

Земеделие от ново поколение

Автор(и): Нора Иванова, Редактор Растителна Защита /РЗ/

Дата: 19.10.2020 Брой: 10/2020



International Year of Plant Health 2020

Нобеловата награда за химия 2020 г. бе присъдена на Еманюел Шарпентие и Дженифър А. Дудна за „разработването на метод за редактиране на генома“. Този метод навлиза успешно през последните 10 години в различни сфери на науката и постепенно завладява света като възможност за разрешаване на непреодолими проблеми.

Генетичната революция – методът за редактиране на генома CRISPR/Cas9 е прецизна намеса на ДНК ниво, която е в състояние да промени кода на живота само за няколко седмици. Генетичните ножици, както е наречена тази технология, ще оказва в бъдеще огромно въздействие върху науките на живота, като изцяло ще промени методите на лечение в медицината на опасни и наследствени болести.

Но не само в медицината, а и в земеделието този метод разкрива нови изследователски хоризонти, които изцяло ще променят отношението ни към животните и селскостопанските култури.

Вече не е утопия, свят, в който растенията, предназначени за прехрана на населението, ще могат да издържат на екстремните климатични промени и ще бъдат устойчиви срещу все по-агресивните вредители.

Дали аграрната наука ще успее да създаде една по-отговорна и сигурна епоха за потребителите със здравословна и достъпна хранителна верига, която ще действа с по-малко ресурси и ще щади околната среда?

Земеделие от ново поколение

Според данните на Организацията за прехрана и земеделие (ФАО) близо 40 % от растителните култури, служещи за основна храна на населението, биват ежегодно унищожавани от различни болести и вредители по растенията. Особено в бедните райони, където земеделието е основен поминък на хората, липсата на качествена и достъпна храна води до тежки икономически и социални последици. Допълнителен фактор, който стимулира компрометирането на световните хранителни запаси, е глобализацията на търговията, водеща до неконтролируемото разпространение на инвазивни видове.

Нарушената здравна среда на растителните видове, дължаща се на климатичните промени, човешките действия и неправилното използване на пестициди също е ключов фактор не само за увеличаването на опасните болести и вредители по културните растения, но и за намаляването на биоразнообразието. Затова през последните години публичният и частният сектор инвестират все повече в инициативи за интегрирано управление на вредителите, научни изследвания и иновативни технологии, които се фокусират преди всичко не върху последиците, а върху причините и възможността за предотвратяването им.

Растителната генетика предоставя все по-богати опции за превенция в сферата на селското стопанство. Целта на генетичната модификация е да се получат линии селскостопански растения с предимства пред класическите: подобрени хранителни качества (например обогатяване на ориза с каротин – предшественика на витамин А); устойчивост към вредители и заболявания; толерантност към хербициди; повишена поносимост към засушаване или солена почва.

Превенция чрез манипулиране на генома – CRISPR/Cas9

Неочаквано, но отговорът на всички тези проблеми в модерната аграрна наука се крие в миниатюрните на пръв поглед молекули на ДНК, чийто потенциал се оказва неограничен. Още през 1953 година се полагат основите на съвременните биотехнологии с прилагането в лабораторни условия на *рестриктази* – *ензими*, режещи генетичния материал. Оттогава са въведени множество различни методи за манипулирането на генома. Революционната стъпка в генетиката е въвеждането на инструмент, който позволява бързо и прецизно редактиране на генома. CRISPR/Cas („криспър“) е заимстван от процеси, които протичат в бактериалните клетки. Това е механизъм, позволяващ на бактериите да се предпазят от вирусни атаки, състоящ се от две части – уникален отпечатък на вируса (закодирани в CRISPR) и ензим (Cas), имащ способността да реже двете вериги на ДНК. При нападение от познат вирус бактериите използват този отпечатък, за да насочат Cas към генетичния му материал. Веднъж нарязан, той се инактивира и вирусната атака се предотвратява. Получената промяна може да изтрие или замени конкретни ДНК участъци, като по този начин засили или деактивира определени белези.

Наред с преимуществата на този метод в области като фармация, генна медицина, лекуването на болести като ХИВ, малария, рак, диабет и др. CRISPR технологията навлиза все по-успешно и в земеделието.

Прецизното редактиране на генома представлява огромен интерес за аграрния сектор, защото на всички е известно колко време и труд отнема създаването на нови устойчиви сортове. Вече има редица култури с подобрени агрономически показатели – ориз, пшеница, портокали, домати и др., устойчиви на патогени; царевица, издържаща на суша; домати с повишен добив. Освен за фермерите, ползи има и за околната среда, тъй като се използват по-малко ресурси за добиването на продукцията, а и се намалява употребата на пестициди. Печели и крайният потребител, тъй като активно се работи и в посока подобряване на хранителната стойност и качеството на продуктите. Например напълно е възможно да се контролира процента на глутена в пшеницата и да се стигне до резултати – 85% по-ниско глутеново съдържание. А в Азия все по-често се провеждат изследвания за създаването на ориз с повишено съдържание на амилаза, която разгражда сложните въглехидрати и ги превръща в монозахариди като глюкозата. Амилазата е ензим, присъстващ в човешката слюнка и участва активно в правилния глюкозен метаболизъм на организма.

Ябълки, устойчиви на огнен пригор

Едно от най-новите изследвания на метода CRISPR/Cas чрез използване на *Agrobacterium tumefaciens* е публикувано в сп. „Journal of Plant Biotechnology“ през 2019 година. Бактерията *Erwinia amylovora*, която причинява болестта огнен пригор при ябълката предизвиква инфекция в плода чрез DspA / E ефектор, който взаимодейства с чувствителния протеин на ябълката MdDIPM4. Учените използват CRISPR/Cas9, за да създадат дефектен MdDIPM4 протеин, който е въведен в ябълката (сорт Гала и Златна превъзходна) чрез *Agrobacterium tumefaciens*. В този случай е интересно взаимодействието между класическата селекция чрез бактерията *A. tumefaciens* и революционните методи в създаването на нови сортове. Бактерията *Agrobacterium tumefaciens* има способността да пренася ДНК в растителни клетки. Нейната функция в цялостния процес е да инфектира голям брой растителни видове и да предизвика образуване на растителни

тумори, в които се развива. Туморите всъщност се причиняват от един плазмид на бактерията, наречен Ti (от англ. *tumor-inducing*). След като растението бъде заразено, Ti-плазмидът се прехвърля от бактериалната в растителна клетка, интегрира се в нейния геном и причинява злокачествената ѝ трансформация. Ti-плазмидът не е канцерогенен

за животните и човека и базирайки се на него се създават вектори за клониране и експресия на чужди гени в растителни клетки. При комбинация на двата селекционни метода при ябълката са получени общо

57 трансгенни линии с 75% ефективност на редактирането. Седем редактирани линии със загуба на функция на MdDIPM4 протеина, са изложени на огнен пригор и резултатите показват значимо намаляване на чувствителността към заболяването в сравнение с контролата. Резултатите от изследването показват разработването и прилагането на CRISPR-Cas9 за създаване на генно редактирани ябълки с минимална следа от екзогенна ДНК.

Пшеницата – царицата на генната модификация

В другия край на света сушата не е проблем за земеделските култури, а и от години се разработват сортове устойчиви на дълги периоди без капка дъжд. Продължителните дъждове обаче в Япония често унищожават напълно реколтата на стопаните.

Изследователите там работят върху нов сорт пшеница, подходяща за райони с повече валежи. С помощта на системата CRISPR-Cas9 те разработват пшеница, която на по-късен етап води до създаването на по-качествено брашно. За опита си японците използват сорт от сухи зони, който е чувствителен към влажност. При обилни и дълготрайни валежи преди прибирането на реколтата, семената на растенията често покълват в класовете, което води в последствие до нискокачествено брашно за хранителната индустрията. Прилагайки CRISPR-Cas9, чрез *Agrobacterium*, екипът създава линии от пшеница с нефункционален Qsd1, ген, който регулира покоя на семената или покълването. След осем трансформации, един от опитите се оказва успешен. Новият сорт е кръстосан с див изходен тип пшеница, за да се получи мутант без трансгени. Получените растения са поливани в продължение на една седмица и само 20-30 процента покълват, докато почти всички обикновени семена от пшеница, изложени на същите условия, покълват. Редактирането на генома в този случай и създаването на нов сорт пшеница, устойчива на дъжд, отнема на учените само около година. За сравнение при конвенционалните техники за селекция подобна разработка би отнела приблизително 10 години. В класическата генетика учените използват метода бомбандиране с частици (генна пушка), при който се покриват микроскопични частици, напр. злато, с ДНК. След това при високо налягане трябва да се въведат частиците покрити с ДНК в растението реципиент. За съжеланите резултатите се чакат с години и не винаги са така прецизни и предвидими като при комбинацията CRISPR-Cas9 с *Agrobacterium*. Разбира се не всеки сорт пшеница реагира на зарязване с бактериите *Agrobacterium*.

Този проблем бива коригиран от екип специалисти от Академията за селскостопански науки в Шандонг, Китай, които успешно въздействат на пшенични гени, спирайки се на CRISPR-Cas9, пренесен чрез *Agrobacterium* – генетична трансформация. Така те успяват да подобрят качествените характеристики на пшеницата като използват бактерии, за по-точни вмъквания на комплекса за редактиране на генома CRISPR-Cas9.

Доматите – истинско генетично чудо

Международен екип от учени от Бразилия, САЩ и Германия създаде преди около година домати с помощта на редактиране на генома CRISPR-Cas9. Новият сорт домати, който е с повишено съдържание на ликопен, е създаден от диво растение и то само в рамките на едно поколение.

Изследователите използват като родителски вид *Solanum pimpinellifolium* – див домати от Южна Америка и прародител на съвременния култивиран домати, чиито плодове са с размера на грахови зърна и добивът е минимален, но са силно ароматни и съдържанието им на ликопен е впечатляващо.

Международният екип от експерти променя базовия див домати, прилагайки редуциране на генома CRISPR-Cas9 като получените растения носят малки генетични модификации в шест гена, които са ключови за култивиране на домата.

Модифицираният домати има три пъти по-големи плодове от дивия. Това се равнява на размера на чери доматите. Има 10 пъти повече плодове, а формата им е овална, за разлика от кръглите дивы плодове. (важно свойство, защото при валеж кръглите плодове се разцепват по-бързо от овалните). Растенията също имат по-компактен растеж. Новият сорт домати е с много високо съдържание на каротиноидния пигмент ликопен, който е мощен антиоксидант и предпазва организма от оксидативния стрес. Така селектираното растение има два пъти по-високо съдържание на полезния пигмент от дивия си родител и пет пъти повече, отколкото съвременните си събратя – чери доматите.

Според статия, публикувана през януари 2019 г. в сп. „*Trends in Plant Science*“ с новите техники за редактиране на генома е възможно да се създаде и домати, конкурентен на едни от най-любимите чушки. Резултатите от пълно геномно секвениране при домати показват, че тази зеленчукова култура има гените на лютитост, но не притежава механизма, чрез който тези гени да станат активни. Така чрез CRISPR-Cas9 може да се създадат домати, синтезиращи капсаициноиди, твърдят изследователите, които в момента работят по този проект. Целта не е да се задоволи нарастващата ниша на кулинарията, а да се увеличи производството на капсаициноидите за търговски цели. Активното вещество на лютите чушки (капсаицин) е известно със своите антибиотични, болкоуспокояващи свойства и защита от вредители.

Бъдещето на CRISPR

Въпреки сериозните постижения и възможности пред масовата употреба на CRISPR има някои пречки от технически, юридически и етичен характер, за които тепърва трябва да се намерят решения. Един от големите технически проблеми при редуцирането на генома и, че ензимът *Cas* не винаги разпознава точно целта и може да реже ДНК материал и на други нежелани места. Но през последните две години изследователите развиват технологията и увеличават точността и успеваемостта на редакциите. Вече се изпитват заместители на *Cas*, които могат да режат само по една база от молекулата на ДНК или да се закачат за нея, без да я режат, и по този начин да регулират активността на целевите гени.

За сега сериозна пречка в прилагането на иновативната селекция в земеделието в Европа е законовата рамка, с която науката в ЕС трябва да се съобразява. Според съществуващото законодателство в Съюза генно-модифицираните организми са забранени или достъпът до тях е силно ограничен и строго регулиран. През 2018 година генералният адвокат на Европейския съд публикува становището си, където основна тема са използваните в момента похвати за мутагенез (най-вече третиране с химични мутагени или радиация). Те не се регулират като инструментите за генно модифициране, а новите технологии дават възможност за много по-прецизна намеса и могат да се разглеждат като насочен мутагенез. Освен това генното редактиране не добавя нова ДНК последователност, както е случая на повечето генетично модифицирани култури, а редактира съществуващи вече гени. В САЩ, където CRISPR-Cas9 набира все повече почитатели, Департаментът по земеделие съобщи, че растенията, продукт на генно редактиране, няма да подлежат на регулации от тяхна страна. Според американците редактираните растения са неразличими от тези, получени чрез класическа селекция. Предстои да бъдат установени процедурите, по които ще се описват такива растения по етикетите на хранителните стоки.

От морална гледна точка генното редактиране предоставя повече възможности и приложения в земеделието, отколкото етически дилеми, наблюдавани в медицината например. Страшните сценарии като клониране на хора, дизайнерски бебета и прочие релано не засягат развитието на аграрната наука. В контекста на земеделието могат да се очакват само прегрупиране на големите агро концерни, които в бъдеще ще се наложи да изместят фокуса си от химичната индустрия и производството на препарати за растителна защита към създаването на нови устойчиви сортове земеделски култури.

Зелената революция

Редактирането на генома, разширява традиционните инструменти за селекция на растения като въвежда нови растителни характеристики по-бързо и прецизно, което от своя страна спестява години или дори десетилетия, за получаване на нови сортове. Тези иновации в растителната генетика ще осигурят защита на културите от суша, болести, вредители и същевременно ще увеличат хранителната и качествената стойност на крайните продукти. Чрез CRISPR метода могат да се контролират и премехнат алергените, които в момента са важна стъпка в задоволяването на пазара със здравословна и качествена храна. Използвайки науката, земеделските производители ще успеят да отговорят на очакванията на потребителите за здравословна и достъпна хранителна верига, осигурена с по-малко ресурси и щадяща околната среда.

Статията е част от съдържанието на брой 10/2020 на списание "Растителна защита"