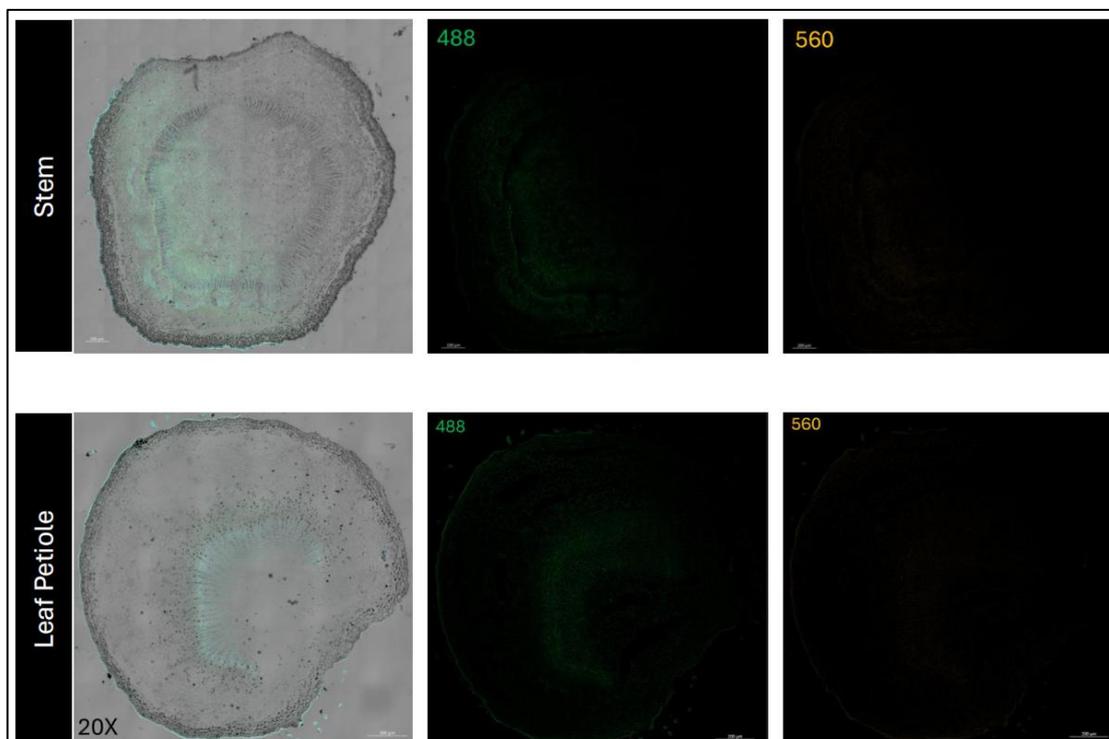
Στη συνέχεια, εγχύσαμε στον κορμό του κουμκουάτ 1300 ng dsGFP το οποίο είχε συντεθεί με ενσωμάτωση φοριζόντος UTP Alexa-488nm και παρατηρήσαμε εάν το σήμα μπορεί να ανιχνευθεί στον μίσχο των καρπών και των φύλλων 8 ώρες αργότερα. Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 5**, παρατηρείται φθορισμός στα 488nm στα κύτταρα των ιστών αυτών.



Εικόνα 5: Μελέτη φθορισμού στο κουμκουάτ ύστερα από έγχυση dsGFP-UTP 488 στον κορμό (trunk injection): οι εικόνες a, d, g, j συνδυάζουν φθορισμό με Bright-field, οι εικόνες b,e,h,k δείχνουν την απορρόφηση στα 488nm και οι c,f,i,j στα 560nm.

Έλεγχος αυτοφθορισμού σε ιστούς της Μηλιάς (*Malus domestica*)

Μελετήσαμε ακόμη τον αυτοφθορισμό σε ιστούς δέντρων μηλιάς, συγκεκριμένα στο βλαστό και τον μίσχο του φύλλου. Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει ενδογενές σήμα σε κανέναν από τους δύο ιστούς που μελετήσαμε (Εικόνα 6).



Εικόνα 6: Μελέτη αυτοφθορισμού στη μηλιά: οι εικόνες της πρώτης στήλης συνδυάζουν φθορισμό με Bright-field, αυτές της δεύτερης στήλης δείχνουν την εκπομπή όταν η απορρόφηση είναι στα 488nm και της τρίτης την εκπομπή με απορρόφηση στα 560nm.

3 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο πλαίσιο του έργου και συγκεκριμένα στην ΕΕ3 και για το παραδοτέο **Π.3.6.2** διερευνήσαμε τη μεταφορά dsRNA μέσω έγχυσης στον κορμό δέντρων-ξενιστών της Μεσογειακής Μύγας. Η *C. capitata* αποτελεί πολυφάγο είδος με πάνω από 250 γνωστούς ξενιστές, συμπεριλαμβανομένων σημαντικών καλλιεργειών όπως το κουρκουάτ και η μηλιά (María Liza et al. 2024). Η αντιμετώπιση του εντόμου με κλασικούς ψεκασμούς είναι προβληματική, καθώς οι προνύμφες τρέφονται προστατευμένες στο εσωτερικό του καρπού και δεν έρχονται σε επαφή με τα εντομοκτόνα που εφαρμόζονται π.χ. με ψεκασμό. Για να λυθεί αυτό το πρόβλημα, **αναπτύξαμε μια μεθοδολογία εισαγωγής dsRNA σε δέντρα-ξενιστές της Μύγας της Μεσογείου με τη διαδικασία της έγχυσης στον κορμό** (Shang et al. 2024; Dalakouras et al. 2018). Για να παρατηρήσουμε την μεταφορά του εγχυόμενου dsRNA σε διάφορους ιστούς του δέντρου μέσω συνεστικής μικροσκοπίας, σημάνθηκε το dsRNA με τη φθοροφόρο ουσία Cy3 (Naganuma et al. 2021). Στο πλαίσιο αυτό, **διαπιστώθηκε ότι φθορίζον dsRNA μπορεί να μετακινηθεί μέσω των αγωγών στοιχείων του ξύλου (xylem) σε απομακρυσμένους ιστούς (μίσχους φύλλων και καρπών)**, γεγονός που ενισχύει τη δυνατότητα χρήσης RNAi-εντομοκτόνων σε δέντρα όπου η μύγα ωοτοκεί, ώστε οι προνύμφες να καταναλώνουν το dsRNA στον καρπό. Μελλοντικές εργασίες απαιτούνται για να διερευνηθεί η πιθανή επεξεργασία του εξωγενούς dsRNA από τα ένζυμα του ξενιστή προτού αυτό φτάσει στο στόχο του (προνύμφη) καθώς και η RNAi αποτελεσματικότητα του μεταφερόμενου dsRNA έναντι της Μύγας της Μεσογείου.

References

- Dalakouras A, Jarausch W, Buchholz G, Bassler A, Braun M, Manthey T, Krczal G, Wassenegger M (2018) Delivery of Hairpin RNAs and Small RNAs Into Woody and Herbaceous Plants by Trunk Injection and Petiole Absorption. *Front Plant Sci* 9:1253. doi:10.3389/fpls.2018.01253
- Dalakouras A, Koidou V, Papadopoulou K (2024) DsRNA-based pesticides: Considerations for efficiency and risk assessment. *Chemosphere* 352:141530. doi:10.1016/j.chemosphere.2024.141530
- Dalakouras A, Wassenegger M, Dadami E, Ganopoulos I, Pappas ML, Papadopoulou K (2020) Genetically Modified Organism-Free RNA Interference: Exogenous Application of RNA Molecules in Plants. *Plant Physiol* 182 (1):38-50. doi:10.1104/pp.19.00570
- Hunter WB, Glick E, Paldi N, Bextine BR (2012) Advances in RNA interference: dsRNA Treatment in Trees and Grapevines for Insect Pest Suppression. *Southwestern Entomologist* 37 (1):85-87, 83
- María Liza L, Claudia CR, Flavia Jofré B, Gómez MP (2024) Host Interaction and Population Dynamics of *Ceratitis capitata* in Agroecological Systems: Level Infestation in Key Hosts in Irrigation Oasis of San Juan, Argentina. *International Journal of Zoology and Animal Biology* 7 (6):1-5. doi:10.23880/izab-16000633
- Naganuma M, Tadakuma H, Tomari Y (2021) Single-molecule analysis of processive double-stranded RNA cleavage by *Drosophila* Dicer-2. *Nature Communications* 12. doi:10.1038/s41467-021-24555-1
- Rao J, Zhang Y, Zhao H, Guo J, Wan F, Xian X, Yang N, Liu W (2024) Projecting the Global Potential Geographical Distribution of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) under Current and Future Climates. *Biology* 13 (3):177
- Shang Q, Lu H, Yang M, Wu Y, Chen Q (2024) The Advancement and Prospects of the Tree Trunk Injection Technique in the Prevention and Control of Diseases and Pests. *Agriculture* 14 (1):107
- Vaucheret H, Voinnet O (2024) The plant siRNA landscape. *Plant Cell* 36 (2):246-275. doi:10.1093/plcell/koad253
- Voinnet O (2025) Three decades of mobile RNA silencing within plants: what have we learnt? *Journal of Experimental Botany*. doi:10.1093/jxb/eraf312