

III. OCENY, RAPORTY

Andrzej B. Legocki
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
i Akademia Rolnicza
Poznań

Biotechnologia molekularna roślin – rozważania na temat uwarunkowań i perspektyw rozwoju

Dobrze na ogół ugruntowany jest pogląd, że możliwości zwiększenia produkcji rolnej dla zaspokojenia zapotrzebowania na żywność uzależnione są w coraz większym stopniu od skutecznego przewyższania narastających ograniczeń oraz od wykorzystania przez rolnictwo możliwości, które przynosi rozwój nauk podstawowych i postęp technologiczny.

Rozważania na temat uwarunkowań produkcji rolnej, a także prognozowanie na przyszłość można prowadzić jedynie na tle najbardziej doniosłych problemów współczesności jakimi są eksplozja demograficzna i destrukcja środowiska naturalnego. Bariery energetyczne i surowcowe dopełniają katalogu najistotniejszych ograniczeń rozwoju. Ponieważ pozyskanie dla rolnictwa na szeroką skalę nowych areatów uprawnych nie jest już możliwe ze względów ekologicznych, jedyną drogą do sprostania rosnącemu zapotrzebowaniu na żywność jest podniesienie wydajności plonowania głównych roślin uprawnych. Powszechnie oczekuje się, że szansa przewyższenia przynajmniej niektórych ograniczeń może nadejść ze strony nauk podstawowych, zaś dynamiczny rozwój nauk przyrodniczych w kilku ostatnich dziesięcioleciach upoważnia do optymistycznego prognozowania w tym zakresie.

Długofalowe zabiegi o wzrost produkcji żywności mieszczą się potencjalnie w poznawczym zasięgu nauki. Inną kwestią jest czy nauka "zdąży" ze swoimi opracowaniami przed wystąpieniem w środowisku naturalnym człowieka zjawisk nieodwracalnych. Ostatnio, zaniepokojenie budzą inne problemy – komercjalizacja nauki i wątpliwości w jakim stopniu, a także jakim kosztem odkrycia naukowe będą przeniesione z krajów przodujących do regionów o największych potrzebach. W tym zakresie jest nadal niemal wszystko do zrobienia – od usunięcia barier socjalnych i politycznych poczynając. Ostatnie lata ukazały dobitnie, że tradycyjny regionalizm nie przystaje więcej do takich problemów jak: zagrożenie środowiska, wydajność plonowania roślin i produkcja żywności czy powszechna ochrona zdrowia. Wszystkie te kwestie mogą doczekać się skutecznego rozwiązania jedynie w skali całego globu.

Spero nadziei wiąże się z rozwojem biologii molekularnej i wdrożeniem do praktyki nowych podejść doświadczalnych opartych o technologię rekombinowania DNA. Czy jednak rzeczywiście należy oczekiwać z tej strony przełomu? A jeśli tak, to które kierunki badań podstawowych uznać dziś należy za ważne i przyszłościowe zaplecze dla praktyki? W artykule tym starano się w wielkim skrócie przybliżyć odpowiedzi na te pytania.

Biologia molekularna jest wynikiem połączenia redukcjonistycznego, przejętego od nauk fizycznych oglądu świata oraz złożonych modeli doświadczalnych *in vitro* umożliwiających wyjaśnienie przemian i poznanie właściwości cząsteczek występujących w żywych komórkach. W szczególności dotyczy to skomplikowanego ciągu przekazywania informacji genetycznej. W tym zakresie biologia molekularna odnotowała duże sukcesy poznawcze. W ciągu 30 lat, które upłynęły od odkrycia modelu podwójnej helisy DNA dokonano wielu odkryć i opracowano metodycznych, które przyczyniły się do rozwoju lub wręcz zapoczątkowały całe kierunki poznawcze. Czy jednak redukcjonistyczny obraz przyrody wypracowany na podstawie reakcji cząsteczkowych i jednostkowych procesów komórkowych można przenieść na skalę całych organizmów i populacji kultywowanych dla osiągnięcia celów rolniczo-żywnościowych? Czy rozwinięcie molekularnej biotechnologii jest dla przyszłości rolnictwa koniecznością? Przecież na dobrą sprawę biologia molekularna ma jak dotąd znikomą rolę w wypracowaniu obecnego poziomu plonowania roślin uprawnych i zagospodarowania pól rolnych. Zielona rewolucja, która w niektórych rejonach świata doprowadziła nawet do potrojenia produkcji roślinnej, była wynikiem zastosowania zabiegów agrotechnicznych, wprowadzenia na dużą skalę nawozów oraz chemicznych środków ochrony, a także wykorzystania klasycznych osiągnięć genetyki i hodowli roślin. Jakże zatem miejsce w przyszłych programach rolniczych i żywnościowych zająć winna biologia molekularna i inżynieria genetyczna?

Odpowiedź na tę kwestię ułatwia analiza światowego zapotrzebowania na żywność w świetle ogromnego przyrostu demograficznego oraz zagrożenia naturalnego środowiska człowieka. Prognozy długofalowe przewidują, że za kilkadziesiąt lat dla globalnego zaspokojenia w żywność może nie wystarczyć już osiągnięte plonowanie, które dziś uznane byłoby za wysokie czy nawet rekordowe. Wiadomo także, że dalsze zwiększanie ingerencji chemicznej dla doraźnego podniesienia plonowania prowadzi do groźnych dewastacji ekologicznych. Z tych też względów wprowadzenie nowych, bezpiecznych biotechnologii dla zwiększenia pierwotnej produkcji roślinnej zaspokajającej w 90% zapotrzebowanie na żywność wydaje się koniecznością, dla której nie ma alternatywy.

Główne zadania i cele poznawcze dla podniesienia produkcji roślinnej stawiane sobie przez molekularną biotechnologię koncentrują się wokół trzech kierunków:

1. Zwiększenie wartości żywnościowych i technologicznych głównych roślin uprawnych drogą manipulacji genetycznych i hodowli komórkowych (poprzez np. zwiększenie zawartości aminokwasów egzogennych we frakcjach białek zapasowych czy zmniejszenie obecności czynników antyżywnościowych w płodach rolnych).

2. Podwyższenie plonowania roślin poprzez wprowadzenie do nich genów odporności na wirusy, grzyby czy inne patogeny, a także wprowadzenie genów zwiększających tolerancję na niekorzystne i stresowe warunki środowiska (np. zasolenie, niefizjologiczne pH, niższe temperatury). W tych przypadkach, w których

pożądane cechy kodowane są przez pojedyncze geny może się to okazać kwestią nawet niezbyt odległej przyszłości. Rozważa się także wprowadzenie do genomu roślin uprawnych genów wybiórczej odporności na chemiczne środki ochrony, co może znacznie ułatwić ich uprawę, np. poprzez rozszerzenie płodozmienności. Trzeba jednak w tym miejscu nadmienić, że większość cech użytkowych organizmów wyższych zależna jest od zespołów wielogenowych i manipulowanie nimi wymagać będzie poznania złożonych mechanizmów regulacyjnych, co dziś wydaje się ciągle kwestią dalszej przyszłości.

3. Obniżenie energochłonności produkcji roślinnej poprzez: a) zwiększenie wydajności fotosyntezy, b) zmniejszenie zależności plonowania od nawożenia chemicznego poprzez rozszerzenie biologicznego wiązania azotu oraz ograniczenie strat azotu w procesach nityfikacji i denityfikacji, c) wzrost efektywności pobierania przez rośliny uprawne oraz wykorzystania składników mineralnych.

Ogólne cele, które dla zwiększenia produkcji roślinnej stawiają sobie biologia molekularna z nowoczesną genetyką są na ogół zbieżne z założeniami tradycyjnej hodowli roślin. Ta ostatnia jest wynikiem połączenia sztuki hodowlanej z wiedzą ogólnobiologiczną. Nowoczesne podejścia mogą nie tylko doprowadzić do pozyskania dla rolnictwa nowych, wartościowych odmian, ale także wydajnie skrócić czas dotąd niezbędny na ich testowanie czy też znacznie zmniejszyć obszar pól doświadczalnych. Istotne jest także to, że uwzględniają one racjonalne wymogi zachowania środowiska. Wyprowadzenie nowej odmiany rośliny o pożądanym genotypie może nastąpić zarówno przez wykorzystanie obecnie istniejących, odległych nawet systemów biologicznych jak i też transfery pojedynczych genów syntetycznych lub zmodyfikowanych chemicznie genów pochodzenia naturalnego.

Zmodyfikowanie zasobów genowych rośliny niezbędne dla kreowania nowej kombinacji genetycznej i wyprowadzenie nowej odmiany może nastąpić poprzez zastosowanie jednego z kilku alternatywnych podejść genetyki niemendlowskiej:

1. Wprowadzenie do komórki roślinnej DNA kodującego określoną cechę drogą bezpośrednią (kotransformacja) lub poprzez plazmidy agrobakterii (transformacje wektorowe). Po stransformowaniu komórki roślinnej za pomocą obcego DNA można z niej zregenerować w odpowiednich warunkach w obecności substancji wzrostowych (cytokininy, auksyny) roślinę o zmodyfikowanym genomie (roślina transgeniczna). Wykorzystuje się przy tym unikatowe w przyrodzie zjawisko omnipotencji komórek roślinnych polegające na występowaniu w każdej komórce pełnego garnituru genów podatnych na indukowane różnicowanie. Trzeba jednak nadmienić, że większość udanych dotąd transformacji dotyczyła roślin dwuliściennych. Tymczasem, najważniejszymi ekonomicznie są rośliny trawiaste (*Gramineae*). Prace nad transformowaniem i regenerowaniem roślin jednoliściennych wymagają zatem w przyszłości dalszej intensyfikacji.

2. Manipulowanie ekspresją macierzystych genów rośliny za pomocą tzw. genetycznych elementów kontrolujących. Jest to kierunek przyszłościowy, u podstaw którego leży poznanie regulacji i organizacji materiału genetycznego m.in. za pomocą fragmentów mobilnych chromosomu (transpozony).

3. Hodowla komórek somatycznych i pokonywanie bariery niekrzyżowalności poprzez łączenie komórek roślin odległych. Kierunek ten uprawiany jest przez biologów od lat i zawiera w sobie potencjalnie duże, wciąż nie wykorzystane możliwości

aplikacyjne. Dla przykładu: jednym z niedocenionych aspektów kultur tkankowych jest możliwość skrócenia cyklu komórkowego i przyspieszenia podziałów komórkowych, co można by wykorzystać przy produkcji dużych ilości biomasy z szybko namnażanych kultur tkankowych. Hodowla pojedynczych komórek roślinnych ukazuje duże możliwości pozyskiwania wartościowej dla rolnictwa biomasy. Może też ułatwić mikropropagację cennego materiału uprawowego.

4. Wprowadzanie (transplantacja) organelli komórkowych do komórek biorców. Organelle roślin wyższych zawierają odrębne semiautonomiczne genomy, których pojemność kodująca wynosi ponad 200 białek dla chloroplastów i około 100 białek dla mitochondriów. Obiecujące wydają się perspektywy wprowadzenia materiału genetycznego do chloroplastów i uzyskania w nich ekspresji określonych białek. Prowadzi się prace w kierunku intensyfikacji procesów przyswajania CO_2 i fotosyntezy, które zachodzą w tych organellach. Punktem wyjścia wydaje się inżynieria genetyczna i komórkowa karboksylazy rybulozobisfosforanowej – kluczowego enzymu asymilacji CO_2 przez rośliny zielone.

Niezależnie od wymienionych podejść rozważane są także inne metody poprawiania użyteczności roślin poprzez zwiększenie stężenia (amplifikację) produktu określonego genu. Teoretycznie można to uzyskać poprzez: a) oddziaływanie na różne etapy ekspresji tego genu w komórce, b) wprowadzenie do genomu większej ilości kopii tego genu, c) poddanie regionu kodującego genu pod kontrolę funkcjonalnie silnego promotora, d) zapewnienie większej trwałości produktu końcowego. Wyselekcjonowanie drogą kultur tkankowych rośliny transgenicznej zawierającej wyższy od normalnego poziom metabolitów (np. witamin, aminokwasów) lub białek jest możliwe w warunkach odpowiedniej presji selekcyjnej, której sprzyjać może dobór właściwych komponentów pożywki przy hodowli stransformowanych komórek.

Niezależnie od ogólnych zagadnień metodycznych opracowywanych na różnorodnych modelach biologicznych, główne kierunki molekularnej biotechnologii wyznaczone są przez konkretne kwestie poznawcze. Jedną z nich jest dla przykładu biologiczne wiązanie azotu w naturalnych układach symbiotycznych i asocjacyjnych. Zagadnienie to wiąże się z problemem oszczędności energii wobec stale rosnącego zapotrzebowania na intensywną produkcję rolną w warunkach kosztownego nawożenia azotowego. Przewijanie azotu atmosferycznego ma kapitalne znaczenie dla rozwoju i intensyfikacji rolnictwa ekologicznego. Reakcja ta – należąca do najstarszych jakie dotrwały do naszych czasów, stanowi jeden z kluczowych procesów w przyrodzie. Dzięki niej ponownemu związaniu ulega azot utracony w czasie mikrobiologicznej denitryfikacji. Biologiczne wiązanie azotu zachodzi w wyniku funkcjonowania naturalnych układów symbiotycznych i asocjacyjnych, które stanowią przykład ewolucyjnego dopasowania roślin (w przypadku układów symbiotycznych – roślin motylkowatych) i bakterii glebowych wiążących azot. Rozszerzenie i wykorzystanie w większym stopniu tego naturalnego procesu może mieć pierwszorzędne znaczenie dla poprawy bilansu energetycznego produkcji roślinnej i rozpowszechniania rolnictwa ekologicznego.

Niezależnie od perspektyw aplikacyjnych biologiczne wiązanie azotu obejmuje niezmiernie atrakcyjne kwestie poznawcze odnoszące się do wyjaśnienia istoty oddziaływania między rośliną gospodarzem i mikroorganizmem. Od dłuższego czasu rozważane są możliwości przeniesienia właściwości wiązania wolnego azotu poza

układy naturalne, w których zostały one ewolucyjnie wykształcone. Perspektywy genetycznej konstrukcji zbóż, które mogłyby wiązać wolny azot pobudzają wprawdzie wyobraźnię, ale nie zawsze oddają opłacalność takiego zamierzenia w świetle niezwykle wysokich wymogów energetycznych, które wypełnić musi każdy biologiczny układ przyswajający N_2 . Prace nad zwiększeniem wiązania wolnego azotu prowadzi się aktualnie raczej w kierunku podniesienia efektywności symbiozy niż orientuje na odległy kierunek inżynierii zbóż przyswajających azot. Oprócz organizmów żyjących w ścisłej symbiozie z bakteriami azotowymi szeroko rozpowszechnione są formy luźnych asocjacji, w których uczestniczą rośliny niemotylkowate. Z uwagi na występowanie tego typu oddziaływań u najbardziej rozpowszechnionych roślin uprawnych (m.in. ryż i kukurydza) zjawisko ma potencjalnie duże znaczenie dla powiększenia pierwotnej produkcji roślinnej.

Spośród kilkuset roślin uprawianych współcześnie zaledwie 30 ma znaczenie gospodarcze, a jedynie 8 spośród nich stanowi podstawę wyżywienia ludzkości: pszenica, ryż, kukurydza, soja, trzcina cukrowa, ziemniak, proso i maniok. Prowadzone są poszukiwania nowych gatunków przydatnych dla produkcji żywności, pasz, czy surowców przemysłowych. Wdrożenie zdobyczy inżynierii genetycznej i komórkowej doprowadzić może do uzyskania zupełnie nowych, wartościowych odmian z pominięciem zasad rozwoju ewolucyjnego oraz przeciwdziałać może tendencjom ograniczającym produktywność roślin uprawnych. Wprowadzenie zmodyfikowanych odmian do praktyki rolniczej może mieć więc duże znaczenie dla wyżywienia obecnych i przyszłych generacji ludzkości.

Summary

Plant molecular biotechnology: perspectives and stimulations

Global crises in food production, extinction of main energy and raw materials sources, environmental pollution, are considered to be main stimuli for the development of plant biotechnology. Progress in molecular biology is discussed in this respect. Main fields of pertinent research, such as the improvement of nourishing values of main crops, the increase of plants productivity, and the decrease of energy consumption in crops production are pointed out.

Andrzej B. Legocki, ul. Madziarska 54, 61-615 Poznań.

Nowości!

Duże zaniepokojenie we Francji budzi wzrost zakażeń wirusem żółtej karłowatości jęczmienia obserwowany od końca 1988 r. Wirus ten przenoszony jest przez mszyce. Testy elektroforetyczne wykazały, że w centralnej Francji niektóre pola jęczmienia zaatakowane są w 20-100%, a łagodna zima spowodowała pogorszenie sytuacji, co grozi całkowitą utratą zbiorów z pewnej liczby pól.

M.F.