



Speciální vydání říjen 2022

SVĚT BIOTECHNOLOGIÍ

NBT – NADĚJE V BOJI S KLIMATICKOU ZMĚNOU

Toto speciální číslo bulletinu Svět biotechnologií vzniklo v návaznosti na konferenci „Nové techniky šlechtění (NBT) – naděje v boji s klimatickou změnou“ pořádanou spolkem BIOTRIN a Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze dne 26. května 2022 s finanční podporou České technologické platformy pro potraviny – ČTPP a Velvyslanectví USA v ČR.

OBSAH	Str.		Str.
Úvod	1-2	Příklady NBT plodin s potenciálem zmírnění	5-9
Klimatická změna a nedostatek potravin – aktuální situace ve světě	2-3	dopadů/prevence klimatické změny	
Charakteristika nejčastěji používaných nových technik šlechtění	3-5	NBT – naděje pro Afriku	9-10
		Regulace NBT ve světě	10-11
		Závěrem	11
		Seznam zdrojů	11-13



Úvod

Již delší dobu rezonuje společností otázka, zda lidstvu hrozí hlad. Odpověď na ní je stejně jako u všech zásadních témat složitá a ovlivňuje ji celá řada faktorů, především růst populace a klimatická změna, ale i válečné konflikty a z nich plynoucí důsledky. Jak snížit dopady těchto nepříznivých vlivů a předejít tomu, aby se již současná potravinová nedostatečnost, již trpí především rozvojové země, neprohlubovala? Možná dílčí i globální řešení přináší nezastavitelný vědecký pokrok a vývoj moderních technologií.

Populace lidí na naší planetě se za poslední desítky let téměř ztrojnásobila a další

růst ze současných osmi miliard na přibližně devět miliard obyvatel je očekáván během následujících 20 let. Primárním důsledkem rostoucí populace je větší spotřeba potravin a tlak na zvýšení a zefektivnění zemědělské produkce. Ta je ovšem omezena nejen limitovanou kapacitou zemědělských ploch, ale i stále častějšími a výraznějšími výkyvy klimatických podmínek. Rostoucí teploty, sucho nebo zasolení půd jsou příklady z celé řady vlivů, které mají zcela zásadní dopady na růst (nejen) základních plodin, a tedy i produkci potravin a krmiv pro hospodářská zvířata.

Kam se tedy má zaměřit naše pozornost při hledání možných řešení pro zmírnění dopadů klimatických změn? Jednou z nejslibnějších a ve světě již prověřených cest je vývoj a pěstování geneticky upravených plodin, které mohou nejen snížit používání pesticidů, ale především disponovat výhodnými vlastnostmi, jako je odolnost vůči škůdcům a chorobám, rychlejší růst nebo vyšší výnosy. Kromě geneticky modifikovaných (GM) organismů s vloženým úsekem cizorodé genetické informace se do popředí zájmu v posledních letech stále více dostávají organismy editované pomocí nových technik šlechtění, NBT (či nových genomických technik, NGT), při nichž k inzertu cizorodé DNA či RNA do genomu nedochází. Jak mohou tyto metody, jako jsou CRISPR, TALEN, ZFN a další, pomoci s řešením či prevencí dopadů klimatických změn?

Na toto téma byla zaměřena konference „Nové techniky šlechtění (NBT) – naděje v boji s klimatickou změnou“, jejíž hlavní výstupy a další rozšíření jsou shrnuty v tomto čísle bulletinu Svět biotechnologií.

Klimatická změna a nedostatek potravin – aktuální situace ve světě

Změny klimatu, které může pozorovat již několik let každý z nás, a nedostatek potravin, eskalovaný jak klimatickou změnou, tak i rostoucí populací, jsou dva hlavní problémy 21. století. Jejich řešení je v současnosti jednou z největších výzev pro celý svět (Raza et al., 2019, Malhi et al., 2021). Ve většině regionů světa je v blízké budoucnosti předpokládán zvýšený výskyt sucha, přičemž do roku 2100 by se plocha postižená suchem měla zvětšit ze současných 15,4 % na 44 % (Malhi et al., 2021). Dále se očekává, že počet obyvatel v roce 2050 vzroste přibližně na devět miliard a potřeba potravin tak vzroste až o 85 % (Raza et al., 2019). Tato čísla jasně poukazují na závažnost situace a nutnost hledání efektivních řešení.

V případě **rostlinné výroby**, která je jedním ze základních odvětví zemědělství, dochází proměnlivostí klimatu k vystavení rostlin mnoha stresům (Raza et al., 2019). Zvýšení teploty, vlny veder a sucha mají dopady na vše od snížení výnosů plodin, kvalitu vody pro zavlažování, zvýšení používání

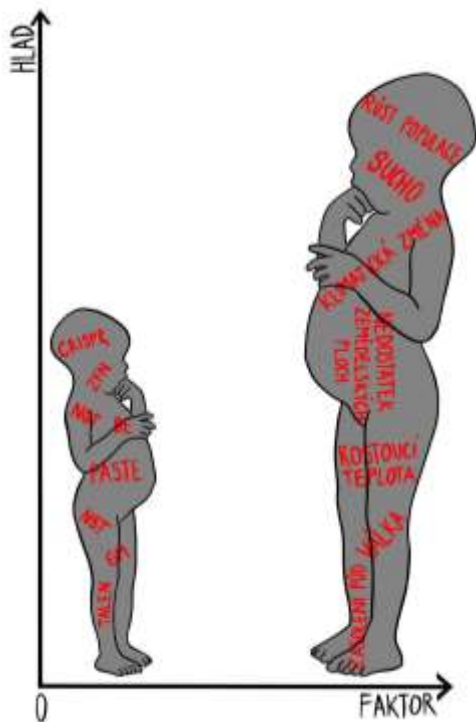
pesticidů, zdraví půdy až po sociálně-ekonomické dopady, jakými jsou např. nerovnoměrná distribuce plodin do světa či navýšení cen (Raza et al., 2019, Corwin, 2020, Godde et al., 2021).

Klíčovou roli v zásobování potravinami hraje v současné době také odvětví **živočišné výroby** a změny klimatu jsou velkým problémem i pro tuto část zemědělství. Hospodářská zvířata mají navíc i řadu dalších využití. Často jsou využívána jako tažná síla nebo dopravní prostředek, což přispívá k celkovému blahobytu a odolnosti mnoha komunit (Godde et al., 2021). Změny klimatu se týkají také oceánů, kdy je ovlivněna fyziologie, zastoupení, chování nebo početnost mnoha mořských druhů. Je prokázáno, že zvýšená teplota ovlivňuje růst ryb, kterým se zároveň zvýší rychlost metabolismu a nároky na dýchání, což vede ke snížení životně důležitých funkcí, mimo jiné i schopnost vyhýbání se predátorům (Ullah et al., 2018).

Vzhledem k tomu, že změna klimatu ovlivňuje také schopnost přepravy potravin z výroby na trh, přístup k rozmanité a kvalitní stravě může být značně omezený. Nedostatečné množství potravin s vysokým obsahem živin by mohlo vést ke zhoršení výživy zejména v komunitách s nízkými příjmy (Fanzo et al., 2018). Očekává se tak, že nejvíce bude zasažena subsaharská Afrika a jižní a jihovýchodní Asie (Fanzo et al., 2018, Malhi et al., 2021). Mnoho lidí v těchto regionech žije na venkově, zažívá chudobu a jejich životy, stejně jako mnoho systémů, do kterých jsou zapojeni, včetně zdravotnictví, vzdělávání a potravinových systémů, může být změnou klimatu významně ovlivněno (Fanzo et al., 2018).

Potenciál v boji proti klimatickým změnám, ale také pro posílení produkce potravin mají GM organismy i organismy editované pomocí NGT (Kovak et al., 2022, Vega Rodríguez et al., 2022). Různé přehledy vědecké literatury ukazují, že zavádění GM a NBT plodin vede k ekonomickým, environmentálním a zdravotním přínosům díky vyšším výnosům plodin, vyšším ziskům zemědělských podniků a v některých případech i nižšímu používání chemických pesticidů (Kovak et al., 2022, Yali, 2022). Několik studií také ukazuje, že použití

některých upravených plodin pomáhá snižovat emise skleníkových plynů. Vzhledem k tomu, že celosvětová poptávka po produkci potravin stále roste, může zvýšení výnosů plodin snížit potřebu začleňovat do produkce novou půdu, a zabránit tak dalším emisím CO₂ v důsledku změny využití půdy. V současné době představuje změna využití půdy více než 30 % emisí skleníkových plynů ze zemědělství (Kovak et al., 2022).



To je jen několik z mnoha důvodů, proč stojí GM a NBT plodiny za pozornost a osvětu v rámci celé společnosti. V další části textu uvádíme přehled perspektivních metod umožňujících cílené genetické úpravy plodin i příklady plodin, které již byly úspěšně geneticky upraveny a mají tak potenciál přispět k řešení popisované problematiky.

Charakteristika nejčastěji používaných nových technik šlechtění

V současnosti nejvíce využívané NBT jsou založeny především na tzv. editaci genomu, tedy na vysoce přesné a poměrně rychlé změně genetické informace, která umožňuje posílit žádané a potlačit nežádoucí vlastnosti plodin. Na rozdíl od tradičních transgenních genetických modifikací pracují NBT primárně s DNA daného organismu a ve většině případů tak nedochází k negativně vnímanému překročení druhové bariéry. Metody

používané jako NBT můžeme rozdělit do dvou skupin.

První skupinou jsou techniky využívající přímou úpravu jednotlivých genů. Do této kategorie spadá mutagenéza cílená pomocí oligonukleotidů a metody využívající endonukleázy („molekulární nůžky“) tvořící specifické dvouřetězcové zlomy v DNA. Nejčastěji se jedná o meganukleázy, nukleázy se zinkovými prsty (ZFN, z angl. Zinc Finger Nuclease), nukleázy označované jako TALEN (z angl. Transcription Activator-like Effector Nuclease), a především systém známý jako CRISPR (z angl. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Druhou skupinou jsou pak metody, které nemění samotné pořadí bází cílových genů, ale regulují jejich expresi, tedy výsledný projev. Do této kategorie řadíme epigenetické změny prostřednictvím methylace DNA, cisgenezi, agroinfiltraci, roubování nemodifikovaných roubov na GM podnože a reverzní šlechtění.

Níže naleznete stručnou charakteristiku vybraných perspektivních metod, které jsou používány pro genetické úpravy plodin.

Mutagenéza cílená pomocí oligonukleotidů (Site-directed mutagenesis, Oligonucleotide-directed mutagenesis)

Cílový gen je měněn pomocí specifických oligonukleotidů, což jsou krátké syntetizované úseky DNA (20-100 nukleotidů), které jsou k původnímu genu homologní, avšak nesou minimálně jednu nekomplementární bázi. Po vnesení do buňky tyto oligonukleotidy nasedají na příslušnou část genu. Nekomplementární báze je rozpoznána opravnými systémy samotné buňky, která následně spustí opravný mechanismus, kterým námi žádanou bází začlení do vlastního genomu. Původní oligonukleotidy jsou pak degradovány, takže buňka neobsahuje žádnou cizorodou DNA. V současné době je tato metoda používána zejména ve výzkumu.

Editace prostřednictvím endonukleáz

Endonukleázy jsou enzymy, které si můžeme představit jako molekulární nůžky „stříhající“ dvouvlákno DNA ve specifických místech. Umožňují tedy z genomu vyštěpit nebo do něj naopak vložit žádanou sekvenci, a to na přesně vybrané místo.

Meganukleázy

Tyto endonukleázy jsou charakteristické délkou sekvence, kterou rozpoznávají – typicky se jedná o úseky 12-40 párů bází. Díky tomu jsou vysoce specifické, neboť se daný úsek v genomu obvykle vyskytuje pouze jednou. Kromě toho vykazují také nízkou cytotoxicitu. Jejich specifita je ovšem také jejich hlavní nevýhodou, jelikož značně omezuje oblasti, které mohou být touto nukleázou modifikovány. Proto nejsou v praxi příliš využívány.

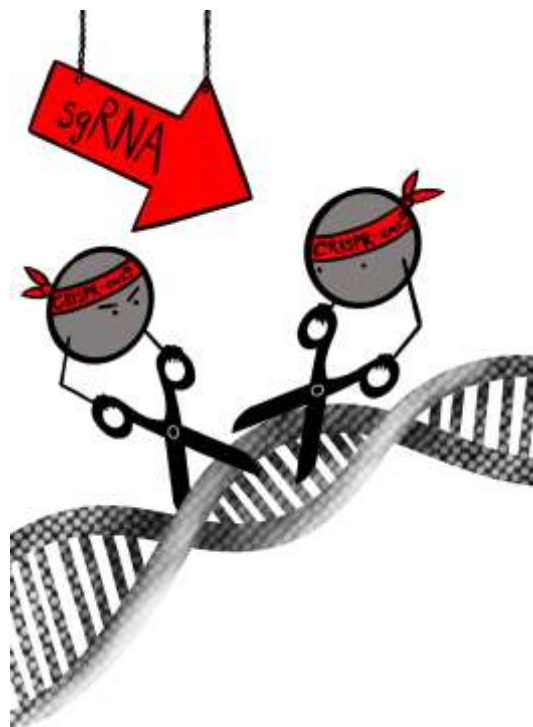
Nukleázy se zinkovými prsty (ZFN)

ZFN patří mezi nejstarší stále používané metody editace genomu. Jedná se o uměle vytvořené enzymy kombinující nespécifickou endonukleázu s doménami DNA-vazebných zinkových prstů, které se vážou na specifickou sekvenci tří až čtyř nukleotidů. Jelikož se jedná o velice krátký úsek, u kterého hrozí, že se bude v genomu mnohokrát opakovat, zvyšuje se přesnost ZFN použitím tří až čtyř různých domén ve formě dimerů, které rozpoznávají sekvenci 18-24 párů bází. Metoda je v současnosti na ústupu, v minulosti však byla používána např. k modifikacím bavlníku, sóji, kukuřice a rýže.

CRISPR

Editace genomu pomocí CRISPR je nejnovější a neúčinnější z metod NBT, která se od výše uvedených mutagenéz značně liší. Systém využívá bakteriální imunitní systém původně cílený proti virům, plazmidům a transposonům, který chrání buňku tím, že štěpí cizorodou DNA. Celý proces je cenově dostupný, rychlý a velmi přesný, takže jeho použití postupně převládá nad ostatními metodami. Nejčastěji se pro editaci používá CRISPR párovaný s enzymem Cas9 (CRISPR-Cas9). Ten je naváděn do cílového místa pomocí specifické krátké RNA (tzv. single-guide RNA, sgRNA). Po vnesení do buňky se enzym napojí na sgRNA a vlákno DNA, po kterém se pohybuje tak dlouho, dokud nenajde sekvenci komplementární k sgRNA. V daném místě pak DNA rozštěpí. Další osud genu pak závisí na okolních podmínkách. Pokud není v buňce přítomen homologní gen, podle kterého by mohlo být původní vlákno opraveno, dojde k tzv. nehomologní ligaci (spojení) volných konců rozštěpených vláken,

čímž dojde k vyřazení cílového genu. Pokud však homologní úsek DNA existuje, původní vlákna mohou být opravena homologní rekombinací, tzn. výměnou poškozeného úseku. Tímto způsobem lze v genomu editovat i jednotlivé nukleotidy a měnit tak vlastnosti bez použití cizorodé DNA.



TALEN

Podobně jako ZFN využívají tzv. TALE nukleázy spojení nespécifické endonukleázy a vazebné domény s motivy podobnými efektorům aktivujícím transkripci (TALE, Transcription Activator-like Effector). Specifita TALE vazby je dána pořadím aminokyselin ve vazebném místě, je ji tedy poměrně jednoduché naprogramovat. Navržení i provedení editace je proto jednodušší než při využití ZFN. Přesto může při použití TALEN docházet k ovlivnění necílových míst. V minulosti byla metoda úspěšně využita např. při vývoji rýže odolné vůči chorobám, pro zvýšení kvality sójového oleje, zlepšení vlastností pšenice, brambor, cukrové třtiny a rýže, ale také pro vývin bezrohého dobytka.

Metody nevyužívající přímou editaci genomu

RNA-dependentní methylace DNA (RdDM)

Tato metoda neovlivňuje pořadí bází cílených genů, ale ovlivňuje jejich expresi, tedy projev kódovaných vlastností. Využívá krátké

nekódující úseky RNA (sRNA), které jsou komplementární k promotoru cíleného genu, tedy oblasti, na kterou za normálních okolností nasedá RNA polymeráza zahajující transkripci. Kromě části komplementární k oblasti promotoru nese sRNA informaci pro vazbu DNA-methylační mašinerie, která promotor methyduje a znemožní tak transkripci daného genu. Výsledná methylace je do určité míry dědičná, pozměněná exprese tedy může pokračovat do dalších generací, dokud spontánně nevymizí. Tento systém je vysoce specifický, ale je použitelný převážně u rostlin. Byl použit např. pro zvýšení výnosnosti a odolnosti vůči stresu u sóji, rajčat a čiroku.

Cisgeneze

Tato metoda je velmi podobná původním genetickým manipulacím. Do genomu však není vnášena cizorodá (transgenní) DNA, ale úseky pocházející buďto ze stejného nebo vysoce příbuzného druhu, který je s původním druhem křížitelný. Vnášeny mohou být buďto původní funkční celky včetně regulačních elementů (cisgeneze), nebo mohou být geny a regulační sekvence různě kombinovány (intrageneze).

Agroinfiltrace

Jak už samotný název napovídá, jedná se o využití tekutých suspenzí bakterií z rodu *Agrobacterium*, které v sobě nesou sekvenci žádoucího genu, který by měl být v rostlině exprimován. Exprese probíhá pouze v těch částech rostliny, které byly bakteriemi infikovány (typicky v listech) a je pouze dočasná. Používá se tedy primárně ve výzkumu, např. pro zkoumání odolnosti rostlin vůči patogenům, a pro produkci rekombinantních proteinů. Pokud jsou však bakteriemi infikovány květy a dojde k selekci embryí nesoucích DNA pocházející z *Agrobacterium* sp., pak se jedná o tradiční transgenní genetickou modifikaci.

Roubování nemodifikovaných roubů na GM podnože

Při této metodě vznikají tzv. chiméry, jejichž kořenový systém je geneticky modifikován, ale nadzemní části nikoli. Vzniklá rostlina má zlepšené kultivační vlastnosti (např. zvýšená kapacita kořenového systému, zvýšená

odolnost vůči onemocněním přenášeným půdou), přičemž žádné nadzemní části (listy, stonky, květy, semena a plody) nenesou genetickou modifikaci a nejsou tedy označovány jako GMO.

Reverzní šlechtění

Tato metoda vychází z klasického šlechtění, kdy metodou pokus-omyl vznikají heterozygotní hybridní linie, které jsou kvalitnější než původní rostliny (větší plody, větší výnos, zvýšená odolnost apod.). Při reverzním šlechtění je tento proces obrácen, vychází se z tzv. elitní heterozygotní hybridní rostliny, která je následně transformována tak, aby u ní při meióze nedocházelo k rekombinacím mezi alelami. Tímto dojde k produkci homozygotních parentálních rostlin, ze kterých jsou vybrány ty, které neobsahují původní transgen. Rostliny pak mohou být používány ke stabilní hybridizaci a produkci elitních rostlin. V současnosti je použití metody omezeno pouze na rostliny s poměrně malým diploidním genomem.

Příklady NBT plodin s potenciálem zmírnění dopadů/prevence klimatické změny

Abiotické stresy, především zasolení půdy, teplo a sucho, jsou hlavní limitující faktory ovlivňující růst a produktivitu rostlin; spolu s vlivem vysokých koncentrací skleníkových plynů nebo chorob zemědělsky významných plodin dále prohlubují obavy z potravinové krize. Rostliny vystavené abiotickým stresovým podmínkám využívají pro kompenzování nepříznivých vlivů různé – často velmi složité - regulační mechanismy a produkují proteiny související s patogenezí. Mají však své limity a trvá celé generace, než si dokážou svou odolnost zvýšit běžnými evolučními mechanismy. Tento přirozený proces lze urychlit cílenými úpravami genomu, což dokazuje řada úspěšných výzkumných projektů. Níže uvádíme příklady GM a NBT plodin, jež byly upraveny s cílem vyšší odolnosti vůči hlavním, výše zmíněným nepříznivým vlivům a jež by mohly v budoucnu pomoci s řešením dopadů klimatické změny.

Tolerance vůči vysokým koncentracím soli

Přibližně 20 % světové zavlažované zemědělské půdy má zvýšený podíl soli

(Rengasamy, 2006), což zpomaluje nebo zcela znemožňuje růst plodin. Za toleranci rostlin k vyššímu obsahu soli v půdě je zodpovědný složitý mechanismus řízený mnoha geny a produkující specifické proteiny (Viktorova et al., 2019). Řada genetických úprav byla dosud zaměřena na jeden z nejlépe popsáných, hlavních proteinů produkovaných rostlinami s cílem zvýšení osmotolerance, osmotin. Prvními transgenními rostlinami obsahujícími ve svém genomu heterologní osmotinový gen byly v roce 1993 brambory a tabák, mnoho dalších pak následovalo. V nedávné době byly vyvinuty také transgenní jednoděložné rostliny nesoucí gen pro osmotin, konkrétně pšenice (2008), rýže (2011) nebo ječmen v roce 2019 (Viktorova et al., 2019).



Tolerance vůči výkyvům teplot/k vysokým teplotám

Obecně je tolerance vůči teplotě charakterizována menším účinkem základních rostlinných procesů, jako je fotosyntéza, a konzistentním zvyšováním množství transkriptů zapojených do biosyntézy ochranných složek buněk. Teplo tedy zesiluje inhibici fotosyntézy, při vysokých teplotách rostliny špatně rostou. Při tepelném stresu se uvnitř rostlinných buněk vytváří mnoho reaktivních forem kyslíku (ROS, angl. Reactive Oxygen Species), jako je peroxid vodíku

a superoxid, což vede k různým druhům fyziologických poruch ovlivňujících růst a produktivitu rostlin. Tyto ROS denaturují enzymy a poškozují různé buněčné složky uvnitř buněk. Tolerance vůči tepelnému stresu přímo koreluje se zvýšenou schopností rostlin vychytávat ROS (Chaitanya et al., 2002).

Díky tomu, že tolerance vůči vysokým teplotám je multigenního charakteru, byla již popsána řada možností, jak ji zvýšit. Jednou z účinných modifikací může být inserce genu kódujícího syntézu trimethylglycinu (TMG, betain), derivátu aminokyseliny glycinu, který se vyskytuje v rostlinách jako osmolyt. Ke zvýšení exprese TMG byl např. do rajčat vložen gen aldehyddehydrogenázy (BADH) ze špenátu. Po vložení tohoto genu byla u rostlin rajčat pozorována vyšší fotosyntetická aktivita a zvýšená tolerance vůči teplotě (Ali et al., 2014).

Odolnost vůči suchu

Odolnost vůči suchu je jednou z nejvíce a nejnáléhavěji potřebných vlastností rostlin, jichž se snaží vědci intenzivně dosáhnout. Jejich šlechtění však vyžaduje komplexnější změny s větším množstvím modifikací, tj. ovlivnění činnosti anebo zavedení většího množství genů (Lawlor, 2013).

Mezi slibné modifikace zvyšující odolnost rostlin při nedostatku vláhy jsou v literatuře řazeny modifikace vedoucí ke snížení osmotického potenciálu buněk např. prolinem, tj. genová exprese enzymů metabolických drah, které se pravděpodobně účastní reakcí rostlin na suchu (často označované jako "geny pro odolnost vůči suchu", což bývá některými autory vnímáno jako velmi zavádějící terminologie). Další možnou modifikací rostlin je ovlivnění transkripce ochranných proteinů, které se hromadí v buňkách při nedostatku vody a jsou považovány za činitele stabilizující proteinovou strukturu anebo působí jako chaperony (proteiny ovlivňující svinování proteinů a proteinových komplexů). Snížit vliv stresu pomáhá také zvýšení exprese enzymů zneškodňujících ROS, např. superoxidodismutázy, enzymu přeměňujícího superoxidový radikál na kyslík a peroxid vodíku dále rozkládaný katalázou nebo peroxidázou. Obecně ovlivnění metabolických drah podílejících se na odstraňování ROS

a jejich intermediátů (glutathion-askorbátový cyklus) přispívá k vyšší odolnosti rostlin vůči stresu.

Dalšími možnými modifikacemi jsou změny exprese signálních molekul, které mění rovnováhu buněčného metabolismu, např. trehalóza, fosfatidylinositol, ononitol nebo změny v metabolismu kyseliny abscisové (ABA), což ovlivňuje chování průduchů (stomatální chování). Pro růst v podmínkách s nedostatkem vody jsou vyvíjeny plodiny pomocí klasických metod transgenozy i pomocí NBT. Přesné nástroje pro úpravu genomu, zejména CRISPR-Cas9, byly účinně použity u rajčat, petúnie, citrusů, hroznů, brambor a jablek pro genové mutace, represe, aktivace i úpravy epigenomu.

Boj proti globálnímu oteplování

Koncentrace plynů, jako je metan (CH₄), oxid uhličitý (CO₂) a oxid dusný (N₂O), se od roku 1750 zvýšila o 150 %, 40 % a 20 % (Malhi et al., 2021). Emise těchto plynů, zejména CO₂, jsou hlavními faktory skleníkového efektu a vyšší průměrné globální teploty (Raza et al., 2019). Největším přispěvatelem CO₂ je Evropa, která ho vyprodukovala přibližně 514 miliard metrických tun, následovaná Asií a severoamerickým kontinentem, které zaznamenaly emise CO₂ po 457 miliardách metrických tun (Malhi et al., 2021).

Samotné přirozené odstraňování CO₂ není dostatečné pro boj proti změnám klimatu způsobeným člověkem. Ke snížení atmosférické koncentrace CO₂ jsou proto zapotřebí další zmírňující strategie, především efektivní využívání fosilních paliv a zavádění nekonvenčních paliv, jako jsou biouhlovodíky a bionafta (Zahed et al., 2021). Doposud bylo popsáno několik strategií pro zvýšení vychytávání CO₂, např. aktivní uhlí, zeolity nebo uhlíkové nanotrubičky. Tyto materiály však zatím nejsou komerčně dostupné a ani se neuvažuje o jejich využití ve větším měřítku.

Jako vhodné řešení se jeví zvýšené vychytávání CO₂ pomocí fotosyntetizujících organismů. Ze suchozemských rostlin ukládají většinu uhlíku stromy, které jsou ale geneticky složité a rostou pomalu (Delisi et al., 2020). Jako alternativní řešení se nabízí využití řas, především mikrořas, které mohou CO₂ využívat prostřednictvím fotosyntézy k produkci hmotné biomasy (Barati et al.,

2021). V současné době se jako jedna z nejslibnějších strategií jeví právě produkce biopaliv z mikrořas (Zahed et al., 2021). Nejvíce jsou zatím studovány zelené mikrořasy, které se dají snadno kultivovat, mají vysokou rychlost růstu a náklady na jejich růst jsou nízké (Barati et al., 2021).

Výrazný dopad na obsah uhlíku v atmosféře by mohly mít genetické modifikace některých vlastností rostlin, jako např. hloubka kořenů, architektura kořenového systému, výnos biomasy, fotosyntéza nebo účinnost využití vody a dusíku (Delisi et al., 2020). Existují tři hlavní oblasti, jejichž úpravami vědci cílí na zlepšení fixace CO₂, a to:

1. zvýšení účinnosti cest fixace CO₂ (např. vylepšení klíčových enzymů v Calvinově cyklu);
2. změny komplexů pro získávání energie (např. rozšíření rozsahu fotosynteticky aktivního záření);
3. zavedení další cesty fixace uhlíku (snížení uvolňování CO₂ nebo zvýšení asimilace CO₂) (Barati et al., 2021). Poslednímu zmíněnému bodu se momentálně věnují vědci v americké Kalifornii. Nedávno tam byl zahájen výzkumný program, který má za cíl upravit geny rostlin metodou CRISPR tak, aby došlo ke snížení uvolňování uhlíku do prostředí. Hlavními plodinami v tomto výzkumu by měly být rýže a čirok (Crownhart, 2022).

Odolnost vůči chorobám

V důsledku napadení rostlinnými škůdci a chorobami je každý rok ztraceno až 40 % roční produkce potravinářských plodin. Významnou roli při prevenci těchto ztrát výnosů hrají pesticidy (Ponnuachamy et al., 2021). Přestože pesticidy již významně přispěly k potravinové bezpečnosti a potravinové soběstačnosti milionům lidí na celém světě, regulace škůdců a chorob pravidelným používáním pesticidů není ani žádoucí, ani dlouhodobě udržitelná, neboť jejich používání vyvolává značné obavy ohledně dopadů na lidské zdraví a životní prostředí (Vincelli, 2016).

Nejúčinnějším prostředkem proti zmíněným hrozbám se tak jeví zvýšit odolnost samotných rostlin (Collinge et al., 2008).

K vývoji odolnějších odrůd pro boj s různými fytopatogeny je využíváno šlechtění rostlin či různé přístupy genového inženýrství (Talabayala et al., 2022). S využitím technik genového inženýrství byla již zaznamenána odolnost vůči virům (lilek brambor, maniok, Japonská rýže, okurka setá, tabák), vůči plísním (lilek brambor, vinná réva, rajče jedlé, vodní meloun, bavlník, kakaovník, papája, pšenice setá, Japonská rýže, sója, slunečnice, ječmen setý, kukuřice, tabák) i vůči bakteriím (rýže setá, banány, rýže basmati, rajče jedlé, grapefruit, pomeranč čínský, jablka) (Collinge et al., 2008, Talabayala et al., 2022). Doposud však bylo do komerčního zemědělství zařazeno pouze velmi málo z těchto GM plodin odolných vůči chorobám (Collinge et al., 2008).

Biofortifikace

Organizace OSN pro výživu a zemědělství odhaduje, že přibližně 792,5 milionu lidí na celém světě trpí podvýživou, z čehož 780 milionů lidí žije v rozvojových zemích (Garg et al., 2018). Kromě toho přibližně dvě miliardy lidí trpí dalším typem hladu, známým jako "skrytý hlad", který je způsoben nedostatečným příjmem základních mikroživin v denní stravě (Garg et al., 2018, Jha et Warkentin, 2020). Tento nedostatečný příjem mikroživin může vést k závažným onemocněním, jako je špatný růst, poruchy intelektu, perinatální komplikace či zvýšené riziko nemoci a úmrtnosti. Dále se mohou zhoršovat infekční a chronická onemocnění jako osteoporóza, osteomalacie, kolorektální karcinom nebo kardiovaskulární onemocnění (Jha et Warkentin, 2020).

Udržitelné a dlouhodobé řešení, jak lidem poskytnout plodiny bohaté na mikroživiny, nabízí biofortifikace různých odrůd plodin (Garg et al., 2018). Pod pojmem biofortifikace si lze představit zvyšování obsahu vitaminů a minerálních látek v rostlinách pomocí šlechtění rostlin a agronomických technik, ale i pomocí genového inženýrství (Maqbool et al., 2020). Některé organizace, jako Světová zdravotnická organizace nebo Poradní skupina pro mezinárodní zemědělský výzkum (CGIAR) dokonce zařadily vývoj biofortifikovaných plodin mezi své hlavní cíle. Nespornou výhodou biofortifikovaných plodin je to, že se

ke spotřebitelům dostávají tradičním způsobem jako ostatní plodiny, což představuje snadný způsob, jak pomoci i rodinám z nízkopříjmových skupin s omezeným přístupem k různorodé stravě (Garg et al., 2018).

V rozvojových zemích se v současné době již používají některé biofortifikované plodiny se zvýšeným množstvím β -karotenu (provitaminu vitamínu A), železa nebo zinku. Příkladem může být kukuřice, rýže, maniok či batát (zvýšený obsah β -karotenu), fazole, čočka, vigna čínská nebo perlové proso (zvýšený obsah železa) a rýže, pšenice nebo čočka (zvýšený obsah zinku) (Lockyer et al., 2018). Právě nedostatek těchto tří mikroživin je problémem převážně v asijských, afrických a latinskoamerických zemích a postihuje více než dvě miliardy lidí (Jha et Warkentin, 2020). Existuje ale i mnoho dalších biofortifikovaných plodin, které lze zařadit do několika skupin, a to obilovin (čirok, ječmen), luštěnin (lupina, sója), olejnin (řepka, hořčice), zeleniny (brambor, rajče, salát, mrkev, květák) či ovoce (jablko, mango, hroznové víno, banány) (Garg et al., 2018).

Kombinace odolnosti vůči několika nepříznivým faktorům

Dosud byly šlechtěny především plodiny vykazující jednu vylepšenou cílovou vlastnost. Kombinace vícero typů odolnosti vůči nepříznivým vlivům či jiných žádoucích vlastností v jedné rostlině by však byla více než prospěšná. Současný výzkum se zaměřuje ji i na tuto problematiku, což přináší řadu poznatků. Např. při snaze o zvýšení výnosů i odolnosti proti stresu je vhodné zabránit negativním účinkům "protistresových" proteinů na růst rostlin. K tomu lze použít různé strategie, které prostorově a časově omezují expresi vybraného transgenu.

Jedním z možných přístupů regulace exprese je použití tkáňově specifických a stresem indukovatelných promotorů. Tyto promotory usnadní regulaci metabolismu rostliny tím, že spouští expresi genů proteinů zvyšujících toleranci k abiotickému stresu v různých fázích růstu rostlin. Mimo promotorů bývají v transgenech použity i upravené specifické transkripční faktory a signální sekvence, což také vede k indukované expresi transgenů zapojených do

reakce na stres. Transkriptomové inženýrství se tak ukazuje jako slibná cesta pro vývoj abiotických plodin odolných vůči stresu.

Uvedené záměry i příklady GM či NBT organismů dokazují snahu vědců po celém světě o snížení dopadů klimatických změn, zejména s cílem zajištění dostatečného množství nutričně kvalitních potravin. V příštích pěti až deseti letech jsou mezi očekávané přínosy NBT rostlin v EU řazeny: zvýšení agronomické hodnoty (výnos, architektura rostlin), zvýšení odolnosti k biotickému stresu (onemocnění, škůdci), zvýšení nutriční hodnoty, zvýšení odolnosti vůči abiotickému stresu z prostředí, průmyslové aplikace (jako je například výroba škrobu) a tolerance k herbicidům (Jorasch, 2020). Podobné priority má i zbytek světa, přičemž jednou z nejvýrazněji se rozvíjejících oblastí, co se týče GM a NBT plodin, je Afrika, kde současná situace vyžaduje naléhavé řešení.

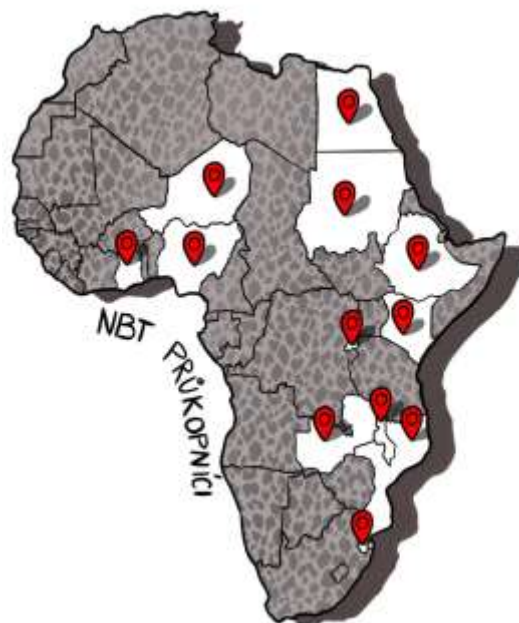
NBT – naděje pro Afriku

Africké státy jsou silně závislé na zemědělství a přidruženém zpracovatelském průmyslu. Vzhledem k všeobecné chudobě a populačnímu tlaku v nich však dochází k neustálému rozšiřování a zintenzivňování zemědělské produkce, která spolu s budováním potřebné infrastruktury vede k postupné degradaci půdy a ke snižování přirozené biodiverzity. Situace se dále zhoršuje vlivem globálních klimatických změn, které nedostatek potravin výrazně prohlubují.

Používání plodin upravených pomocí NBT by mohlo tyto nepříznivé dopady eliminovat. Popularita upravených rostlin v Africe každým rokem roste, a to navzdory všeobecnému negativnímu vnímání GMO širší populací. Průkopníkem v používání upravených plodin je Jihoafrická republika, která v roce 1998 začala pěstovat bavlník odolný vůči hmyzím škůdcům následovaný biotechnologicky upravenou kukuřicí a sójou. V roce 2021 však udělala země krok zpět, když legislativně neodlišila plodiny vzniklé pomocí NBT od tradičních transgenních rostlin. Jelikož počet států pěstujících upravené rostliny neustále narůstá, vznikla v roce 2010 v Africe pod záštitou Agentury pro rozvoj Africké unie iniciativa NEPAD (AUDA-NEPAD), která

podporuje vznik funkčních regulačních systémů zajišťujících bezpečnost používání GMO a NBT plodin.

V současnosti je pěstování upravených rostlin povoleno minimálně v rámci polních pokusů např. také v Súdánu, Malawi, Nigérii, Keni, Etiopii, Nigeru, Ghaně, Rwandě, Zambii, Mosambiku, Egyptě a ve Svazijském království. Mezi nejčastěji používané plodiny pak kromě výše zmíněných patří vřesovina čínská odolná vůči škůdci, kukuřice odolná vůči suchu a hmyzu, maniok odolný vůči nemoci způsobující jeho hnědnutí. Kromě toho jsou předmětem vývoje banány odolné vůči virům, jam (smladinec) odolný vůči viru mozaiky, plísni a se zvýšeným obsahem vitamínu A, hrachor setý se zlepšeným výnosem a nutričními vlastnostmi, pšenice odolná vůči suchu a zasolení půdy a rýže odolná vůči patogenu *Xanthomonas oryzae*.



Jak už bylo zmíněno výše, ne vždy se však setkává používání GM/NBT plodin s pochopením veřejnosti, včetně drobných farmářů. Podle nedávného průzkumu provedeného ghanou University for Development Studies se farmáři obávají především potenciálně vysoké ceny GM osiv, nespolehlivosti dodavatelů, selhání regulačních úřadů a možných negativních dopadů na životní prostředí a zdraví konzumentů. Jelikož strach z modifikovaných organismů často pramení z neznalosti, vydala

AUDA-NEPAD prohlášení vyvracející nejčastější mýty a dezinformace šířené anti-GMO aktivisty, např. o existenci studií potvrzujících, že konzumace GM způsobuje neplodnost nebo vede k rozvoji rakoviny. Doufejme, že bude AUDA-NEPAD v edukaci veřejnosti úspěšná. Pozitivní tlak veřejnosti by totiž mohl pomoci zefektivnit schvalovací procesy použitelnosti nových upravených plodin, které nepochybně povedou ke zlepšení socio-ekonomické situace celého kontinentu, a být tak inspirací pro další země, včetně EU.

Regulace NBT ve světě

Regulace NBT organismů se v jednotlivých zemích liší. Jednou z prvních zemí, které zveřejnily své usnesení o regulačním statusu NBT, byla Argentina (2015). Usnesení stanovilo, že v Argentině jsou plodiny získané pomocí NBT přezkoumávány na základě případových studií a konkrétním NBT plodinám mohou být uděleny výjimky na základě produktu nebo procesu jejich vzniku.

V USA je o produktech NBT rozhodováno na základě vlastností nového produktu – pokud nenese žádnou cizí DNA a změna nevede k vyšší virulenci nebo invazivitě rostliny, nemusí být výsledný organismus regulován jako GMO. Kanada se ve své legislativě nespolehá na hledání rozdílů mezi GM a geneticky nemodifikovanými plodinami a má za to, že NBT jsou dostatečně pokryty jejími vnitrostátními právními předpisy a nařízeními. V Indii nespadá schvalování NBT plodin *a priori* pod legislativu o GMO, která je hodnocena na federální úrovni. Namísto toho je schvalování NBT prováděno na státní úrovni (jako je tomu v případě nových geneticky nemodifikovaných plodin).

Oproti tomu v EU je s produkty získanými pomocí NBT technik nakládáno jako s GMO (dle rozhodnutí Soudního dvora Evropské unie ECLI:EU:C:2018:583). Legislativa EU o GMO se tedy vztahuje i na produkty, které jsou připravené pomocí technik jako CRISPR nebo TALEN. V současnosti je tedy evropské odvětví NBT šlechtění rostlin brzděno nedostatečnou jasností právních předpisů ve smyslu směrnice 2001/18/ES, jejíž aktualizace jsme se stále ještě nedočkali.

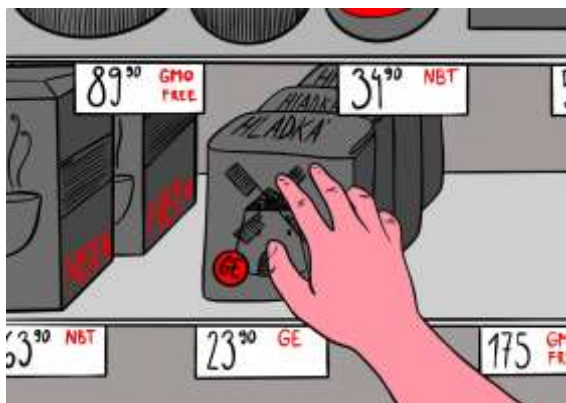


Přestože se legislativa týkající se GMO a NBT v jednotlivých zemích světa výrazně liší, lze identifikovat tyto hlavní skupiny:

1. výjimka (deregulace) produktů NBT na základě produktu nebo procesu: Argentina, Austrálie, Brazílie, Chile, Kolumbie, Honduras, Izrael, Japonsko, Paraguay, USA, Indie;
2. nakládání s NBT produkty je řešené podle obecného právního rámce (legislativa GMO nebo jiná): EU, Kanada, Čína, Egypt, Guatemala, Keňa, Mexiko, Nový Zéland, Nigérie, Norsko, Ruská federace, Jižní Afrika, Jižní Korea, Švýcarsko, Turecko, Uganda, Spojené království Velké Británie a Severního Irska, Ukrajina, Uruguay, Vietnam; zhruba polovina těchto zemí však diskutuje o tom, zda a případně jak přizpůsobit svou legislativu NBT produktům;
3. case-by-case přístup, tj. případové studie pro jednotlivé GE organismy aplikované tak, že si výrobce zjistí regulační status plánovaných produktů NBT prostřednictvím konzultací/dopisů před přípravou organismu; v mnoha jurisdikcích nabízejí vnitrostátní orgány žadatelům konzultace před předložením žádosti, aby objasnily regulační status produktu: Filipíny.

Charakteristiky vedoucí k vyjmutí geneticky editovaných organismů z GMO legislativy zahrnují nejčastěji nepřítomnost nové kombinace genetického materiálu, nepřítomnost rekombinantní DNA/RNA v konečném produktu či přítomnost pouze malých delecí a substitucí nebo cílených substitucí jednoho páru bází. Výjimky založené na procesu vylučují produkty NBT získané prostřednictvím specifických technik (např. určité techniky přechodné interference RNA) a mechanismy endogenní opravy bez použití templátů nukleových kyselin, např. mutagenese cílená pomocí oligonukleotidů, CRISPR a RdDM. Systémy výjimek na základě produktu a procesu lze kombinovat, např. vyjmout pouze produkty NGT, které jsou získány pomocí specifických technik a u nichž jsou změny v konečném produktu omezeny na substituce nebo delece jen jednoho páru bází. Oba typy výjimek často obsahují odkazy na tzv. přirozený výskyt, např. výjimky při zavedení genů, alel nebo strukturních variací, které se vyskytují v genofondu původní rostliny, nebo zavedení změn vyskytujících se také v přírodě nebo byly získány pomocí metod konvenčního šlechtění.

Závěrem lze shrnout, že potenciál GM i NBT plodin v boji s klimatickou změnou a (nejen) s ní souvisejícím nedostatkem potravin je značný. Na výše uvedených údajích i reálných příkladech lze jasně demonstrovat nutnost čelit nepříznivým vlivům i potřebu prohlubovat vědecké poznání a podporovat aplikace inovací do praxe.



Seznam zdrojů:

- ALI, A., MUZAFFAR, A., AWAN, M. F., UD DIN, S., NASIR, I. A. & HUSNAIN, T. 2014. Genetically modified foods: Engineered tomato with extra advantages. *Advancements in Life Science*, 1, 139-152.
- BARATI, B., ZENG, K., BAEYENS, J., WANG, S., ADDY, M., GAN, S.-Y. & ABOMOHRRA, A. E. 2021. Recent progress in genetically modified microalgae for enhanced carbon dioxide sequestration. *Biomass and Bioenergy*, 145, 105927.
- COLLINGE, D. B., LUND, O. S. & THORDAL-CHRISTENSEN, H. 2008. What are the prospects for genetically engineered, disease resistant plants? *European Journal of Plant Pathology*, 121, 217-231.
- CORWIN, D. L. 2020. Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. *European Journal of Soil Science*, 72, 842-862.
- CROWNHART, C. 2022. *This CRISPR pioneer wants to capture more carbon with crops* [Online]. Available: <https://www.technologyreview.com/2022/06/14/1053843/carbon-capture-crispr-crops/> [Accessed 22.9. 2022].
- DELISI, C., PATRINOS, A., MACCRACKEN, M., DRELL, D., ANNAS, G., ARKIN, A., CHURCH, G., COOK-DEEGAN, R., JACOBY, H., LIDSTROM, M., MELILLO, J., MILO, R., PAUSTIAN, K., REILLY, J., ROBERTS, R. J., SEGRÉ, D., SOLOMON, S., WOOLF, D., WULLSCHLEGER, S. D. & YANG, X. 2020. The role of synthetic biology in atmospheric greenhouse gas reduction: Prospects and challenges. *BioDesign Research*, 2020, 1016207.
- FANZO, J., DAVIS, C., MCLAREN, R. & CHOUFANI, J. 2018. The effect of climate change across food systems: Implications for nutrition outcomes. *Global Food Security*, 18, 12-19.
- GARG, M., SHARMA, N., SHARMA, S., KAPOOR, P., KUMAR, A., CHUNDURI, V. & ARORA, P. 2018. Biofortified crops generated by breeding, agronomy, and transgenic approaches are improving lives of millions of people around the world. *Frontiers in Nutrition*, 5, 12.
- GODDE, C. M., MASON-D'CROZ, D., MAYBERRY, D. E., THORNTON, P. K. & HERRERO, M. 2021. Impacts of climate change on the livestock food supply chain; a review of the evidence. *Global Food Security*, 28, 100488.
- CHAITANYA, K. V., SUNDAR, D., MASILAMANI, S. & RAMACHANDRA REDDY, A. 2002.

- Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars. *Plant Growth Regulation*, 36, 175-180.
- JHA, A. B. & WARKENTIN, T. D. 2020. Biofortification of pulse crops: Status and future perspectives. *Plants*, 9, 73.
- JORASCH, P. 2020. Potential, challenges, and threats for the application of new breeding techniques by the private plant breeding sector in the EU. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1-13.
- KOVAK, E., BLAUSTEIN-REJTO, D. & QAIM, M. 2022. Genetically modified crops support climate change mitigation. *Trends In Plant Science*, 27, 627-629.
- LAWLOR, D. W. 2013. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 64, 83-108.
- LOCKYER, S., WHITE, A. & BUTTRISS, J. L. 2018. Biofortified crops for tackling micronutrient deficiencies - what impact are these having in developing countries and could they be of relevance within Europe? *Nutrition Bulletin*, 43, 319-357.
- MALHI, G. S., KAUR, M. & KAUSHIK, P. 2021. Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. *Sustainability*, 13, 1318.
- MAQBOOL, A., ABRAR, M., BAKHSH, A., CALISKAN, S., KHAN, H. Z., ASLAM, M. & AKSOY, E. Biofortification under climate change: The fight between quality and quantity. In: FAHAD, S., HASANUZZAMAN, M., ALAM, M., ULLAH, H., SAEED, M., KHAN, I. A. & ADNAN, M. (eds.) *Environment, Climate, Plant and Vegetation Growth*. Springer Nature Switzerland AG: Cham, 2020; pp. 173-227.
- PONNUCHAMY, M., KAPOOR, A., SENTHIL KUMAR, P., VO, D.-V. N., BALAKRISHNAN, A., JACOB, M. M. & SEIVARAMAN, P. 2021. Sustainable adsorbents for the removal of pesticides from water: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 2425-2463.
- RAZA, A., RAZZAQ, A., MEHMOOD, S. S., ZOU, X., ZHANG, X., LV, Y. & XU, J. 2019. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plants*, 8, 34.
- RENGASAMY, P. Soil salinity and sodicity. In: STEVENS, D., KELLY, J., MCLAUGHLIN, M. & UNKOVICH, M. (eds.) *Growing crops with reclaimed wastewater*. CSIRO Publishing: Collingwood, Australia, 2006; pp. 125-138.
- TALAKAYALA, A., ANKANAGARI, S. & GARLADINNE, M. 2022. CRISPR-Cas genome editing system: A versatile tool for developing disease resistant crops. *Plant Stress*, 3, 100056.
- ULLAH, H., NAGELKERKEN, I., GOLDENBERG, S. U. & FORDHAM, D. A. 2018. Climate change could drive marine food web collapse through altered trophic flows and cyanobacterial proliferation. *PLOS Biology*, 16, e2003446.
- VEGA RODRÍGUEZ, A., RODRÍGUEZ-ORAMAS, C., SANJUÁN VELÁZQUEZ, E., HARDISSON DE LA TORRE, A., RUBIO ARMENDÁRIZ, C. & CARRASCOSA IRUZUBIETA, C. 2022. Myths and realities about genetically modified food: A risk-benefit analysis. *Applied Sciences*, 12, 2861.
- VIKTOROVA, J., KLCOVA, B., REHOROVA, K., VLCKO, T., STANKOVA, L., JELENOVA, N., CEJNAR, P., KUNDU, J. K., OHNOUTKOVA, L. & MACEK, T. 2019. Recombinant expression of osmotin in barley improves stress resistance and food safety during adverse growing conditions. *PLoS One*, 14, e0212718.
- VINCELLI, P. 2016. Genetic engineering and sustainable crop disease management: Opportunities for case-by-case decision-making. *Sustainability*, 8, 495.
- YALI, W. 2022. Application of genetically modified organism (GMO) crop technology and its implications in modern agriculture. *Agricultural Science and Food Technology*, 8, 014-020.
- ZAHED, M. A., MOVAHED, E., KHODAYARI, A., ZANGANEH, S. & BADAMAKI, M. 2021. Biotechnology for carbon capture and fixation: Critical review and future directions. *Journal of Environmental Management*, 293, 112830.
- Rozhodnutí Soudního Dvora Evropské unie ECLI:EU:C:2018:583. Available: https://food.ec.europa.eu/system/files/2021-04/gmo_mod-bio_ngt_eu-study.pdf [Accessed 22.9. 2022]
- Commission Staff Working Document: Study on the Status of new genomic techniques under Union law and in light of the Court of Justice ruling in Case C-528/16. Available: <https://allianceforscience.cornell.edu/blog/2022/04/in-boost-for-agriculture-india-exempts-gene-edited-crops-from-biosafety-assessment/> [Accessed 22.9. 2022]

Autorky textů (abecedně):

Ing. Tereza Branyšová,
Ing. Simona Lencová, Ph.D.,
Ing. Hana Michova, Ph.D.,
Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.,

odbornice z VŠCHT v Praze a členky
BIOTRINU, z.s.

Revize textů:

RNDr. Slavomír Rakouský, CSc.,
Ing. Simona Lencová, Ph.D.,

členové BIOTRINU, z.s.

Autorka ilustrací:

Ing. Barbora Hošková,
členka BIOTRINU, z.s.

Vydání publikace finančně podpořili:

Česká technologická platforma pro potraviny



Publikace byla vydána v rámci Priority D (Bezpečnost potravin) Výborem pro bezpečnost potravin a důvěru spotřebitele České technologické platformy pro potraviny, ve spolupráci s Potravinářskou komorou České republiky za finanční podpory Ministerstva zemědělství ČR (dotační titul 10.E.a/2022).

Velvyslanectví USA v České republice



Další informace o biotechnologiích najdete na
www.biotrin.cz.

Zasílání pravidelných novinek z oblasti
biotechnologií je možné přihlásit na
info@biotrin.cz.