

A vírusellenálló transzgénikus növények

Az RNS silencing antivirális rendszer működése
és a silencing-alapú transzgénikus vírusellenállóság

A recesszív rezisztencia gének és a CRISPR-alapú
transzgénikus vírusellenállóság

Silhavy Dániel



MBK

Növényi RNS Biológia csoport

Gödöllő

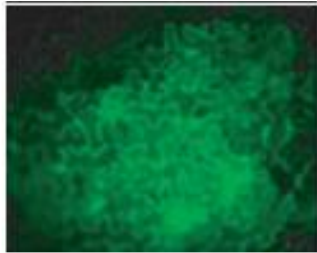
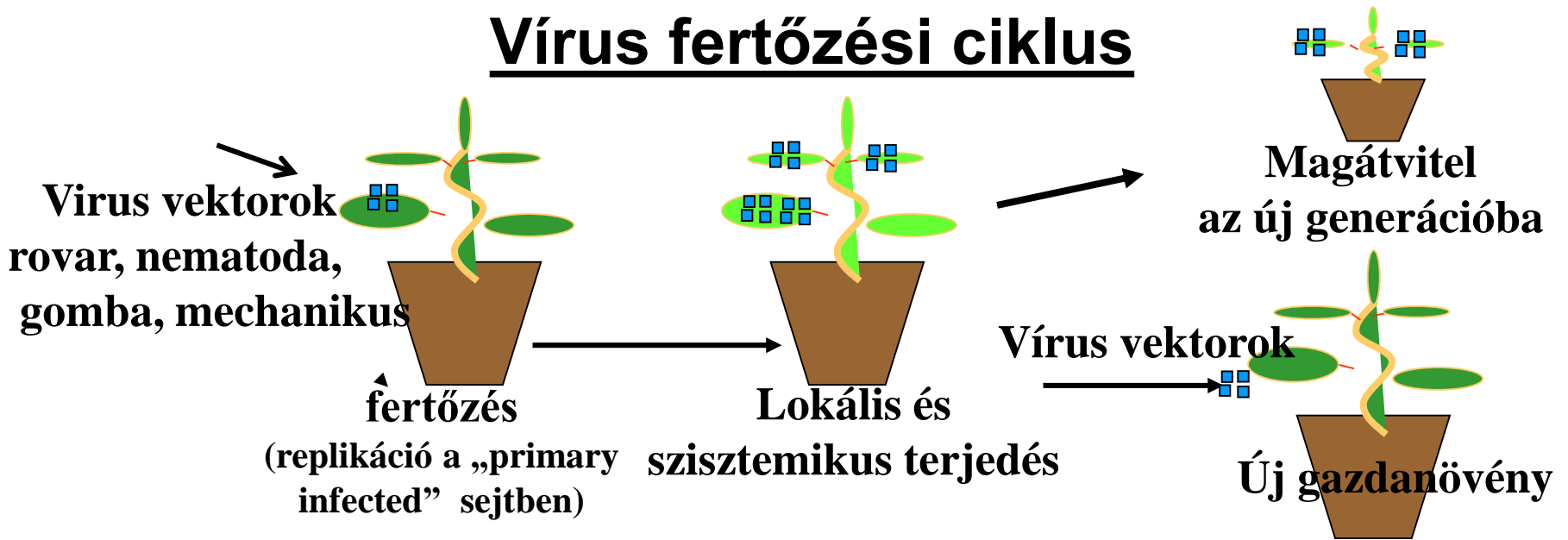
A növényi vírusok és a terjedő, veszélyes növénykórokozók **(emerging infectious diseases)**

A növényi vírusok obligát paraziták, amelyek a gazda génexpressziós rendszerét használják a replikációjukhoz

**A haszonnövények esetén az „Emerging infectious diseases”
46%vírus, 30%gomba, 16% baktérium**

Konklúzió: a haszonnövényeket védeni kell a vírusoktól

Vírus fertőzési ciklus



Fertőzött levél

Szisztemikus terjedés →

replikáció a „primary infected” sejtben

Sejtről-sejtre mozgás

Szisztemikus levél

Phloem →

Plant cell

Ce

Hogyan védhetjük meg a haszonnövényeket a vírusoktól?

- **Vírus vektorok kiirtása (inszekticidek stb.)**
- **Vírusellenálló növények termesztése. Olcsó, környezetbarát alternatíva.**

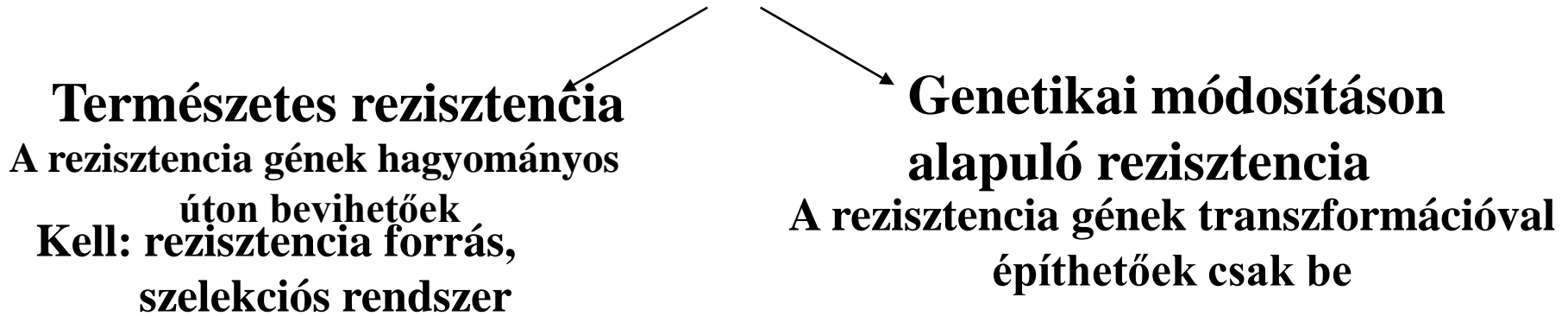
A vírusellenálló növény legalább egy lépését gátolja a vírus fertőzési ciklusnak,

- vírus vektor fertőzést**
- replikáció a „primary infected” sejtekben**
- sejtről-sejtre mozgást**
- szisztemikus mozgást**

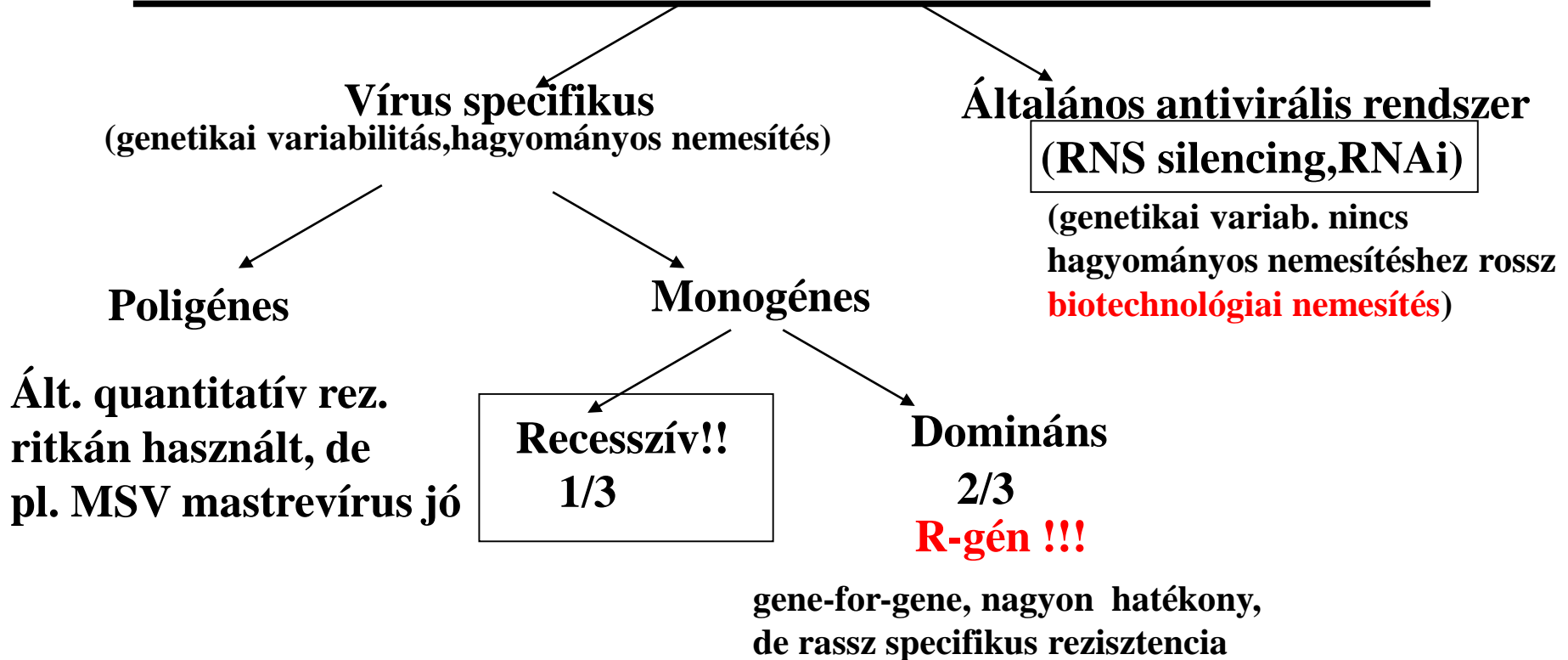
Virológusok: Vírusrezisztens a növény,

- ha a vírus nem képes replikálódni az elsődleges fertőzött sejtekben,**
- vagy ha nem tud sejtről-sejtre, illetve szisztemikusan mozogni.**

Vírusrezisztencia típusok



Természetes vírus rezisztencia rendszerek



A PDR koncepció

**Cél: Idegen gén beépítésével vírusellenállóvá tenni a növényt.
Pathogen derived resistance (PDR)**

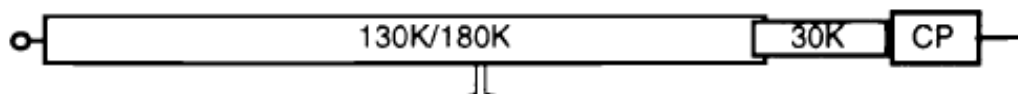
Sanford és Johnston 1985- : PDR általános mesterséges védekezés lehet bármely patogén ellen (vírus, gomba, baktérium). Elv: fertőzéshez patogén fehérjék (és RNS-ek) megfelelő mennyisége és minősége kell. Minden patogén termel olyan fehérjéket, amelyek a patogénnek kellenek, a gazdának nem. Ha ezeket vad vagy inkább mutáns formában a gazdában túltermeltetjük, felborul a patogenezishez szükséges fehérje egyensúly, a gazda védett lesz.

Teszt: E. coli-ban a Q β fágból származó eltérő fehérjéket termeltettek. A transzgenikus E. coli-k védettek lettek Q β -ra!!!

A fehérje-alapú PDR, mint mesterséges növényi vírusrezisztencia rendszer

A PDR első növényi tesztje- 1986. Powell ...Beachy

Transzgénikus dohány , ami a TMV köpenyfehérje (CP) génjét expresszálja
Tobacco mosaic virus (TMV, + ssRNS vírus)



Transzgénikus vonalak fertőzése TMV-vel, illetve kontroll vírussal

Eredmény:

-TMV CP expresszáló vonalak védettek a TMV-vel szemben,
de fogékonyak a kontroll vírusokkal szemben (kivéve ha azok a TMV közeli rokonai)

-Minél magasabb a CP transzgén eredetű fehérje szint, annál erősebb védelem

Fehérje-alapú PDR (Protein-based PDR vagy CP-mediated resistance)

*A PDR koncepció növényekben vírusok ellen hatékony,
ígéretes, mert elvben bármely vírus ellen védelem érhető el !!!!*

Az RNS-alapú PDR, mint mesterséges növényi vírusrezisztencia rendszer

1992. Lindbo, Dougherty

Cél: TEV (*Tobacco etch virus*, potyvírus) rezisztens dohány növények előállítása
Beépíteni CP, CPmut.(mutáns) és kontrollként nem-transzálható cpRNS

Sok száz vonal, kiválasztva magas, közepes, alacsony CP, CPmut.
expresszáló egyed és egy darab cpRNS expresszáló negatív kontroll.

Eredmény: TEV fertőzés

A TEV CP termelők mind fertőződnek, némelyik idővel kigyógyult,
Mások teljesen fogékonyak. Hasonló eredmény CPmut.-okkal is.
A cpRNS vonal teljesen rezisztensnek bizonyult!!!!!!

*A növényekben PDR-alapú transzgénikus vírusrezisztencia kétféle módon is elérhető,
virális fehérje, illetve RNS termeltetésével !!!! Az RNS-alapú hatékonyabb!!!!*

-A cpRNS expresszáló vonal rezisztenciája specifikus, csak TEV ellen hat.
-Itt fehérje nincs, PDR mégis van: RNS-alapú PDR (RNA-based PDR,
ma már tudjuk **RNS silencing** alapú rezisztencia)

A növényi vírus és aberráns RNS indukálta sejt-szintű RNS silencing útvonalak

Vírus RNS

Vírus, növény
RdRP

Transzgén, aberráns RNS

Növény RdRP

dsRNS

dsRNS amplifikáció

DICER

cap

RdRP

RdRP

cap

sRNAs

cap

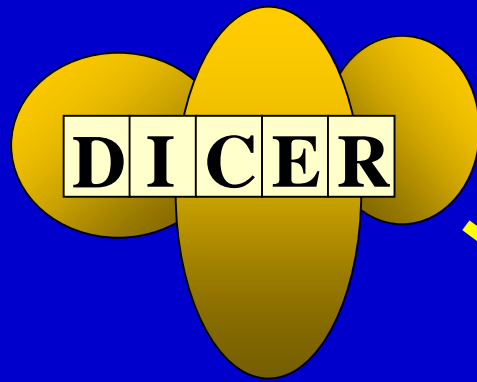
RISC

mRNS vágás

A növényi RdRP aberráns mRNS-ként ismeri fel azokat a transzkripteket, amelyeknek nincs cap-je vagy polyA farka, ilyenek az sRNS vágástermékek. RdRP ampl. regulált, különben 1 hibás mRNS minden hasonló mRNS-t eltüntetne.

A szisztemikus növényi RNS silencing

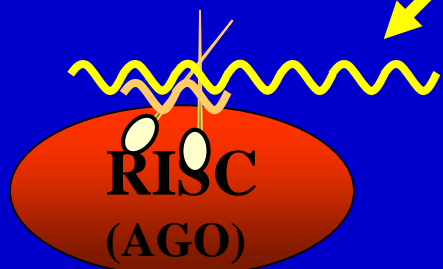
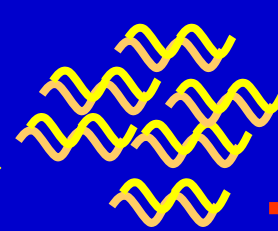
Sejt-autonóm
RNA silencing



dsRNS



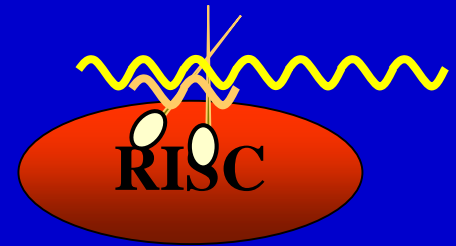
sRNS



A homológ mRNS hasítása
(vagy transzlációs gátlása)

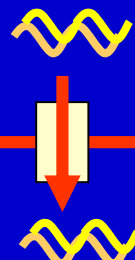
Plasmodezma

Rövid távú szisztemikus
RNS silencing



hosszú távú szisztemikus
RNS silencing

Phloem



Felső levelek

A vírusok a növényi RNS silencing ideális célpontjai

Transzláció

Vírus + RNS

Viral RdRP

- RNS

Viral RdRP

vírus dsRNS

Viral RdRP

Replikáció

vírus dsRNS

D I C E R

sRNS Plasmodezma

RISC

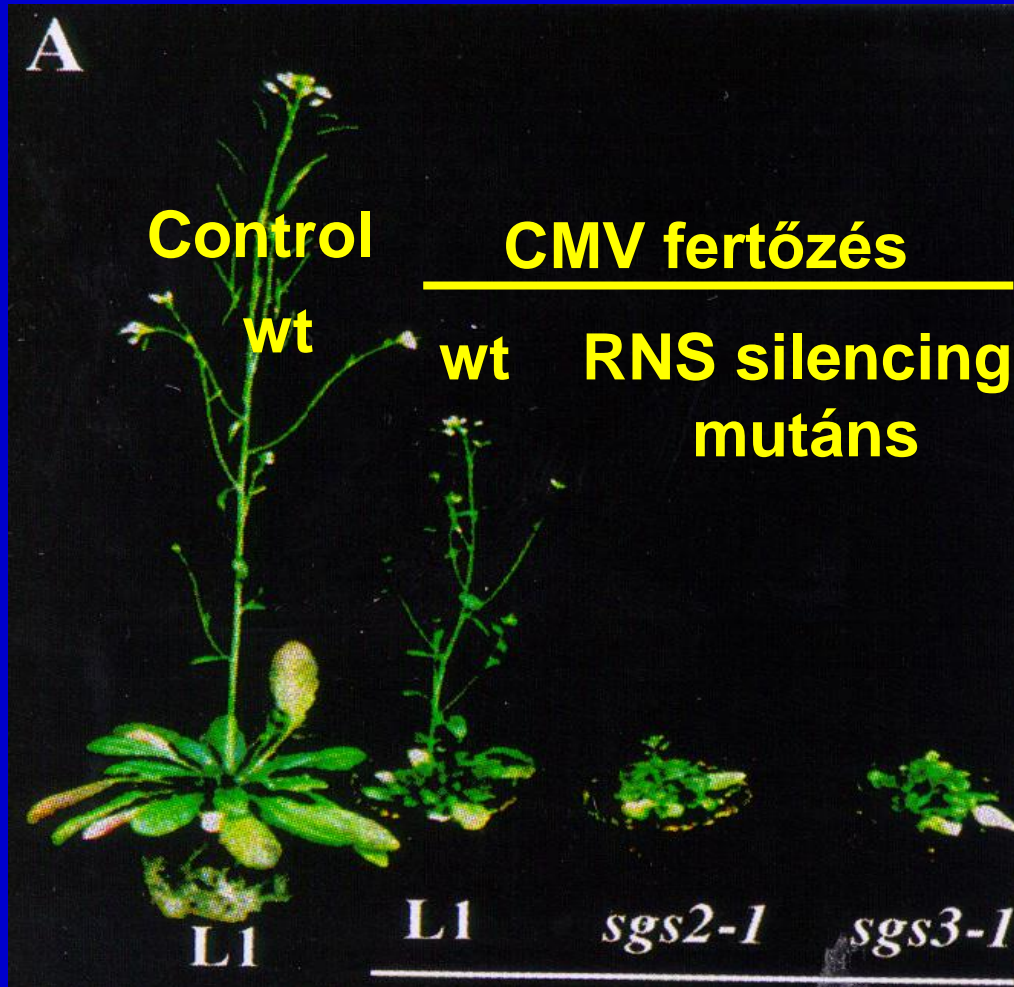
RISC

Vírus RNS degradáció

RISC

Szisztemikus RNS silencing

Az RNS silencing valóban antivirális rendszer növényekben?



A növényi RNS silencing egy hatékony antivirális rendszer!

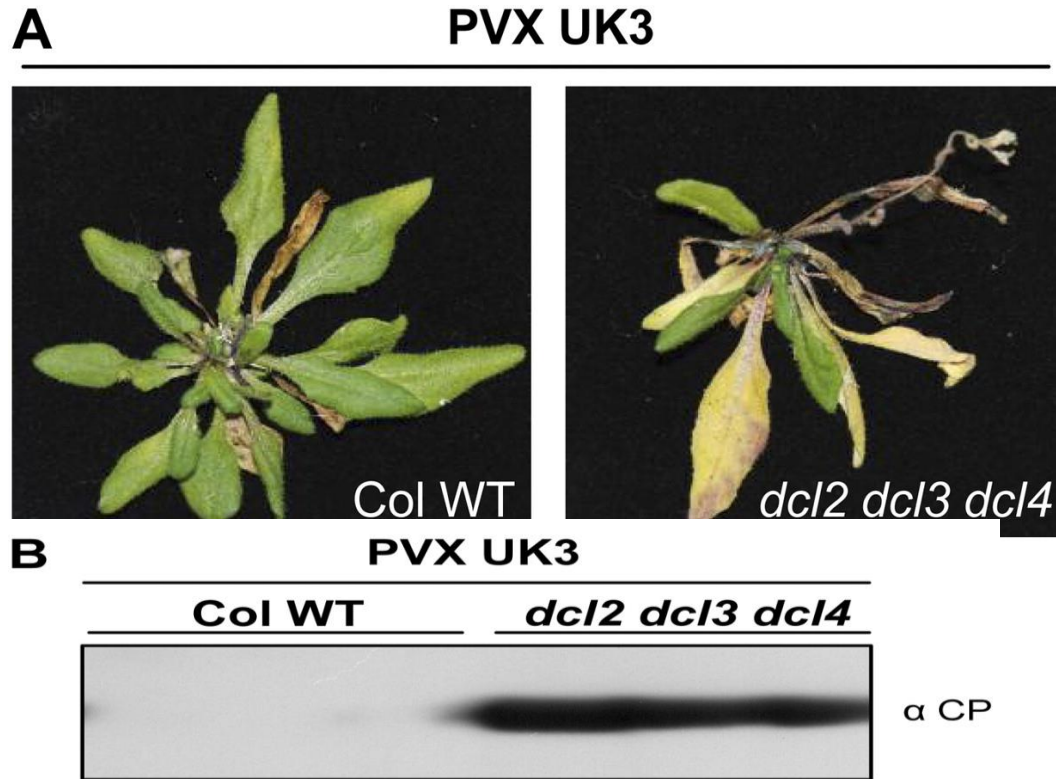
Vaucheret *et. al.*, Cell 2000

Mennyire hatékony antivirális rendszer az RNS silencing?

A legtöbb vírus egyáltalán nem fertőzi a legtöbb növényt - non-host
Szerepet játszhat-e ebben az RNS silencing?

PVX-Arabidopsis non-host kapcsolat

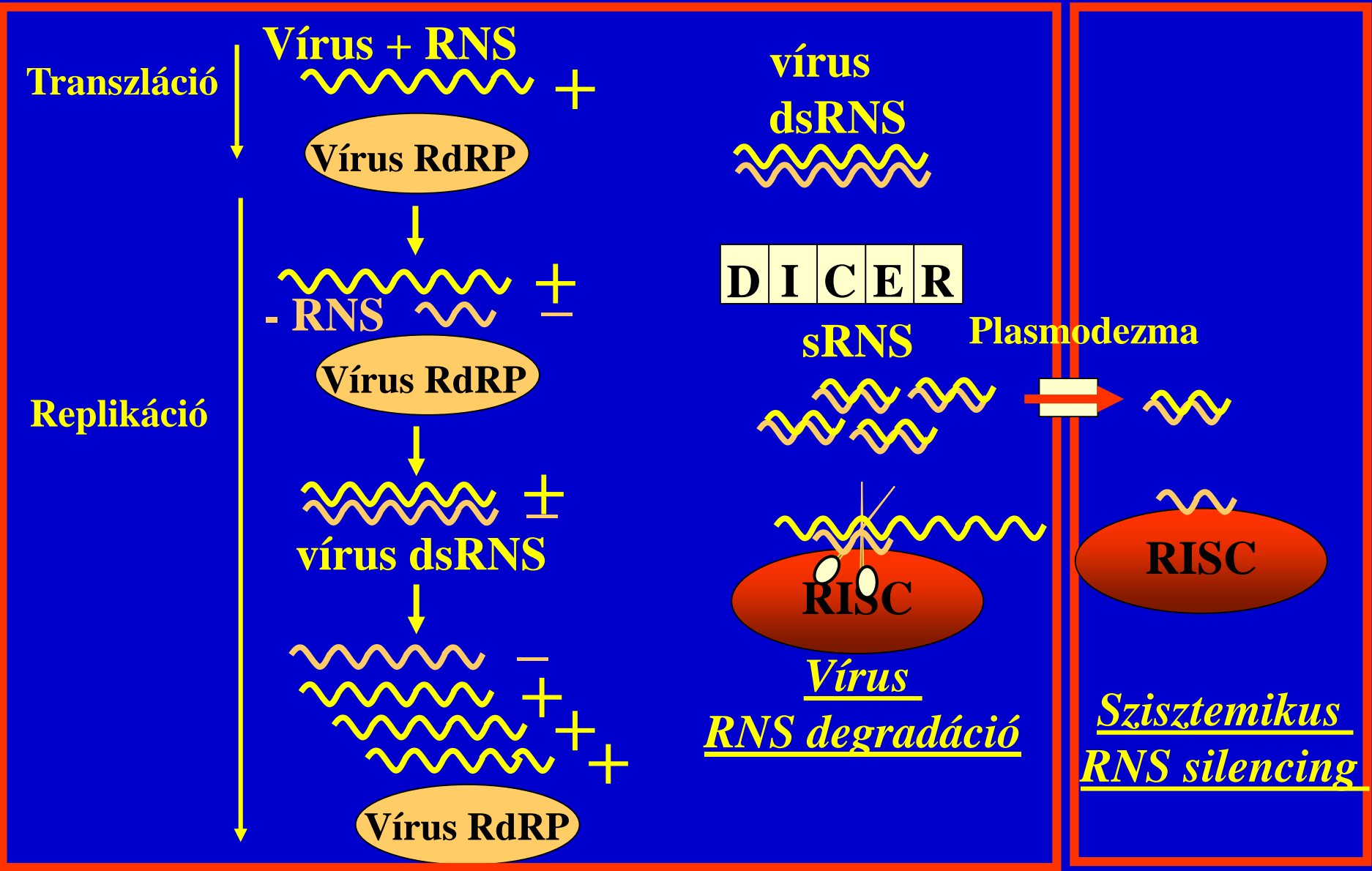
Teszt: PVX képes-e fertőzni a silencing (DICER) mutáns Arabidopsist?



Jaubert M
et al. Plant Physiol. 2011;

Az RNS silencing egy rendkívül hatékony antivirális rendszer, amely (teljes) non-host védelemet biztosíthat!

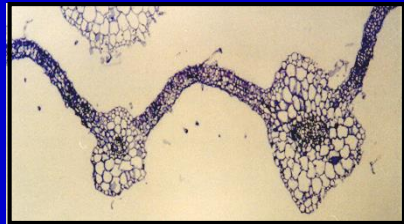
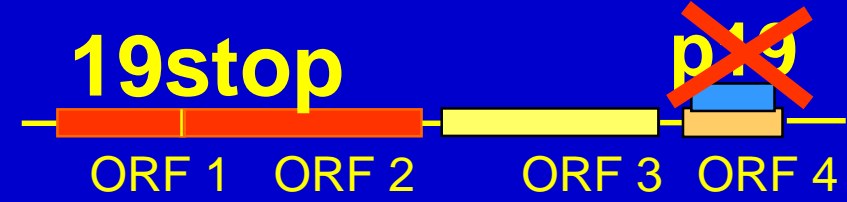
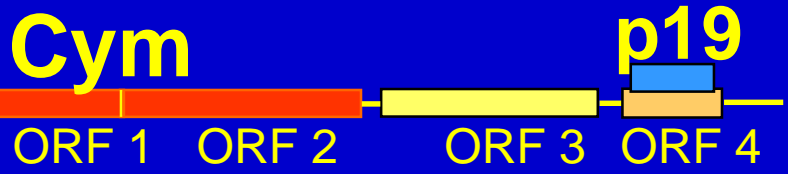
Miért győzhetik le a vírusok az RNS silencing rendszert?



- A vírus előnyben, mert a silencing akkor aktiválódik, amikor a vírus már fertőz!!!
- A vírusok aktívan is harcolnak, silencing szupresszor fehérjéket termelnek!

Hogyan győzhetik le a vírusok az RNS silencing-et?

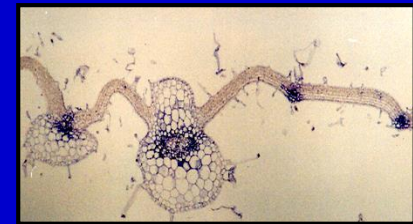
N. benthamiana- *Cymbidium ringspot virus* (Cym) model rendszer



Cym
a szisztem. Levélben



Recovery

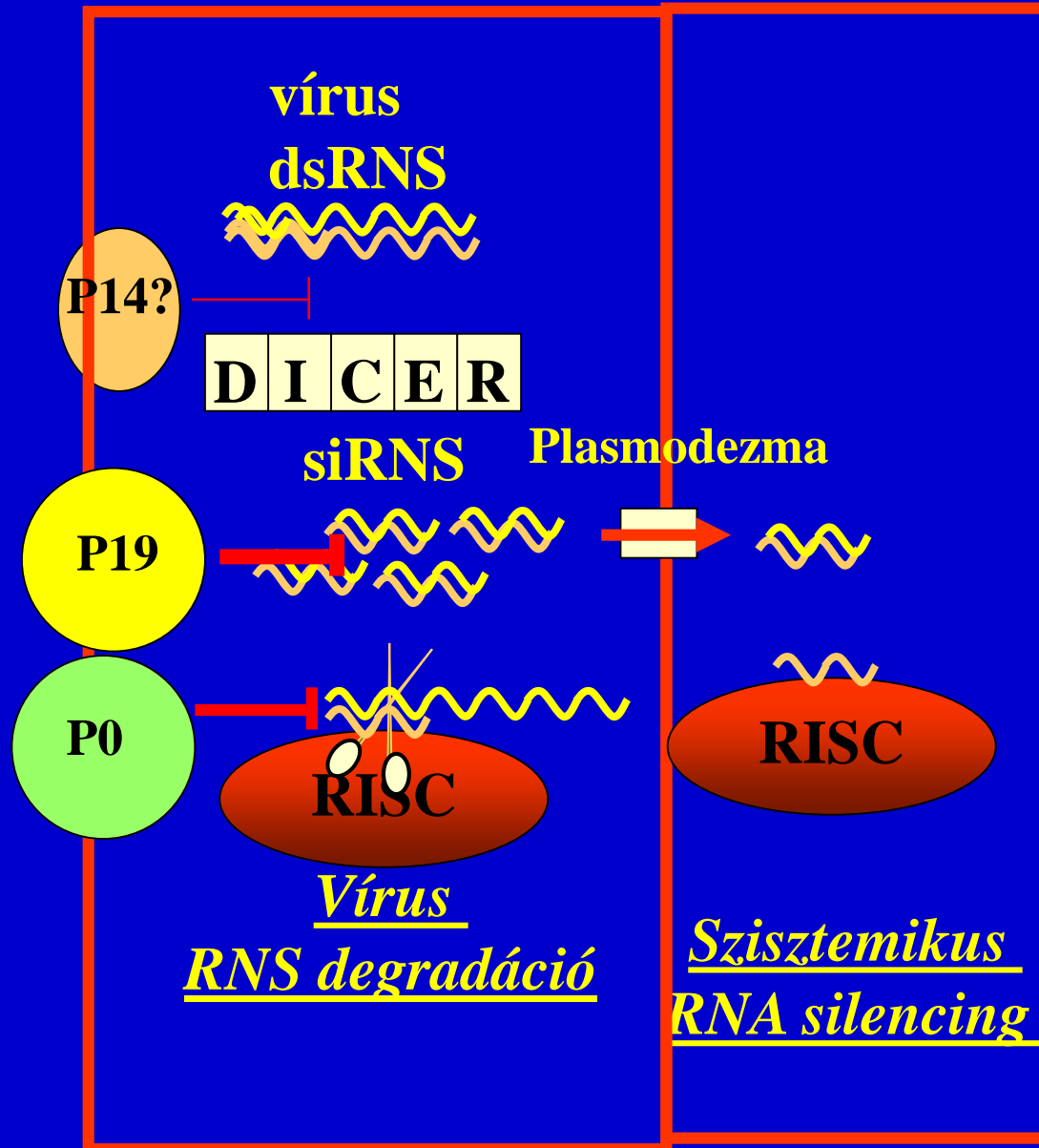


19stop
a szisztem. Levélben



A p19 silencing szupresszor kell a hatékony szisztemikus fertőzéshez!

A legtöbb növényi vírus expresszál RNS silencing szupresszort!



Evolúciós fegyverkezési
verseny elmélet

A különböző RNS silencing szupresszorok eltérően hatnak!

Az RNS silencing hiába a növények talán leghatékonyabb antivirális rendszere, nemesítésre nem jó, nincs fajon belül variáció.

De a silencing rendszer megértése hozzásegíthet, hogy hatékonyabb vírusellenálló növényeket hozzunk létre!!!!

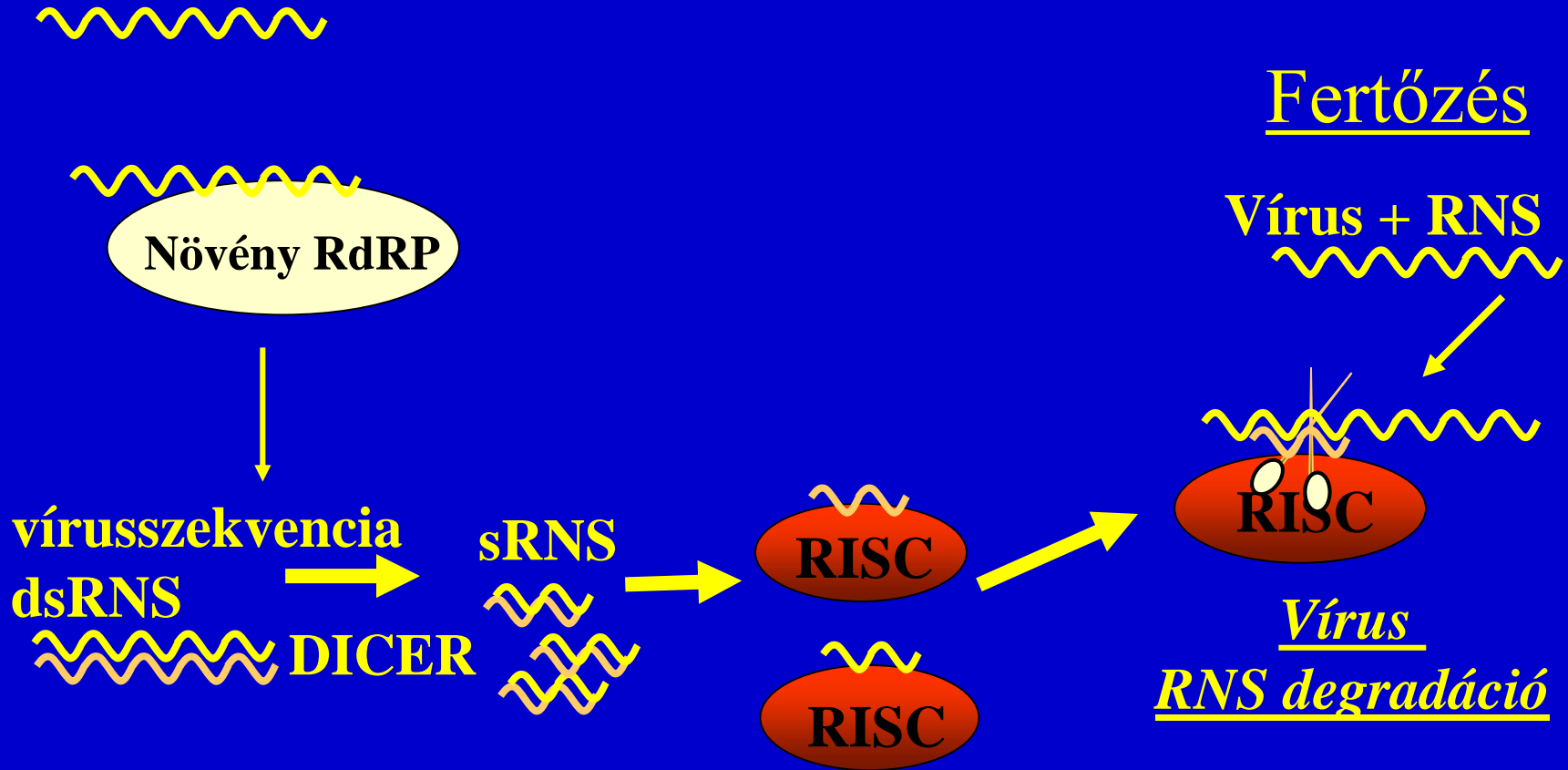
**Miért eredményezett védettséget a TEV
nem-transzlálható cpRNS-ének
transzgénikus dohány növényekbe való termeltetése????**

A TEV cpRNS hibás mRNS lehetett, az RdRP dsRNS-t írt róla.

Transzgénikus vírus rezisztens növények 1.

Virális RNS transzgénről expresszálatva-védettség (TEV)

Transzgén, cpRNS TEV, aberráns RNS íródott róla-szerencsére

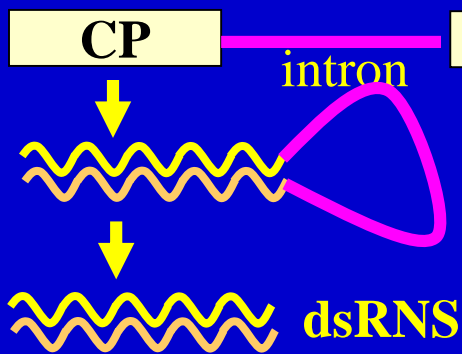


Virális sRNS-sel aktivált RISC folyamatosan jelen van, ha a vírus belép, azonnal elvágja.

Transzgénikus vírus rezisztens növények 2

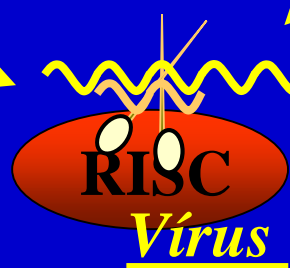
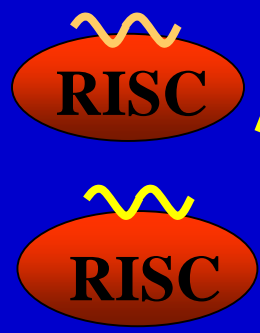
Virális szekvenciák fordított ismétlődésként transzgénről expresszálatva

**Transzgén, cpRNS TEV
aberráns virális RNS**



**Transzgén, vírusdarab
fordított ismétlődésben
Hairpin RNS**
(lásd köv. 2 magyarázó ábrát is)

**vírusszekvencia
dsRNS**



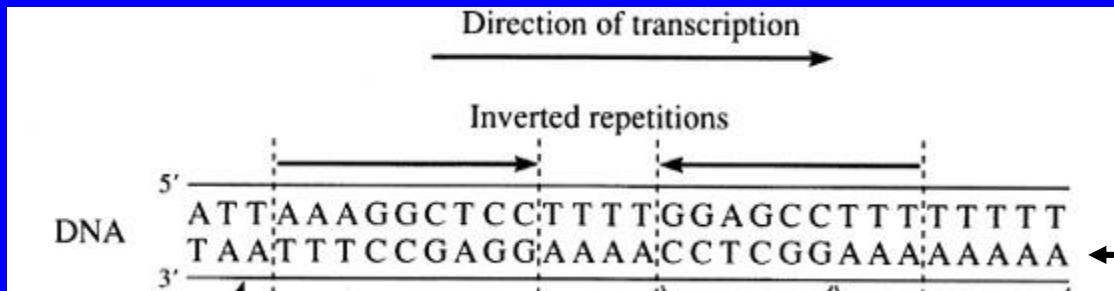
Fertőzés

Vírus + RNS

RNS degradáció

*Jóval hatékonyabb, dsRNS képzéshez nem kell RdRP!!!! Több sRNS,
Több virális sRNS-RISC, hatékonyabb védettség!!!*

Miért vezet egy DNS-darab fordított ismétlődésként (inverted repeat-ként) történő beépítése kvázi kétszálú, a DICER által hasítható hairpin mRNS képződéshez?

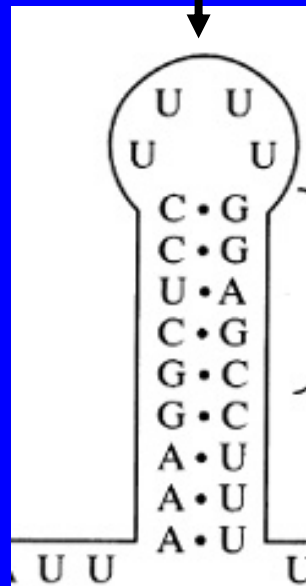


fordított ismétlődés (inverted repeat)

Kódoló szál

transzkripció

hairpin mRNS



A hairpin mRNS-eket a DICER dsRNS-ként ismeri fel, és darabolja



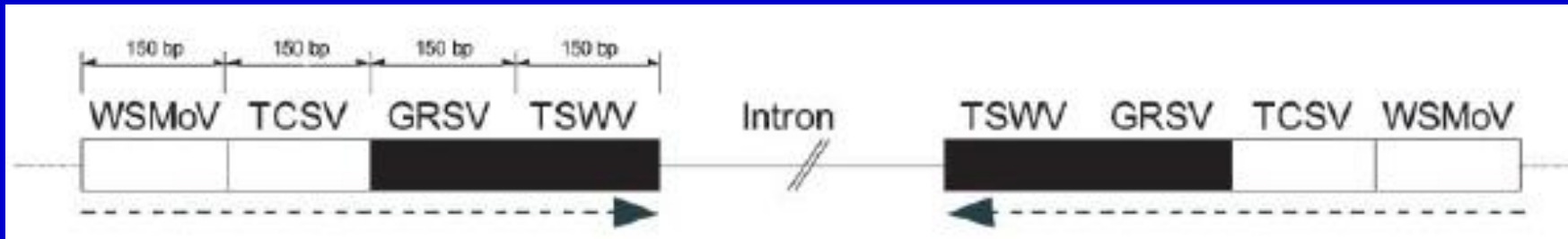
A virális szekvenciát fordított ismétlődésként építjük be, közé pedig egy intron szekvenciát teszünk (ez utóbbi csak ajánlott, nem szükséges).

Az intron segíti a hairpin mRNS sejtmagból citoplazmába történő exportját.

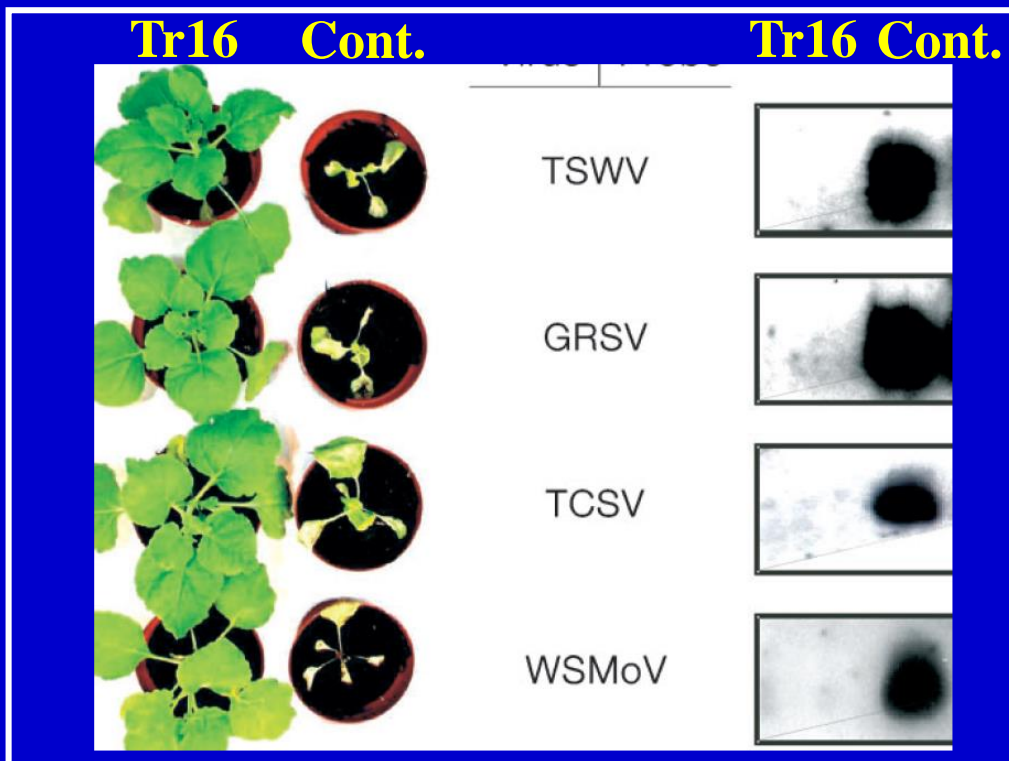
Az inverted repeatről hairpin mRNS képződik, ezt a DICER nagyon hatékonyan hasítja sRNS-ekre.

Transzgénikus multivírus rezisztencia

Tospoviruses gazdaságilag fontos negatív szálú vírusok.



A transzgén egy-egy darabot ford. ismétlődésként hordoz 4 eltérő Tospovírusból.



Line	Inoculated virus(es) (% resistance)				
	TSWV	GRSV	TCSV	WSMoV	Mix
IR-OUT4	100	100	100	100	83
IR-OUT5	0	20	11	10	0
IR-OUT6	100	100	100	100	100

Számos vírus ellen egyidejű védelem érhető el !!!

A silencing rendszer megértése hozzásegít, hogy hatékonyabb vírusellenálló növényeket hozzunk létre!!!!

Vírusellenálló transzgénikus vonalak

Előnyök.

- transzgénikus úton, gyorsan, akár több vírus ellen is stabil és hatékony rezisztencia alakítható ki, minden transzformálható növényben!!!!**
- A védettség mechanizmusa jól értett, könnyen fejleszthető (hairpin), újratervezhető,ha új igények vannak , pl. multirezisztencia, új vírus felbukkanása**
- egy transzgénikus konstrukció akár több fajba is bevihető, ha azonosak a vírusaik (tökfélék)**
- számos esetben nincs sem védekezési mód, sem hagyományos nemesítési alternatíva (pl. papaya)**

Mégis, nagyon kevés vírusellenálló növény a piacon! Miért?

Vírusellenálló transzgenikus növények 1,

Gyorsan, számos gazdanövénybe beépítették egy, illetve több vírus CP-jét vagy cpRNS-ét. Sok változatos vírusellenálló vonal, mindenféle növényi vírus ellen (+ssRNS, -ssRNS dsRNS, ssDNS, dsDNS).

Nagyon sikeres programok, szinte mindenhol hatékony rezisztencia.

Piacra jutás nagyon nehéz, kevés vírusellenálló fajta, mert

- a transzgenikus vonal hozama, minősége nem romolhat
 - versenyképes fajtákba kell bevinni
 - a víruskártételnek komolynak kell lenni
 - a transzgenikus növény bevezetéséhez a szükséges tesztek rettenetesen drágák
 - vásárlók elfogadják
- Ma alig néhány vírusellenálló fajta a piacon
- USA: **vírusellenálló papaya**, illetve tökfélék, tök, (zucchini, sárgadinnye),
- Kína: vírusellenálló paradicsom, paprika, illetve papaya

Vírusellenálló Papaya 1,

*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

Vírusellenálló Papaya-USA

USA- Fő papaya termelő vidék Hawaii.

PRSV- *Papaya ringspot virus* (potyvirus). Úgy tűnt teljesen elpusztítja a papaya termesztést. CP-transzgenikus növények 1998.

Elfogadottság:2000 42% transzgenikus, 2006 90%

Papaya infected
with the papaya
ringspot virus



Virus resistance
gene introduced

Vírusellenálló transzgénikus vonalak veszélyei

1, A vonal rossz, nem védi a növényt.

Ezek nagyon megbízható vonalak, a rezisztencia erős!!!

2, A rezisztencia nem tartós.

Rezisztencia törést eddig csak üvegházban tapasztaltak!!!

3, A transzgénikus CP rekombinálódhat más vírussal.

Ez elvben igaz, eddig ilyet nem láttak. De természetben az együttfertőzés gyakori, ott sokszor valószínűbb a rekombináció!!!

4, A transzg. CP más vírus RNS-eit is becsomagolhatja, veszélyes új vírus jöhet.

Elvben ez is lehet, de lásd 3. pontot. Az RNS-alapú PDR-nél elvben sem lehet!!!

5, A transzgén pollennel kijut, vírusellenállóvá teszi a vad rokon növényt.

Igaz, ha van rokon ,amelynek a féken tartásában a vírus komoly szerepet játszik, nem használni!!!

6, Kimerítheti a gazda védelmi rendszerét, más patogénekkal szemben fogékonyabb lesz..

Ezt sem tapasztalták eddig.!!!

Az RNAi (RNS silencing) rendszer

A silencing rendszer egy ősi eukarióta génszabályozási mechanizmus, amely kétszálú (double-stranded, ds)RNS-ek hatására indukálódik és a dsRNS-sel homológ nukleinsavak inaktiválása, elsősorban a homológ mRNS-ek specifikus lebontása révén a hasonló gének specifikus és nagyon hatékony inaktivációját, silencing-jét eredményezi. A rendszer specifitását rövid 21-26 nt RNS-ek adják!!!!

Az RNAi (silencing) rendszer jelentősége

Az RNAi rendszer felismerése alapvetően változtatta meg az eukarióta génszabályozásról, az RNS-ek szerepéről alkotott képet

Páratlanul hatékony eszköz a gén-funkció
kapcsolat megállapítására

Óriási gyakorlati jelentőség

*Az RNS-alapú transzgénikus vírusrezisztencia
(RNS-alapú PDR) ezen alapszik.*

A mRNS stabilitását biztosító Cap-PABP ribonukleoprotein (RNP) komplex felépítése

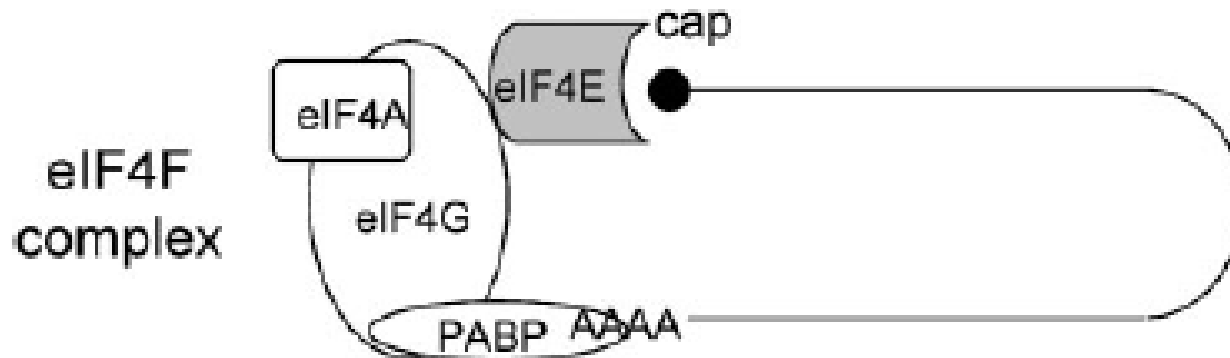


Fig. 6. eIF4E and the eIF4F complex. eIF4E together with eIF4G and eIF4A are part of the complex, eIF4F. PABP = poly(A)-binding protein. mRNA is shown 'circularized' with its cap and poly(A) ends identified.

A cirkuláris struktúra

- transzláció iniciációját segíti,**
- védi a mRNS-eket az exonukleázoktól!**

Recesszív monogénes vírus rezisztencia 1,

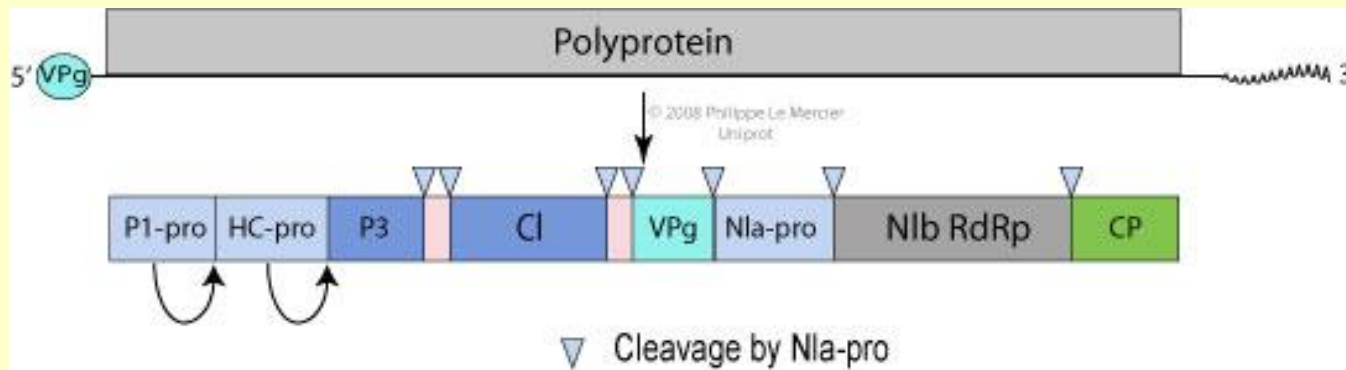
R-gén alapú rezisztencia gyakori mindenféle patogénnel szemben

Recesszív monogénes főleg csak virális patogének ellen hasznosak.

A vírusok a gazda génexpr. rendszerét használják.

Model: rec. rezisztencia passzív, a gazda egyik olyan faktora hiányzik, ami a vírusnak kell

Rec. Monogénes rezisztencia ritka (~20%) kivéve a Potyviruses ellen(>50%)!



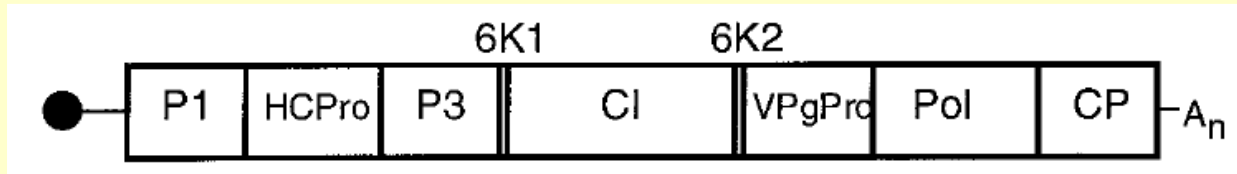
Monopartite, linear, ssRNA(+) genome of 10 kb in size.

3' terminus has a poly (A) tract. 5' terminus has a genome-linked protein (VPg).

Az egyik legnagyobb és gazdaságilag legfontosabb növényi vírus család

Recesszív monogénes vírus rezisztencia 2,

Miért a Potyvirusok ellen hatékonyak a Rec. rezisztenciagének?



Azonosítani potyvirus fehérjékkel interaktáló növ. fehérjéket

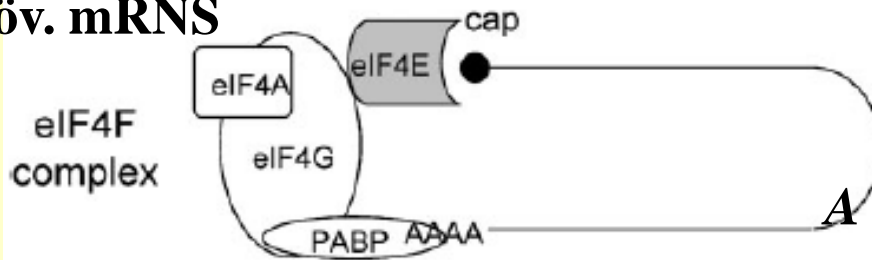
Az 5' véget kötő Vpg interaktál az eIF4E vagy az eIF(iso)4E proteinekkel!!!



Witmann *et. al.*, Virology 1997

Eukariótákban az eIF4F-PABP (closed-loop) kapcsolat kell a mRNS stabilitásához és a transzlációhoz

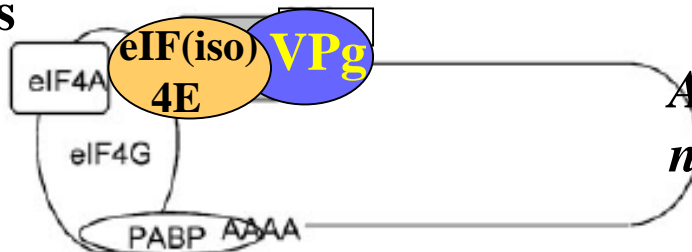
Növ. mRNS



Model

A Vpg talán ahhoz kell, hogy a Potyvirus mRNS-en a closed-loop struktúra létrejöjjön.

potyvirus RNA

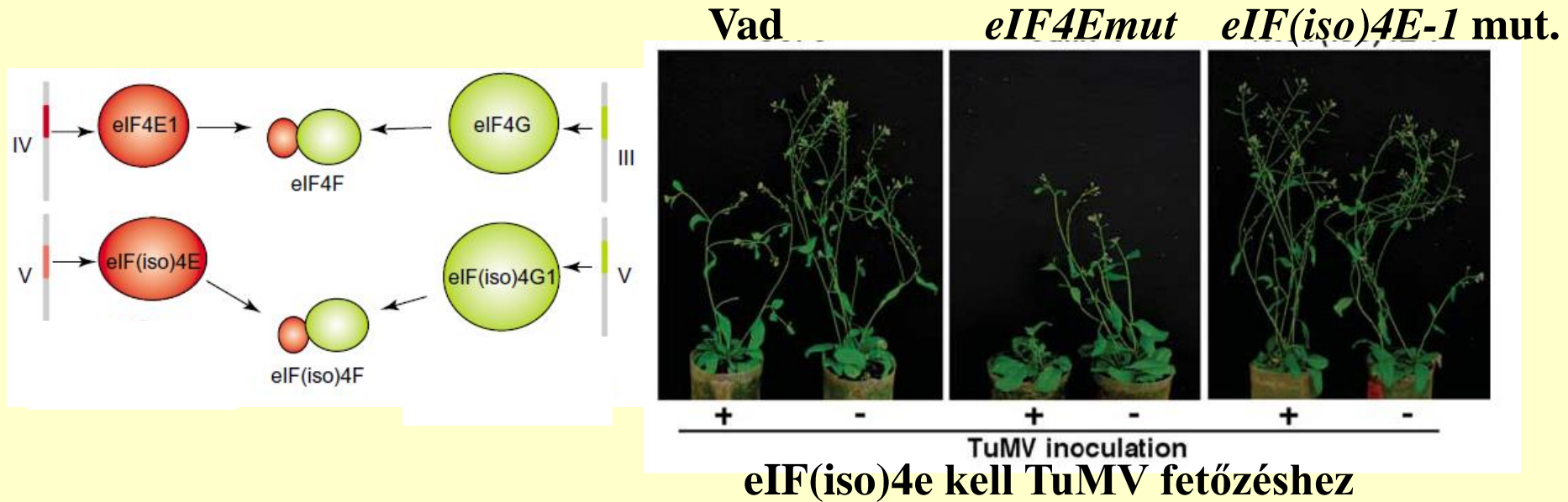


A rez. mutáns növény talán egy Vpg-vel nem kapcsolódó eIF4E változatot termel.

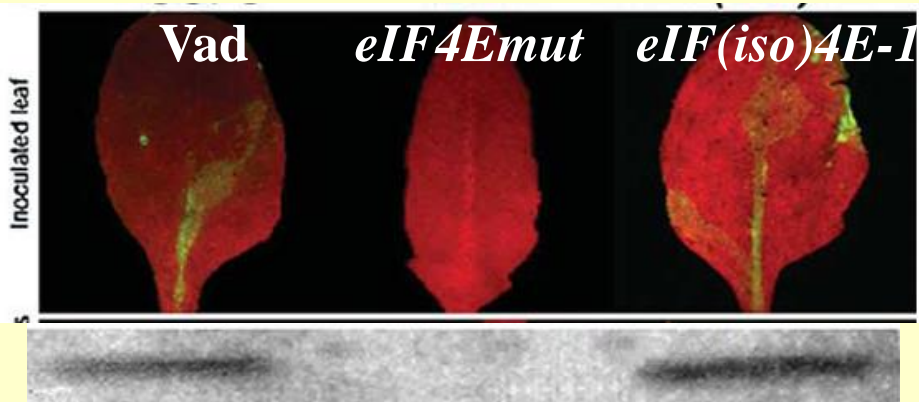
Recesszív monogénes vírus rezisztencia 3,

Növényekben többféle eIF4E és eIF4G van.

Melyik kell a különböző potyvirus fertőzésekhez? TuMV és CLYVV potyvírusok



**CIYVV (clover yellow vein) potyvirus
beépítve GFP**



*A különböző potyvírusok eltérő
eIF4E faktort igényelnek a replikációhoz.*

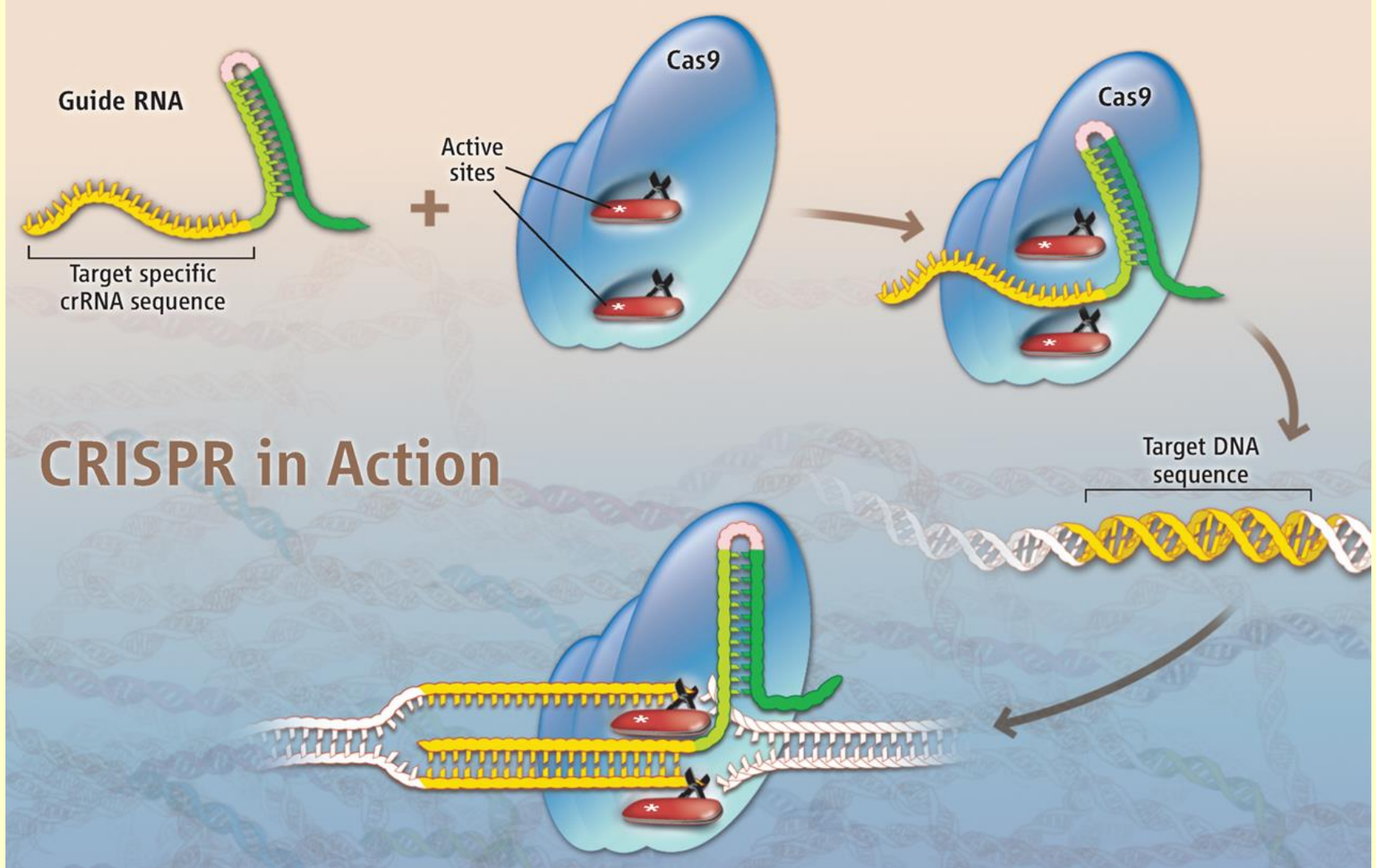
Sato et. al., FEBS Lett. 2005

-eIF4E vagy eIF(iso)4E fehérjék kellenek az egyes vírusok replikációjához

-eIF4E vagy eIF(iso)4E hiány nem okoz komoly gondot

Azaz ha tudunk csinálni eIF4E vagy eIF(iso)4E hiányos növényeket, ezek minden az adott faktort igénylő vírus ellen ellenállóak lesznek

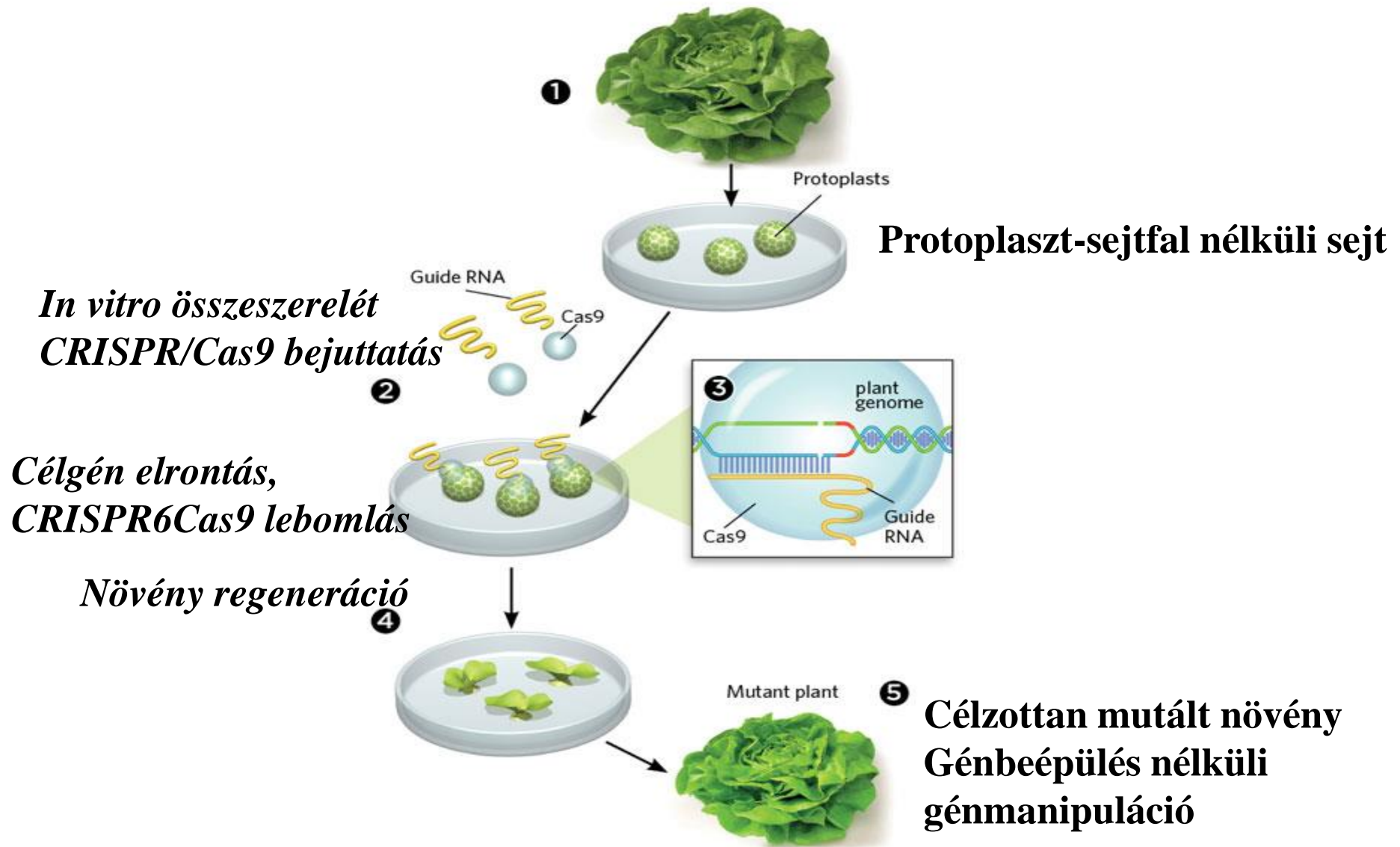
CRISPR/Cas9 rendszer-eredetileg baktériumok DNS vírusok védekezési rendszere, de eukariótákban hatékony, specifikus mutációs rendszerként használható!!!



Cas9 a guide RNS-sel komplementer régióban vágja a DNS-t, a reparáció során hibák, mutáció.

Ha egy növénybe bejuttatunk Cas9-et és egy guide RNS-t, a guide-dal komplementer DNS-t mutáltathatjuk

Génbeépítés nélküli CRISPR/Cas9 manipuláció növényekben



Engineering of CRISPR/Cas9-mediated potyvirus resistance in transgene-free *Arabidopsis* plants

DOUGLAS E. PYOTT, EMMA SHEEHAN AND ATTILA MOLNAR*

Institute of Molecular Plant Sciences, University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3JR, UK

Kísérlet:

CRISPR/Cas9 segítségével elrontani eIF(iso)4E-t *Arabidopsis*ban

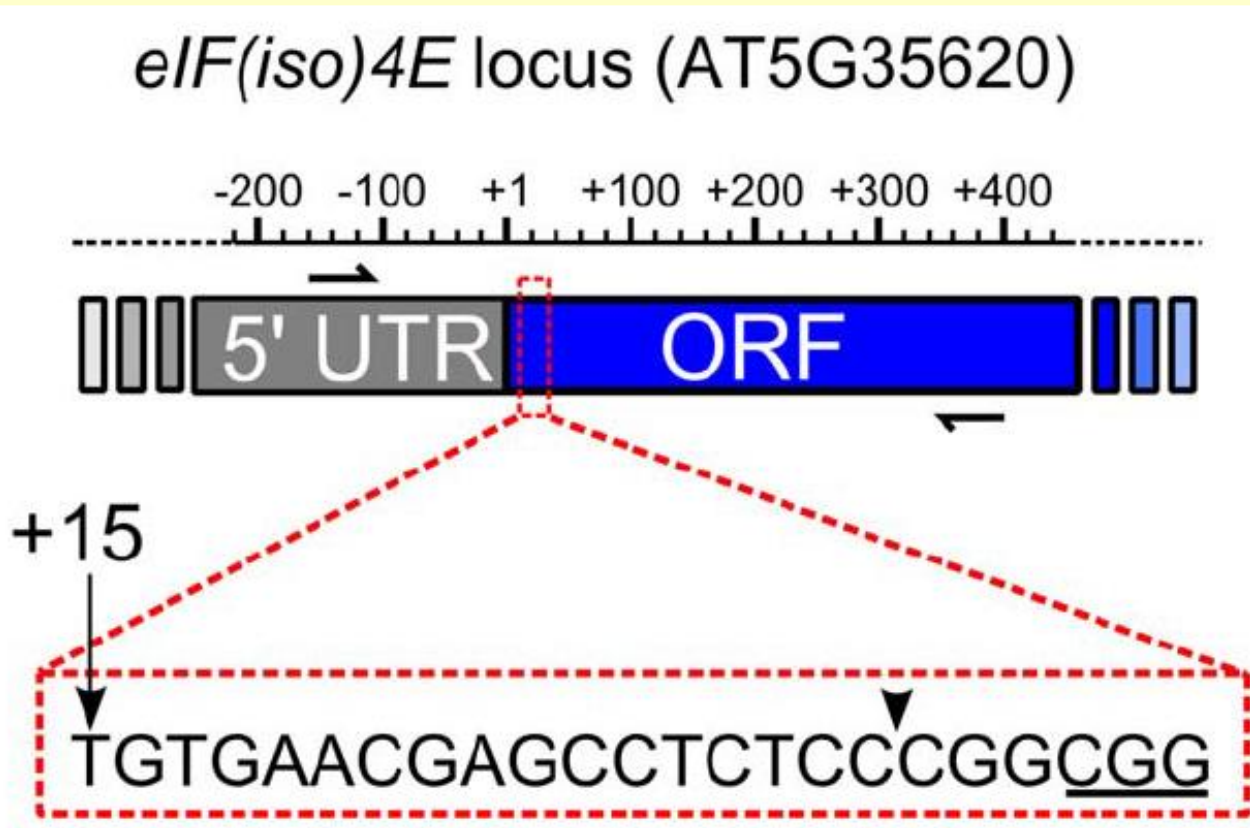
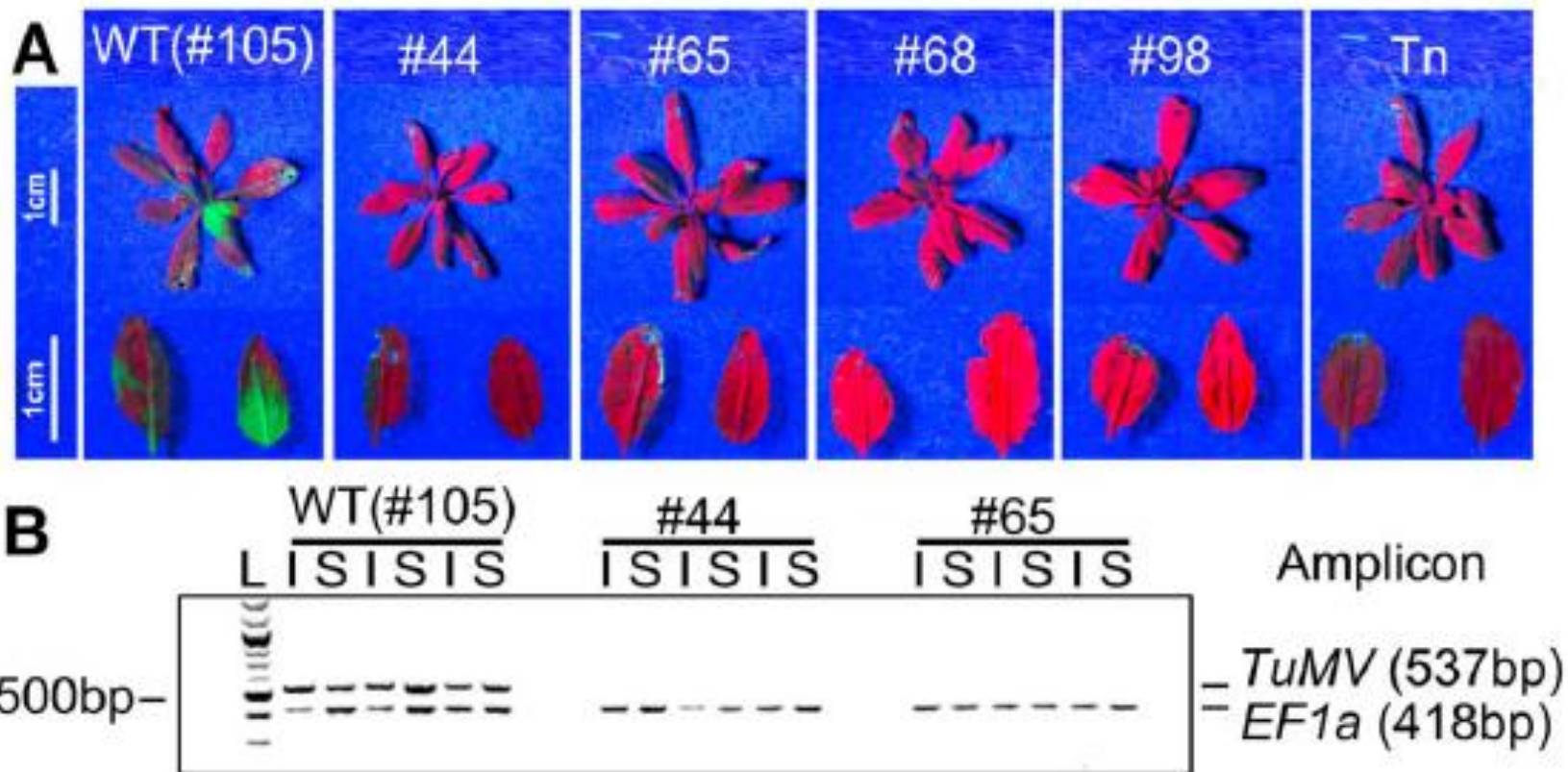


Fig. 1 Schematic diagram of the *eIF(iso)4E* locus targeted for editing by CRISPR/Cas9. Primers flanking the target site are shown by half arrows over

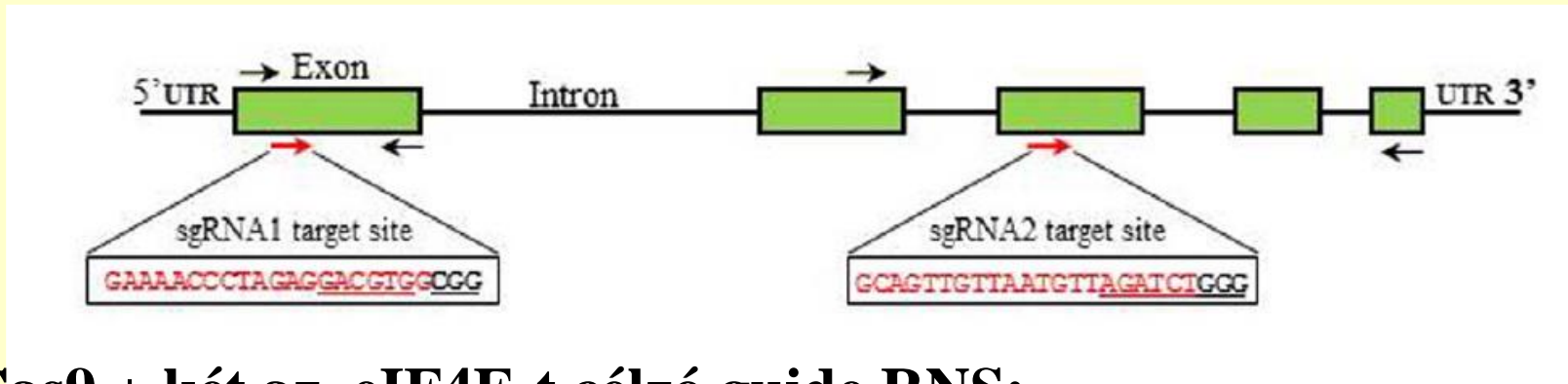
GFP termelő *Turnip mosaic virus* TuMV-potyvírus fertőzés



Homozigóta eIF(iso)4E mutánsok rezisztensek a TuMV ellen

Kísérlet:

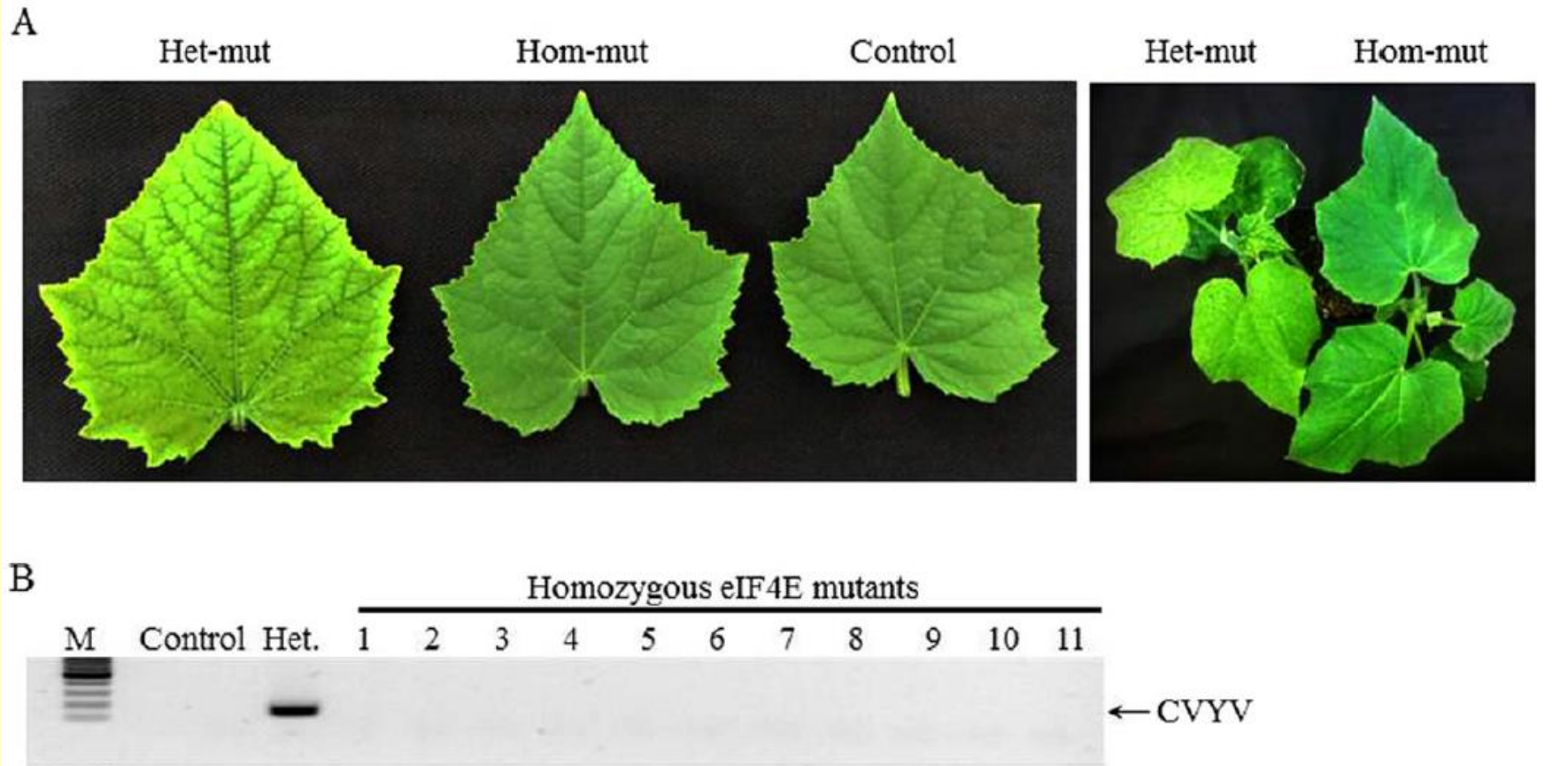
CRISPR/Cas9 rendszer segítségével elrontani eIF4E-t uborkában



**Cas9 + két az eIF4E-t célzó guide RNS:
heterozigóta és homozigóta mutánsok is**

Chandrasekaran ...Gal-on

Cucumber vein yellowing virus CVYV-ipomovírus fertőzés



A homozigóta eIF4e mutánsok teljesen rezisztensek az CVYV-vel szemben

RNS silencing alapú transzgénikus rezisztencia:

Minden vírus ellen alkalmazható

Több, teljesen eltérő vírus ellen hatékony

Domináns jelleg

*Transzgénnek a növényben folyamatosan működnie kell:
reguláció szempontjából mindenképpen transzgénikus*

CRISPR/Cas9 alapú transzgénikus rezisztencia:

*A genetikai módosítás utána transzgénnek nem kell jelen lenni:
reguláció szempontjából nem feltétlen transzgénikus*

Csak ott alkalmazható, ahol ismert a gazdafaktor ami kell a vírusnak (kevés ilyen)

Minden az adott faktort igénylő vírus ellen jó

Recesszív, csak homozigótaként működik

Amelyik vírus ellen van jó gazdafaktor, ott nagy jövő- keresés!!!!!!!

Rezisztencia-ellenállóság

RNS silencing- RNS interferencia- RNAi- Géncsendesítés

dsRNS- double-stranded RNS- kétszálú RNS, a silencing kiváltó molekula

sRNS- 21-25 nt small RNA, a silencing specifitás meghatározó eleme

RISC- RNA-Induced Silencing Complex, a silencing végrehajtó komplexe

RdRP (RDR) -RNA-dependent RNA Polymerase(RNS-függő RNS polimeráz), a silencing amplifikálásában játszik fontos szerepet

Aberráns transzkript- hibás átírási termék

Silencing szupresszor- A silencing rendszert gátló fehérje

Cap, polyA- a mRNS 5' és 3' végét védő struktúrák

Hairpin RNS- önmagával párt képző, dsRNS formát felvevő mRNS

CRISPR/Cas9 rendszer-rövid guide RNS irányította dsDNS vágó rendszer: irányított mutációra jó, de felhasználható célzott beépítésre is

A többi diára nem kerül sor, tájékoztató, természetesen nem kell tudni őket.

Fontos: a piacon lévő transzgénikus vírusellenálló növények részaránya a transzgénikus piaci növényekből nagyon-nagyon kicsi, így nem is került ábrázolásra.

Vírusellenálló Papaya 1,

*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

Vírusellenálló Papaya-USA

USA- Fő papaya termelő vidék Hawaii.

PRSV- *Papaya ringspot virus* (potyvirus). Úgy tűnt teljesen elpusztítja a papaya termesztést. CP-transzgenikus növények 1998.

Elfogadottság:2000 42% transzgenikus, 2006 90%

Papaya infected
with the papaya
ringspot virus



Virus resistance
gene introduced

Vírusellenálló Papaya 2,

2 fajta

-SunUP- homozigóta a CP-re

-Rainbow- heterozigóta CP-re- SunUp X nem transzgénikus Kapoho

*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

RNS-alapú PDR, mert CP fehérje nem mutatható ki, beépített cpRNS
RNS silencing célpont (kevés mRNS , sok sRNS).



Rainbow körülvéve nem-transzgénikussal

Rainbow

Vírusellenálló Papaya 2,

Mennyire ellenálló más törzsekre?

A Rainbow-ba és a SunUp-ba a Hawaii PRSV egy darabját építették.

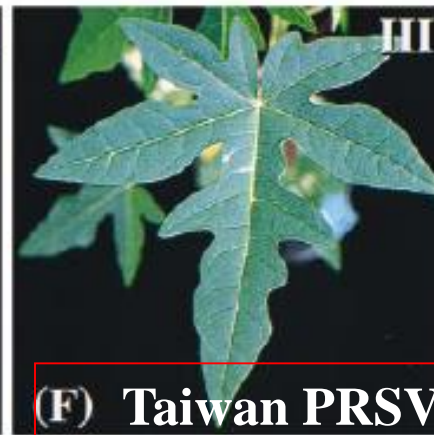
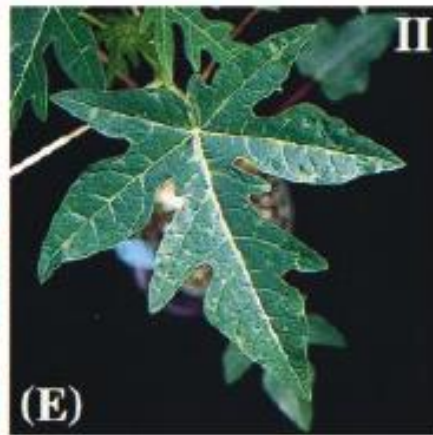
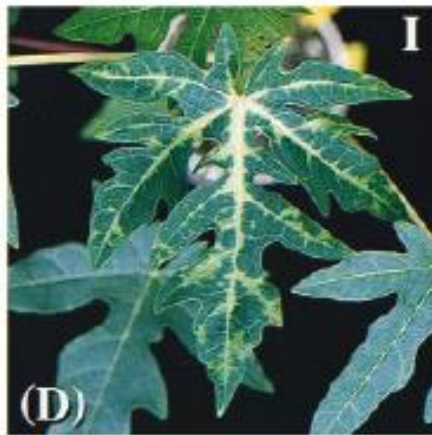
Fertőzés: Hawaii PRSV, illetve Taiwan-i PRSV-vel.

*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

Rainbow



SunUp



A homozigóta vonal ellenálló Taiwan-i törzsrre, a heterozigóta fogékony.
A fogékonyság tehát függ a vírus különbözőségétől, illetve a transzgénikus vonal hatékonyságától. Rezisztensek PRSV-re ha legalább 90 % szekvencia hasonlóság a CP régióban RNS szinten.

Vírusellenálló Tök 1,

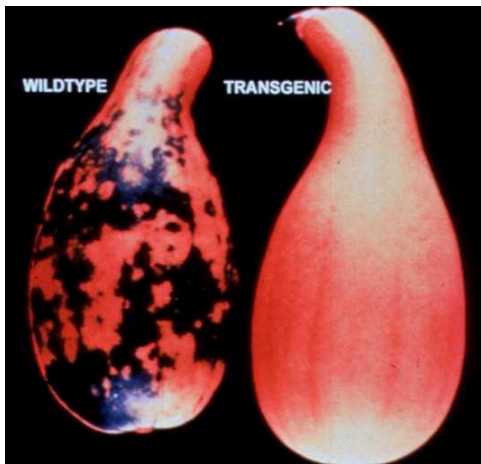
*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

1994- nyári tök ZYMV (*Zucchini yellow mosaic virus*) és WMV (*Watermelon mosaic virus*), illetve CMV (*Cucumber mosaic virus*) CP beépítés egyenként. Keresztezéssel 2 vagy mindhárom összeépíthető.

Hagyományos nemesítéssel beépítés több tökfélébe pl. öt zucchini fajtába. Azokban is működik, tehát a rezisztencia faktor nem fajta, faj specifikus. A rez. molekuláris alapja nem ismert (fehérje vagy RNS-alapú PDR).

Elfogadottság:

20%, de New Jersey-ben 70%



The Freedom II squash has a modified coat protein that confer resistance to zucchini yellows mosaic virus and watermelon mosaic virus II.

Scientists are now trying to develop crops with as many as five virus resistance genes

Vírusellenálló Tök 2,

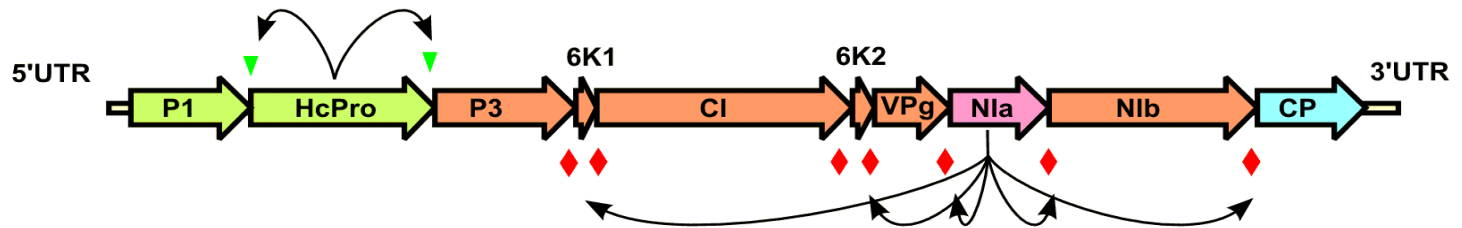
*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*



ZYMV és WMV fertőzés

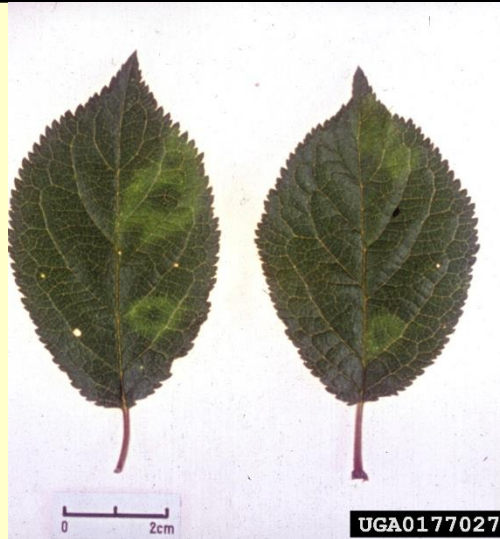
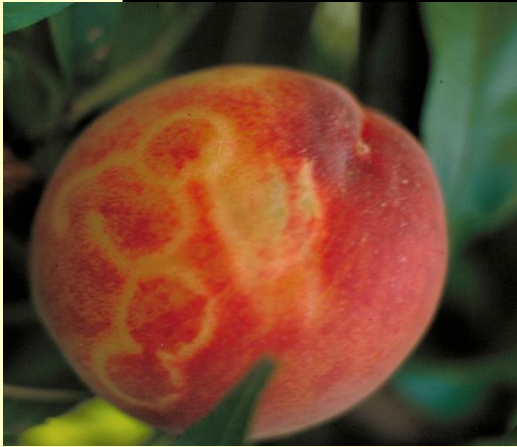
A fertőzés a hozamot és a minőséget is rontja

Vírusellenálló szilva



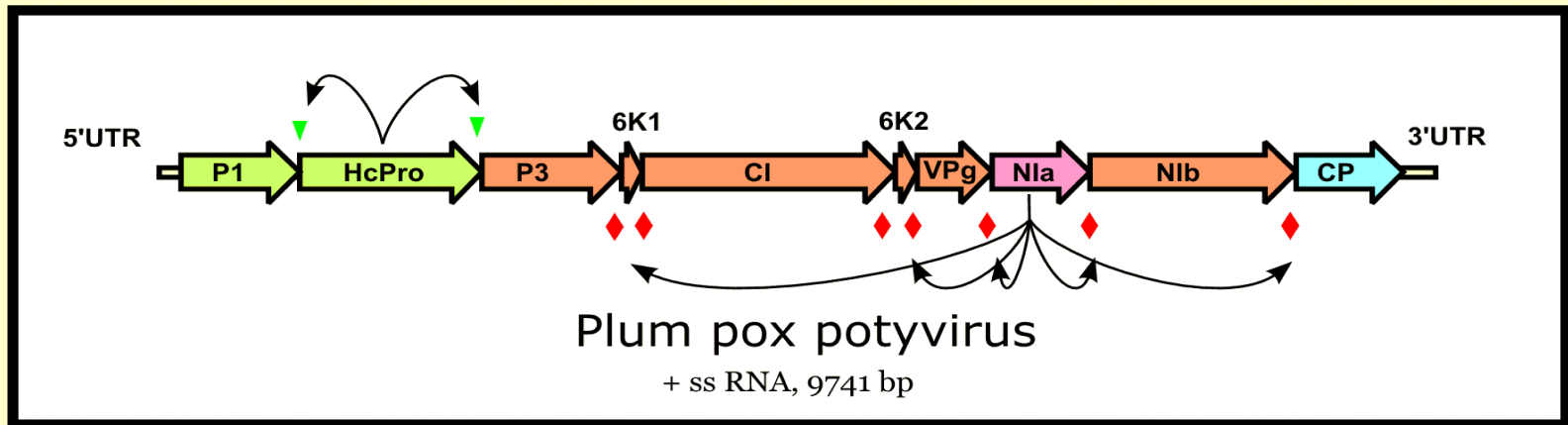
Plum pox potyvirus

+ ss RNA, 9741 bp



*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

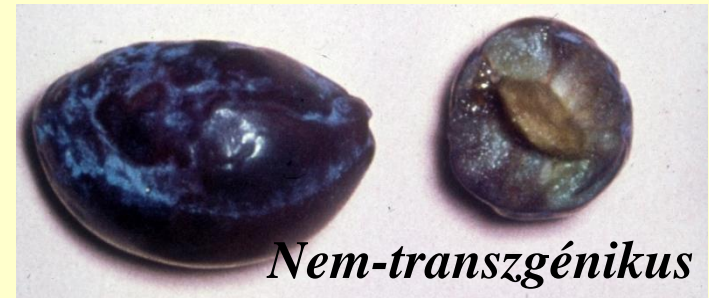
Vírusellenálló szilva



*C5-CP transzgénikus szilva vonal,
de itt is kiderült, hogy a kiválasztott rezisztens
vonal nem termel CP fehérjét, RNS silencingen
keresztül véd.*

*8 év field teszt, egy fa sem fertőződött.
Nem termesztik, Európában kéne de nem,
USA engedély van, PPV vírus nincs*

*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*



Vírusellenálló burgonya, *Tájékoztató dia, nem kell tudni, Val. nem lesz róla szó*

1998- két transzgénikus vírusellenálló burgonya vonal

-*Potato leafroll virus* PLRV rezisztens –itt a CP beépítés nem működött,
de a replikáz beépítés igen.

(ezt a vonalat keresztezték a a burgonyabogár rezisztens Bt transzgénikussal is)

-*PVY Potato virus Y* rezisztens- CP beépítés

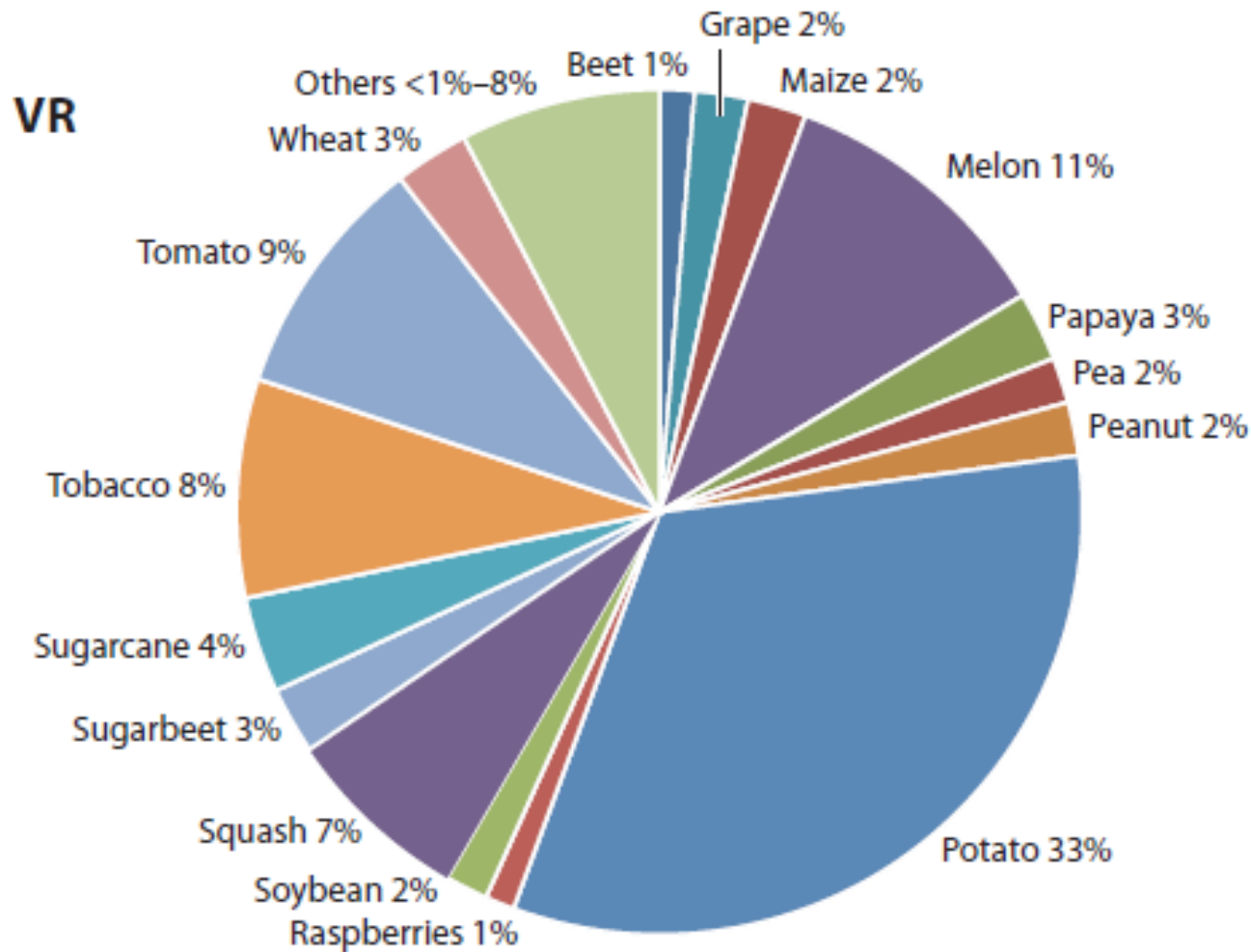
2001-ben kivonták, sok kritika, viszonylag kis piaci érték.



Tájékoztató dia, nem kell tudni,

Vírusellenálló tesztvonalak *id. nem lesz róla szó*

983 field test transzgenikus vírusrezisztens vonalakkal,



VIRCA (virus resistant cassava for Africa) project

Cassava-manióka, a trópusok krumplija

Kelet-Afrikában, a legszegényebbek fő tápláléka és megélhetési forrása

Két fő betegség: CMD (cassava mosaic disease) és CBSV (cassava brown streak disease)- 2-2 vírus okozza

CMD rezisztens vonalak vannak, CBSV ellenálló nincs

Két transzgénikus:

-CMD rezisztensbe beépítve CBSV-t okozó két vírus egy-egy darabja, fordított ismétlődésben

- Mindkettőre fogékonyba beépítve mind a négy vírus egy-egy darabja ford. ismétlődésként

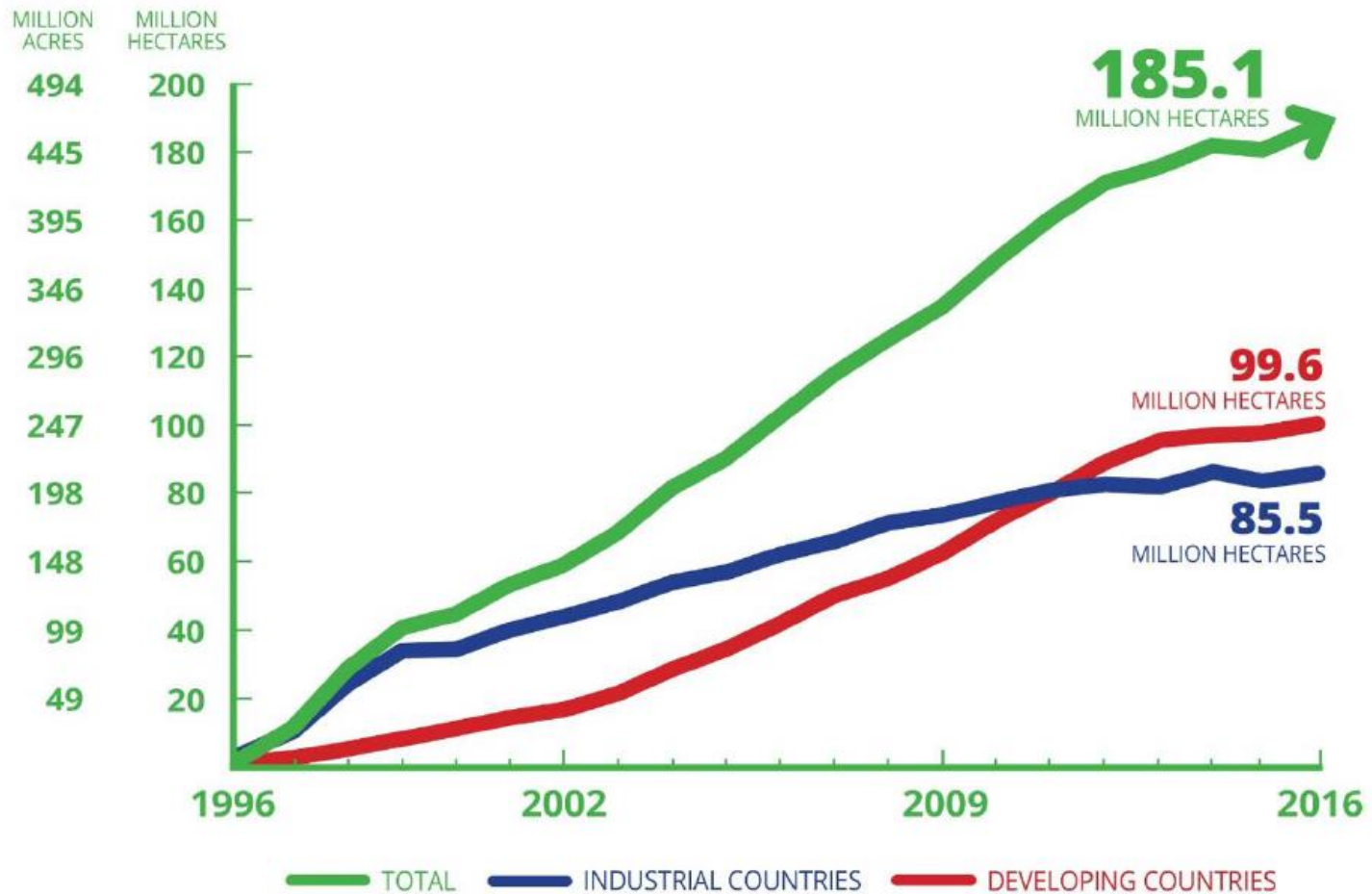
*Tájékoztató dia, nem kell tudni,
Val. nem lesz róla szó*

Talán a környezetvédők is elfogadják, mert:

-nincs alternatívája,

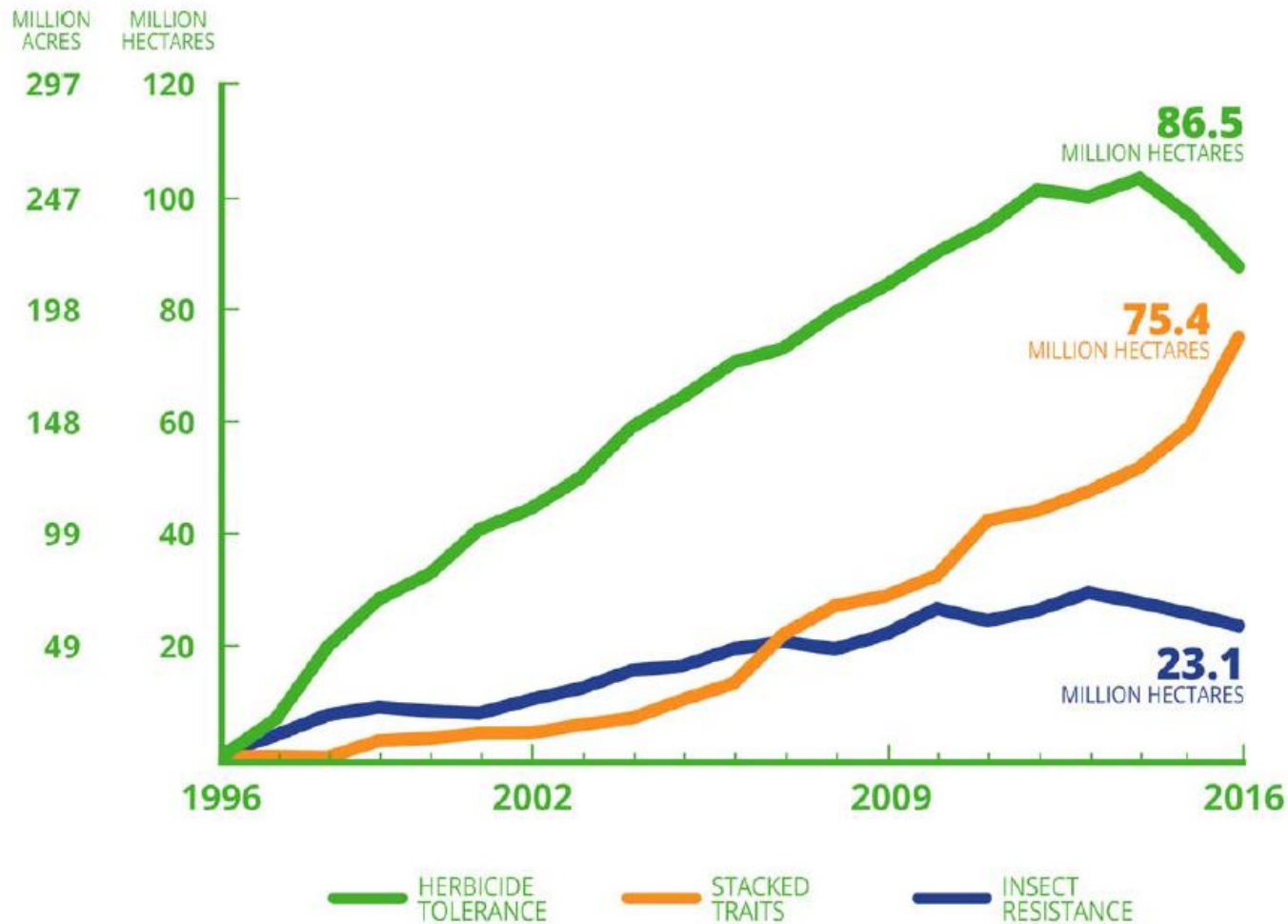
-nincs profit, csak állami forrásokból megy.

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2016: Industrial and Developing Countries (Million Hectares, Million Acres)



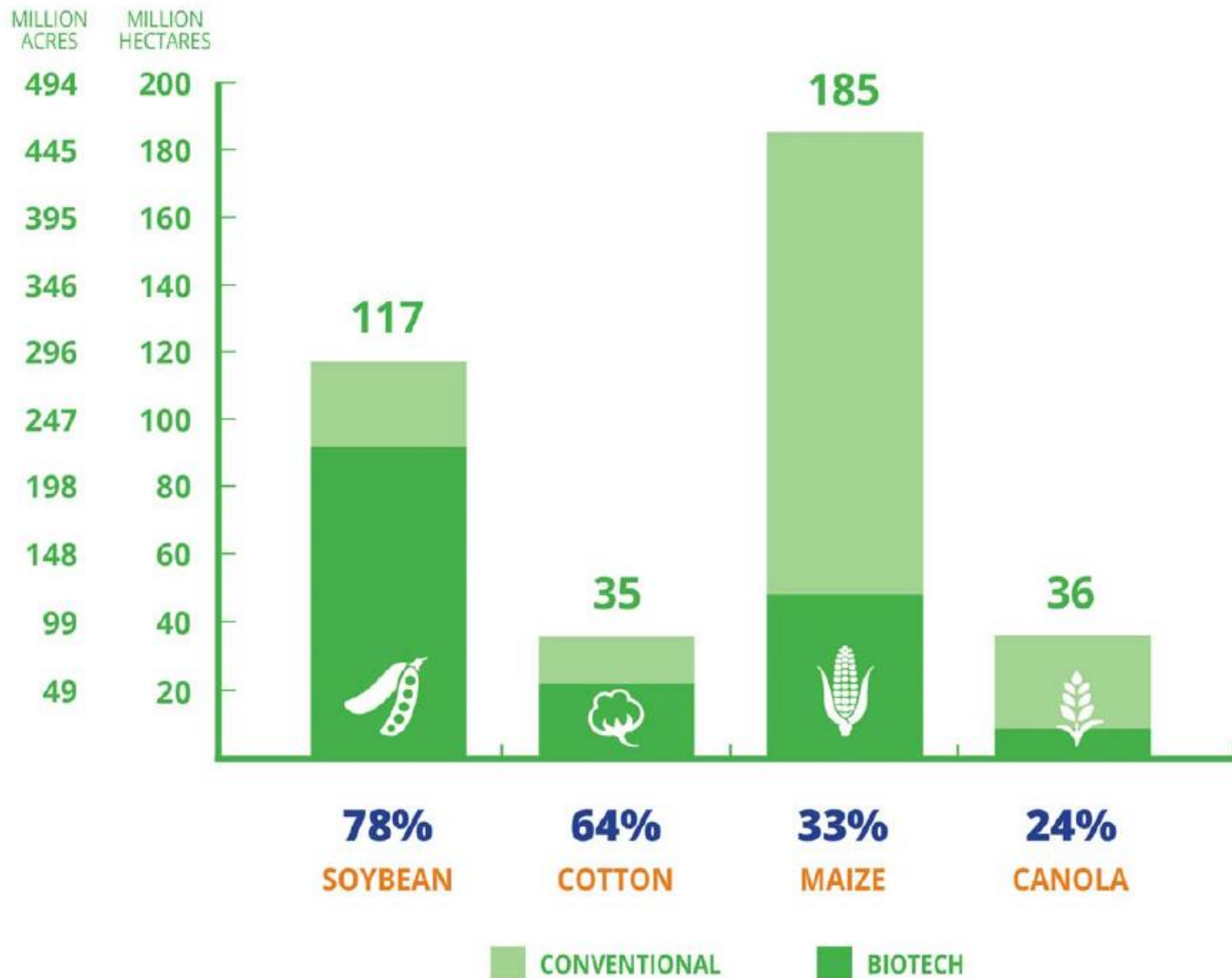
- Resumes high adoption at 185.1 million hectares
- ~110-fold increase from 1996
- 2.1 billion accumulated hectarage

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2016: By Trait (Million Hectares, Million Acres)

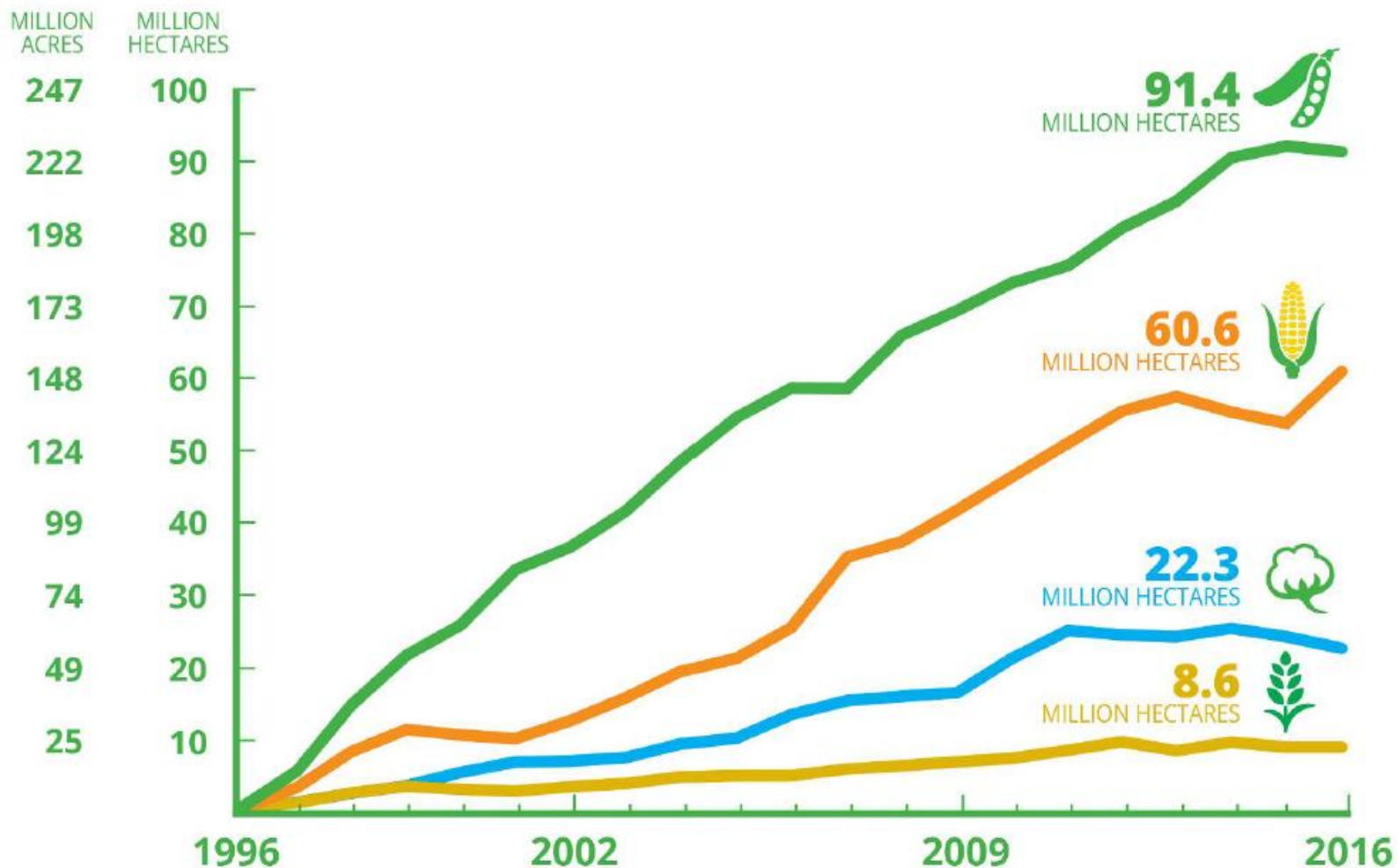


- Herbicide tolerance at 47% and
- Stacked traits occupied 41% of the global hectarage

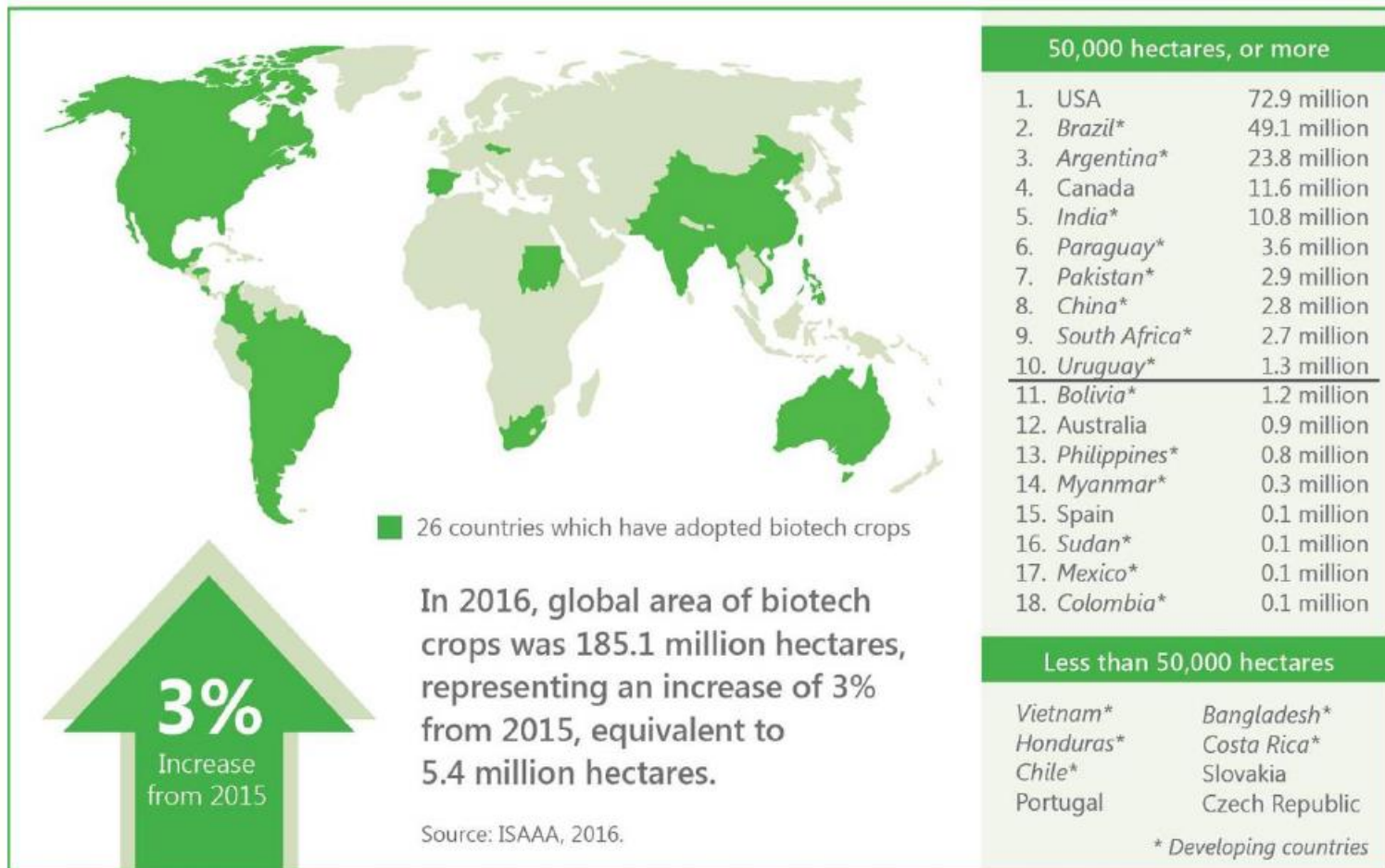
Global Adoption Rates (%) for Principal Biotech Crops (Million Hectares, Million Acres), 2016



Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2016: By Crop (Million Hectares, Million Acres)



Global Area of Biotech Crops, 2016: By Country (Million Hectares)



- Top five countries: 3 Developing countries (Brazil, Argentina, & India) and 2 Industrial countries (USA & Canada) grew 91% of biotech crops

54%

19 DEVELOPING
COUNTRIES

46%

7 INDUSTRIAL
COUNTRIES

185.1 MILLION HECTARES

DISTRIBUTION OF BIOTECH CROPS IN DEVELOPING AND INDUSTRIAL COUNTRIES IN 2016

Source: ISAAA, 2016

- **Developing countries: 99.6 million hectares**
- **Industrial countries: 85.5 million hectares**