

'Poljoprivreda Nove Generacije'

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

Дата: 19.10.2020 Брой: 10/2020



Međunarodna godina zdravlja bilja 2020.

Nobelova nagrada za kemiju za 2020. dodijeljena je Emmanuelle Charpentier i Jennifer A. Doudna za „razvoj metode za uređivanje genoma“. Tijekom proteklih 10 godina ova se metoda uspješno uvodi u razna područja znanosti i postupno osvaja svijet kao prilika za rješavanje nerješivih problema.

Genetička revolucija – metoda uređivanja genoma CRISPR/Cas9 precizna je intervencija na razini DNK koja je sposobna promijeniti kod života u samo nekoliko tjedana. Genetičke škare, kako se ova tehnologija naziva, u budućnosti će imati ogroman utjecaj na znanosti o životu, potpuno transformirajući metode liječenja u medicini opasnih i nasljednih bolesti.

Ali ne samo u medicini; i u poljoprivredi ova metoda otkriva nove istraživačke horizonte koji će potpuno promijeniti naš odnos prema životinjama i poljoprivrednim usjevima.

Više nije utopija, svijet u kojem će biljke namijenjene prehrani stanovništva moći izdržati ekstremne klimatske promjene i biti otporne na sve agresivnije štetnike.

Hoće li poljoprivredna znanost uspjeti stvoriti odgovornije i sigurnije doba za potrošače, sa zdravim i pristupačnim prehrambenim lancem koji će djelovati s manje resursa i poštediti okoliš?

Poljoprivreda nove generacije

Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu (FAO), gotovo 40% biljnih usjeva koji služe kao osnovna hrana za stanovništvo uništi se godišnje od raznih biljnih bolesti i štetnika. To se posebno odnosi na siromašne regije gdje je poljoprivreda glavni izvor života ljudi; nedostatak kvalitetne i pristupačne hrane dovodi do teških ekonomskih i društvenih posljedica. Dodatni čimbenik koji pridonosi ugrozi globalnih zaliha hrane je globalizacija trgovine, koja dovodi do nekontroliranog širenja invazivnih vrsta.

Pogoršano stanje zdravlja bilja, uzrokovano klimatskim promjenama, ljudskim aktivnostima i nepravilnom upotrebom pesticida, također je ključni čimbenik ne samo za porast opasnih bolesti i štetnika koji pogađaju uzgajane biljke, već i za smanjenje bioraznolikosti. Stoga posljednjih godina javni i privatni sektor ulažu sve više u inicijative za integrirano upravljanje štetnicima, znanstvena istraživanja i inovativne tehnologije koje se prije svega ne usredotočuju na posljedice, već na uzroke i mogućnosti njihove prevencije.

Biljna genetika pruža sve bogatiji raspon mogućnosti za prevenciju u području poljoprivrede. Cilj genetske modifikacije je dobivanje linija poljoprivrednih biljaka s prednostima u odnosu na klasične: poboljšane prehrambene kvalitete (na primjer, obogaćivanje riže karotenom – prekursorom vitamina A); otpornost na štetnike i bolesti; tolerancija na herbicide; povećana tolerancija na sušu ili slana tla.

Prevencija kroz manipulaciju genomom – CRISPR/Cas9

Neočekivano, odgovor na sve ove probleme u modernoj poljoprivrednoj znanosti leži u naizgled sićušnim molekulama DNK, čiji se potencijal pokazuje neograničenim. Već 1953. godine postavljeni su temelji moderne biotehnologije primjenom u laboratorijskim uvjetima *restrikcijskih enzima*, koji režu genetski materijal. Od tada su uvedene brojne različite metode za manipulaciju genomom. Revolucionarni korak u genetici je uvođenje alata koji omogućuje brzo i precizno uređivanje genoma. CRISPR/Cas („CRISPR“) posuđen je iz procesa koji se odvijaju u bakterijskim stanicama. To je mehanizam koji omogućuje bakterijama da se zaštite od virusnih napada, a sastoji se od dva dijela – jedinstvenog otiska virusa (kodiranog u CRISPR-u) i enzima (Cas) koji ima sposobnost rezati oba lanca DNK. Kada ih napadne poznati virus, bakterije koriste ovaj otisak da usmjere Cas na njegov genetski materijal. Jednom prerezan, on se inaktivira i virusni napad je spriječen. Rezultirajuća promjena može izbrisati ili zamijeniti specifične segmente DNK, čime se pojačavaju ili deaktiviraju određene osobine.

Uz prednosti ove metode u područjima poput farmacije, genske terapije i liječenja bolesti poput HIV-a, malarije, raka, dijabetesa itd., CRISPR tehnologija se sve uspješnije uvodi i u poljoprivredu.

Precizno uređivanje genoma od ogromnog je interesa za poljoprivredni sektor, jer svatko zna koliko je vremena i truda potrebno za stvaranje novih otpornih sorti. Već postoje brojni usjevi s poboljšanim agronomskim performansama – riža, pšenica, naranče, rajčice i drugi koji su otporni na patogene; kukuruz koji podnosi sušu; rajčice s povećanim prinosom. Osim koristi za poljoprivrednike, postoje koristi i za okoliš, jer se za dobivanje proizvodnje koristi manje resursa, a upotreba pesticida je smanjena. Krajnji potrošač također ima koristi, budući da se aktivno radi na poboljšanju nutritivne vrijednosti i kvalitete proizvoda. Na primjer, potpuno je moguće kontrolirati postotak glutena u pšenici i postići rezultate od – 85% nižeg sadržaja glutena. A u Aziji se sve više provode istraživanja za stvaranje riže s povećanim sadržajem amilaze, koja razgrađuje složene ugljikohidrate i pretvara ih u monosaharide poput glukoze. Amilaza je enzim prisutan u ljudskoj slini i igra aktivnu ulogu u pravilnom metabolizmu glukoze u tijelu.

Jabuke otporne na vatrenu plamenjaču

Jedno od najnovijih istraživanja o CRISPR/Cas metodi korištenjem *Agrobacterium tumefaciens* objavljeno je u Journal of Plant Biotechnology 2019. godine. Bakterija *Erwinia amylovora*, koja uzrokuje bolest vatrenu plamenjaču u jabuci, inducira infekciju u plodu putem efektor DspA/E, koji stupa u interakciju s proteinom osjetljivosti jabuke MdDIPM4. Znanstvenici koriste CRISPR/Cas9 za stvaranje defektnog proteina MdDIPM4, koji se uvodi u jabuku (sorte Gala i Golden Delicious) putem *Agrobacterium tumefaciens*. U ovom slučaju, od posebnog je interesa interakcija između klasičnog oplemenjivanja korištenjem bakterije *A. tumefaciens* i revolucionarnih metoda u stvaranju novih sorti. Bakterija *Agrobacterium tumefaciens* ima sposobnost prijenosa DNK u biljne stanice. Njezina je funkcija u cjelokupnom procesu zaraziti veliki broj biljnih vrsta i inducirati stvaranje biljnih

tumora u kojima se razvija. Tumore zapravo uzrokuje plazmid bakterije nazvan Ti (od engleskog *tumor-inducing*). Nakon što je biljka zaražena, Ti plazmid se prenosi iz bakterijske stanice u biljnu stanicu, integrira se u njezin genom i uzrokuje njezinu malignu transformaciju. Ti plazmid nije kancerogen

za životinje i ljude, a na temelju njega se stvaraju vektori za kloniranje i ekspresiju stranih gena u biljnim stanicama. Kombinacijom dviju metoda oplemenjivanja u jabuci, dobiveno je ukupno

57 transgenih linija s 75% učinkovitosti uređivanja. Sedam uređenih linija s gubitkom funkcije proteina MdDIPM4 izloženo je vatrenoj plamenjači, a rezultati su pokazali značajno smanjenje osjetljivosti na bolest u usporedbi s kontrolom. Rezultati istraživanja pokazuju razvoj i primjenu CRISPR-Cas9 za stvaranje genetski uređenih jabuka s minimalnim tragom egzogene DNK.

Pšenica – kraljica genetske modifikacije

Na drugom kraju svijeta, suša nije problem za poljoprivredne usjeve, i godinama se razvijaju sorte otporne na duge periode bez kapi kiše. Međutim, dugotrajne kiše u Japanu često potpuno unište žetvu poljoprivrednika.

Tamošnji istraživači rade na novoj sorti pšenice prikladnoj za regije s većim oborinama. Uz pomoć CRISPR-Cas9 sustava, razvijaju pšenicu koja u kasnijoj fazi dovodi do proizvodnje kvalitetnijeg brašna. Za svoj eksperiment, japanski istraživači koriste sortu iz aridnih zona koja je osjetljiva na vlagu. U slučaju obilnih i

dugotrajnih oborina prije žetve, sjemenke često klija u klasovima, što posljedično dovodi do nekvalitetnog brašna za prehrambenu industriju. Primjenom CRISPR-Cas9 putem *Agrobacterium*-a, tim stvara linije pšenice s nefunkcionalnim genom Qsd1, koji regulira mirovanje ili klijanje sjemena. Nakon osam transformacija, jedan od pokušaja pokazao se uspješnim. Nova sorta je ukrštena s divljim tipom pšenice kako bi se dobio mutant bez transgena. Dobivene biljke su zalijevane tjedan dana i samo 20-30 posto ih je proklijalo, dok je gotovo sve obično sjeme pšenice izloženo istim uvjetima proklijalo. U ovom slučaju, uređivanje genoma i stvaranje nove sorte pšenice otporne na kišu znanstvenicima je trebalo samo oko godinu dana. Za usporedbu, s konvencionalnim tehnikama oplemenjivanja sličan razvoj bi trajao otprilike 10 godina. U klasičnoj genetici, znanstvenici koriste metodu bombardiranja česticama (genski top), u kojoj se mikroskopske čestice, npr. zlato, oblažu DNK. Zatim, pod visokim pritiskom, čestice obložene DNK moraju se unijeti u biljku primateljicu. Željeni rezultati se čekaju godinama i nisu uvijek tako precizni i predvidivi kao kod kombinacije CRISPR-Cas9 i *Agrobacterium*. Naravno, ne reagira svaka sorta pšenice na infekciju bakterijom *Agrobacterium*.

Ovaj problem je ispravljen od strane tima stručnjaka iz Shandong Academy of Agricultural Sciences, Kina, koji su uspješno ciljali gene pšenice, odlučivši se za CRISPR-Cas9 isporučen putem *Agrobacterium* – genetsku transformaciju. Tako su uspjeli poboljšati kvalitativne karakteristike pšenice korištenjem bakterija za preciznije umetanje kompleksa za uređivanje genoma CRISPR-Cas9.

Rajčice – pravo genetsko čudo

Međunarodni tim znanstvenika iz Brazila, SAD-a i Njemačke stvorio je prije otprilike godinu dana rajčicu korištenjem uređivanja genoma CRISPR-Cas9. Nova sorta rajčice, koja ima povećan sadržaj likopena, razvijena je iz divlje biljke i to unutar samo jedne generacije.

Istraživači su koristili kao roditeljsku vrstu *Solanum pimpinellifolium* – divlju rajčicu iz Južne Amerike i pretka moderne uzgojene rajčice, čiji su plodovi veličine graška i prinos minimalan, ali su vrlo aromatični i njihov sadržaj likopena je imp