

Сельское хозяйство нового поколения

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

Дата: 19.10.2020 Брой: 10/2020



Международный год здоровья растений 2020

Нобелевская премия по химии 2020 года была присуждена Эмманюэль Шарпантье и Дженнифер А. Дудна за «разработку метода редактирования генома». За последние 10 лет этот метод успешно проникает в различные области науки и постепенно завоевывает мир как возможность решения трудноразрешимых проблем.

Генетическая революция – метод редактирования генома CRISPR/Cas9 представляет собой точное вмешательство на уровне ДНК, способное изменить код жизни всего за несколько недель. Генетические ножницы, как называют эту технологию, в будущем окажут огромное влияние на науки о жизни, полностью преобразовав методы лечения в медицине опасных и наследственных заболеваний.

Но не только в медицине; в сельском хозяйстве этот метод также открывает новые исследовательские горизонты, которые полностью изменяют наше отношение к животным и сельскохозяйственным культурам.

Уже не утопия – мир, в котором растения, предназначенные для питания населения, смогут выдерживать экстремальные изменения климата и будут устойчивы ко все более агрессивным вредителям.

Сможет ли сельскохозяйственная наука создать для потребителей более ответственную и безопасную эпоху со здоровой и доступной продовольственной цепочкой, которая будет работать с меньшими ресурсами и щадить окружающую среду?

Сельское хозяйство нового поколения

Согласно данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации (ФАО), почти 40% растительных культур, служащих основным продуктом питания населения, ежегодно уничтожаются различными болезнями растений и вредителями. Это особенно актуально в бедных регионах, где сельское хозяйство является основным источником средств к существованию людей; отсутствие качественных и доступных продуктов питания приводит к тяжелым экономическим и социальным последствиям. Дополнительным фактором, способствующим сокращению мировых продовольственных запасов, является глобализация торговли, которая приводит к неконтролируемому распространению инвазивных видов.

Ухудшающаяся фитосанитарная обстановка, вызванная изменением климата, деятельностью человека и неправильным использованием пестицидов, также является ключевым фактором не только для увеличения опасных болезней и вредителей, поражающих культурные растения, но и для сокращения биоразнообразия. Поэтому в последние годы государственный и частный секторы все больше инвестируют в инициативы по интегрированной защите растений, научные исследования и инновационные технологии, которые сосредоточены прежде всего не на последствиях, а на причинах и возможностях их предотвращения.

Генетика растений предоставляет все более богатый спектр возможностей для профилактики в области сельского хозяйства. Цель генетической модификации – получение линий сельскохозяйственных растений с преимуществами перед классическими: улучшенные питательные качества (например, обогащение риса каротином – предшественником витамина А); устойчивость к вредителям и болезням; толерантность к гербицидам; повышенная устойчивость к засухе или засоленным почвам.

Профилактика через манипуляции с геномом – CRISPR/Cas9

Неожиданно ответ на все эти проблемы в современной сельскохозяйственной науке кроется в казалось бы крошечных молекулах ДНК, потенциал которых оказывается безграничным. Еще в 1953 году были заложены основы современной биотехнологии с применением в лабораторных условиях *рестрикционных ферментов*, которые разрезают генетический материал. С тех пор было внедрено

множество различных методов манипуляции с геномом. Революционным шагом в генетике стало внедрение инструмента, позволяющего быстро и точно редактировать геном. CRISPR/Cas («CRISPR») заимствован из процессов, происходящих в бактериальных клетках. Это механизм, позволяющий бактериям защищаться от вирусных атак, состоящий из двух частей – уникального отпечатка вируса (закодированного в CRISPR) и фермента (Cas), способного разрезать обе цепи ДНК. При атаке известного вируса бактерии используют этот отпечаток, чтобы направить Cas к его генетическому материалу. После разрезания он инактивируется, и вирусная атака предотвращается. Полученное изменение может удалить или заменить определенные сегменты ДНК, тем самым усиливая или деактивируя определенные признаки.

Наряду с преимуществами этого метода в таких областях, как фармацевтика, генная терапия и лечение таких заболеваний, как ВИЧ, малярия, рак, диабет и т.д., технология CRISPR все успешнее проникает и в сельское хозяйство.

Точное редактирование генома представляет огромный интерес для сельскохозяйственного сектора, потому что все знают, сколько времени и усилий требуется для создания новых устойчивых сортов. Уже существует множество культур с улучшенными агрономическими показателями – рис, пшеница, апельсины, томаты и другие, устойчивые к патогенам; кукуруза, выдерживающая засуху; томаты с повышенной урожайностью. Помимо выгод для фермеров, существуют преимущества для окружающей среды, поскольку для получения продукции используется меньше ресурсов, а применение пестицидов сокращается. Конечный потребитель также выигрывает, поскольку ведется активная работа по улучшению питательной ценности и качества продуктов. Например, вполне возможно контролировать процент глютена в пшенице и добиться результатов – на 85% более низкого содержания глютена. А в Азии все чаще проводятся исследования по созданию риса с повышенным содержанием амилазы, которая расщепляет сложные углеводы и превращает их в моносахариды, такие как глюкоза. Амилаза – это фермент, присутствующий в человеческой слюне и играющий активную роль в правильном метаболизме глюкозы в организме.

Яблони, устойчивые к бактериальному ожогу

Одно из последних исследований метода CRISPR/Cas с использованием *Agrobacterium tumefaciens* было опубликовано в *Journal of Plant Biotechnology* в 2019 году. Бактерия *Erwinia amylovora*, вызывающая заболевание бактериальный ожог у яблони, индуцирует инфекцию в плоде через эффектор DspA/E, который взаимодействует с белком восприимчивости яблони MdDIPM4. Ученые используют CRISPR/Cas9 для создания дефектного белка MdDIPM4, который вводится в яблоню (сорта Гала и Голден Делишес) с помощью *Agrobacterium tumefaciens*. В данном случае представляет особый интерес взаимодействие между классической селекцией с использованием бактерии *A. tumefaciens* и революционными методами в создании новых сортов. Бактерия *Agrobacterium tumefaciens* обладает способностью переносить ДНК в клетки растений. Ее функция в общем процессе – инфицировать большое количество видов растений и индуцировать образование растительных

опухолей, в которых она развивается. Опухоли фактически вызваны плазмидой бактерии под названием Ti (от *tumor-inducing* на английском). После заражения растения Ti-плазида переносится из бактериальной клетки в растительную клетку, интегрируется в ее геном и вызывает ее злокачественную трансформацию. Ti-плазида не является канцерогенной

для животных и человека, и на ее основе создаются векторы для клонирования и экспрессии чужеродных генов в растительных клетках. Благодаря комбинации двух методов селекции у яблони было получено в общей сложности

57 трансгенных линий с эффективностью редактирования 75%. Семь отредактированных линий с потерей функции белка MdDIPM4 были подвергнуты воздействию бактериального ожога, и результаты показали значительное снижение восприимчивости к заболеванию по сравнению с контролем. Результаты исследования демонстрируют разработку и применение CRISPR-Cas9 для создания генетически отредактированных яблонь с минимальным следом экзогенной ДНК.

Пшеница – королева генетической модификации

На другом конце света засуха не является проблемой для сельскохозяйственных культур, и уже много лет разрабатываются сорта, устойчивые к длительным периодам без капли дождя. Однако затяжные дожди в Японии часто полностью уничтожают урожаи фермеров.

Исследователи там работают над новым сортом пшеницы, подходящим для регионов с более высоким количеством осадков. С помощью системы CRISPR-Cas9 они разрабатывают пшеницу, которая на более поздней стадии приводит к производству муки более высокого качества. Для своего эксперимента японские исследователи используют сорт из засушливых зон, чувствительный к влаге. В случае сильных и продолжительных дождей перед уборкой урожая семена часто прорастают в колосьях, что впоследствии приводит к получению муки низкого качества для пищевой промышленности. Применяя CRISPR-Cas9 через *Agrobacterium*, команда создает линии пшеницы с нефункциональным геном Qsd1, который регулирует покой или прорастание семян. После восьми трансформаций одна из попыток оказалась успешной. Новый сорт был скрещен с пшеницей дикого типа, чтобы получить мутант без трансгенов. Полученные растения поливали в течение недели, и проросло только 20-30 процентов, тогда как почти все обычные семена пшеницы, подвергнутые тем же условиям, проросли. В данном случае редактирование генома и создание нового сорта пшеницы, устойчивого к дождю, заняло у ученых всего около одного года. Для сравнения, при использовании традиционных методов селекции подобная разработка заняла бы примерно 10 лет. В классической генетике ученые используют метод биобаллистики (генная пушка), при котором микроскопические частицы, например, золота, покрываются ДНК. Затем под высоким давлением частицы, покрытые ДНК, должны быть введены в растение-реципиент. Желаемых результатов ждут годами, и они не всегда столь точны и предсказуемы, как при комбинации CRISPR-Cas9 и *Agrobacterium*. Конечно, не каждый сорт пшеницы реагирует на заражение бактериями *Agrobacterium*.

Эту проблему исправила команда специалистов из Шаньдунской академии сельскохозяйственных наук, Китай, которые успешно нацелились на гены пшеницы, выбрав CRISPR-Cas9, доставляемый через *Agrobacterium* – генетическую трансформацию. Таким образом, им удалось улучшить качественные характеристики пшеницы, используя бактерии для более точных вставок комплекса редактирования генома CRISPR-Cas9.

Томаты – настоящее генетическое чудо

Международная команда ученых из Бразилии, США и Германии создала около года назад томат с помощью редактирования генома CRISPR-Cas9. Новый сорт томатов, обладающий повышенным содержанием ликопина, был разработан из дикого растения и всего за одно поколение.

Исследователи использовали в качестве родительского вида *Solanum pimpinellifolium* – дикий томат из Южной Америки и предка современного культурного томата, плоды которого размером с горошину, урожайность минимальна, но они обладают сильным ароматом, а содержание ликопина в них впечатляет.

Международная команда экспертов модифицировала базовый дикий томат, применив редактирование генома CRISPR-Cas9, в результате чего полученные растения несли небольшие генетические модификации в шести генах, ключевых для одомашнивания томата.

Модифицированный томат имеет плоды в три раза крупнее, чем дикий тип. Это соответствует размеру помидоров черри. У него в 10 раз больше плодов, и их форма овальная, в отличие от круглых диких плодов (важный признак, потому что в случае дождя круглые плоды трескаются быстрее, чем овальные). Растения также имеют более компактный характер роста. Новый сорт томатов обладает очень высоким содержанием каротиноидного пигмента ликопина, который является мощным антиоксидантом и защищает организм от окислительного стресса. Таким образом, у отобранного растения содержание этого полезного пигмента в два раза выше по сравнению с его диким родителем и в пять раз больше, чем у его современных аналогов – помидоров черри.

Согласно статье, опубликованной в январе 2019 года в *Trends in Plant Science*, с помощью новых методов редактирования генома можно создать томат, конкурирующий с некоторыми из самых острых перцев. Результаты полногеномного секвенирования у томатов показывают, что у этой овощной культуры есть гены остроты, но отсутствует механизм, который позволил бы этим генам стать активными. Таким образом, с помощью CRISPR-Cas9 можно создать томаты, синтезирующие капсаициноиды, утверждают исследователи, которые в настоящее время работают над этим проектом. Цель – не удовлетворить растущую кулинарную нишу, а увеличить производство капсаициноидов в коммерческих целях. Активное вещество в остром перце (капсаицин) известно своими антибиотическими и анальгетическими свойствами, а также защитой от вредителей.

Будущее CRISPR

Несмотря на значительные достижения и