Molekularne i ewolucyjne aspekty projektowania odporności roślin na owady w świetle publikacji Insect-Plant Interactions Volume 2 Jamina Aliego.

AUTOR

Fundacja Dobre Państwo

STRESZCZENIE / ABSTRACT

Artykuł analizuje przejście od klasycznej hodowli roślin do zaawansowanej genomiki funkcjonalnej i biologii syntetycznej w celu zwalczania szkodników. Autor podkreśla, że współczesna ochrona upraw wymaga podejścia interdyscyplinarnego, łączącego edycję genów CRISPR-Cas9 z analizą pan genomową, która pozwala zidentyfikować zmienność genetyczną niedostępną w pojedynczych genomach referencyjnych. Kluczowym wyzwaniem jest zrozumienie złożonej architektury biologicznej roślin oraz ewolucyjnych strategii adaptacyjnych owadów. Zamiast mechanicznego zwiększania liczby genów odporności, dąży się do optymalizacji sieci regulatorowych i metabolicznych, aby uzyskać trwały efekt ochronny przy zachowaniu plonowania i bezpieczeństwa środowiskowego. Tekst wskazuje na istotną rolę mapowania QTL oraz GWAS w identyfikacji komponentów odpowiedzialnych za różnice w odporności między genotypami.

The article analyzes the transition from classical plant breeding to advanced functional genomics and synthetic biology to combat pests. The author emphasizes that modern crop protection requires an interdisciplinary approach, combining CRISPR-Cas9 gene editing with pan-genomic analysis, which allows for the identification of genetic variation unavailable in single reference genomes. A key challenge is understanding the complex biological architecture of plants and the evolutionary adaptation strategies of insects. Instead of mechanically increasing the number of resistance genes, the goal is to optimize regulatory and metabolic networks to achieve a lasting protective effect while maintaining yield and environmental safety. The text indicates the

significant role of QTL mapping and GWAS in identifying components responsible for differences in resistance between genotypes.

Artykuł analizuje ewolucję paradygmatu ochrony roślin, wskazując na przejście od prostych modyfikacji genetycznych ku zaawansowanemu projektowaniu odporności w oparciu o genomikę funkcjonalną i narzędzia CRISPR-Cas. Główna teza zakłada, że skuteczna inżynieria biologiczna nie może ograniczać się do mechanicznego wprowadzania pojedynczych cech, lecz musi uwzględniać systemową złożoność organizmu – w tym sieci regulacyjne, koszty fizjologiczne (plejotropię) oraz dynamiczną zdolność owadów do adaptacji. Autor dowodzi, że precyzyjna edycja genomu, choć potężna, nie gwarantuje przewidywalnych efektów fenotypowych bez głębokiego zrozumienia interakcji genotyp-środowisko oraz różnic między odpornością biologiczną a produktywnością gospodarczą. Tekst podkreśla konieczność interdyscyplinarnego podejścia, łączącego biotechnologię z ekologią ewolucyjną, aby tworzyć rozwiązania trwałe i bezpieczne dla agroekosystemu, zamiast doraźnych narzędzi, które mogą zostać szybko zneutralizowane przez mechanizmy oporności szkodników.

SŁOWA KLUCZOWE

projektowanie odporności roślin | edycja genomu CRISPR-Cas9 | pangenomika roślin | geny podatności | białka Bt | metabolity wyspecjalizowane | piramidyzacja cech | pleiotropia genetyczna | analiza pangenomowa | interferencja RNA | mapowanie QTL | transportery ABC | strategia refugia | biologia syntetyczna

Genom rośliny jako dynamiczna przestrzeń projektowania odporności

GENOM ROŚLINY JAKO PRZESTRZEŃ PROJEKTOWANIA ODPORNOŚCI. GENOMIKA PORÓWNAWCZA, EDYCJA CRISPR-CAS, INTERFERENCJA RNA, BIAŁKA BT, BIOLOGIA SYNTETYCZNA ORAZ EWOLUCYJNE I ŚRODOWISKOWE GRANICE INŻYNIERII OCHRONY ROŚLIN

Zrozumienie molekularnej architektury odporności roślin oraz ewolucyjnych kontrstrategii owadów prowadzi do zasadniczej zmiany w koncepcji ochrony upraw. Materiał genetyczny przestaje być tu traktowany wyłącznie jako dziedziczny zapis właściwości organizmu, a staje się przedmiotem celowego, empirycznie kontrolowanego doskonalenia. Przejście od klasycznej hodowli selekcyjnej ku genomice funkcjonalnej, edycji genomu i biologii syntetycznej nie oznacza jednak zerwania z ewolucyjnymi podstawami biologii; każda interwencja technologiczna pozostaje bowiem osadzona w strukturze ukształtowanych wcześniej szlaków metabolicznych, sieci regulatorowych i zależności ekologicznych. Człowiek może modyfikować sekwencję konkretnego genu, zmieniać ekspresję jego produktu, wprowadzać nowy mechanizm biologiczny lub ograniczać aktywność regulatora odpowiedzialnego za podatność na konsumenta, lecz ostateczna skuteczność tych działań zależy od funkcjonowania całego organizmu oraz zdolności populacji antagonistycznych do dalszej adaptacji.

Współczesna biotechnologia ochrony roślin wymaga zatem podejścia interdyscyplinarnego, łączącego genetykę molekularną z fizjologią, chemią metabolitów wyspecjalizowanych, entomologią, ekologią ewolucyjną i ekonomią innowacji. Jej celem nie powinno być mechaniczne zwiększanie liczby genów związanych z odpornością ani maksymalizowanie stężenia wszystkich substancji obronnych, lecz takie przekształcanie architektury biologicznej, aby uzyskać korzystny bilans między ograniczeniem strat, zdolnością plonowania, bezpieczeństwem środowiskowym a trwałością efektu w kolejnych pokoleniach. Z perspektywy teorii systemów genom nie funkcjonuje jako zbiór niezależnych przełączników odpowiadających pojedynczym cechom, lecz jako złożona sieć elementów kodujących i regulatorowych, której aktywność zależy od stanu komórki, historii rozwojowej oraz warunków środowiska. Kluczowym problemem współczesnej genomiki roślin pozostaje identyfikacja tych komponentów zmienności genetycznej, które rzeczywiście odpowiadają za różnice w odporności pomiędzy genotypami. Klasyczna analiza ilościowych loci cech (quantitative trait loci, QTL) pozwala wykrywać fragmenty genomu powiązane statystycznie z określonym fenotypem, lecz nie rozstrzyga automatycznie, który konkretny gen i jaka zmiana sekwencji odpowiadają za wykryty efekt.

W przypadku odporności na owady należy zauważyć, że obserwowana cecha może zależeć jednocześnie od składu chemicznego tkanek, ilości wydzielanego lateksu, budowy kutykuli, aktywności szlaków hormonalnych oraz zdolności regeneracyjnych organizmu.

Genetyczna złożoność odporności wymaga analizy pangenomowej i poliploidalnej

Z perspektywy genetyki ilościowej oznacza to powstawanie fenotypu wieloczynnikowego, którego wartość zależy od wielu loci o odmiennych efektach oraz od interakcji między genotypem a środowiskiem. Mapowanie QTL stanowi etap identyfikacji obszarów genomu istotnych dla konkretnej właściwości, jednak wymaga ono dalszego zawężania regionów kandydackich, analiz ekspresji genów oraz eksperymentalnej weryfikacji ich funkcji. Użyteczne są tutaj badania asocjacyjne całego genomu (GWAS), w których naturalna zmienność genetyczna wielu linii jest analizowana w powiązaniu z różnicami fenotypowymi. Ich wiarygodność zależy jednak od właściwego uwzględnienia struktury populacyjnej, pokrewieństwa genotypów oraz nierównomiernego rozkładu wariantów allelicznych. Warto zauważyć, że locus wykazujące związek z odpornością w jednej populacji hodowlanej nie musi posiadać identycznej wartości użytkowej w innym tle genetycznym, zwłaszcza gdy jego funkcjonowanie zależy od interakcji z innymi regulatorami.

Rozwój pangenomiki rozszerza ten problem, gdyż pojedynczy genom referencyjny nie zawiera pełnej informacji o zmienności występującej w obrębie gatunku uprawnego. Pangenom obejmuje zbiór sekwencji i genów rozpoznanych w wielu reprezentatywnych genomach, co pozwala identyfikować warianty strukturalne, zmiany liczby kopii genów oraz fragmenty obecne tylko w części populacji. Ma to kluczowe znaczenie dla odporności na owady, ponieważ geny związane z biosyntezą metabolitów wyspecjalizowanych i regulacją odpowiedzi obronnej mogą podlegać duplikacjom, delecjom oraz zmianom organizacji chromosomalnej. W efekcie dwie linie tego samego gatunku mogą różnić się nie tylko sekwencją enzymów, lecz także liczbą dostępnych genów i ich powiązaniem z lokalnymi elementami regulatorowymi. Z punktu widzenia hodowli cenne są geny obecne w dzikich krewniakach roślin uprawnych, których określone warianty mogły zostać utracone lub ograniczone podczas udomowienia i selekcji produkcyjnej. Ich ponowne wprowadzenie może nastąpić poprzez tradycyjną introgresję, selekcję wspomaganą markerami albo precyzyjne modyfikacje sekwencji.

Nie oznacza to jednak, że allele z dzikich populacji są zawsze korzystniejsze od wariantów odmian użytkowych. Mogą one być powiązane z cechami niepożądanymi rolniczo, takimi jak niższe plonowanie, późniejsze dojrzewanie czy gorsza jakość surowca. Właściwa ocena wymaga zatem rozpoznania nie tylko efektu odpornościowego, lecz również konsekwencji plejotropowych i zależności wynikających ze sprzężenia genetycznego.

Szczególną trudność stanowią genomy poliploidalne, obejmujące więcej niż dwa homologiczne zestawy chromosomów lub ślady wcześniejszych duplikacji. W przypadku rzepaku (Brassica napus) kluczowa jest allotetraploidalna organizacja genomu, będąca wynikiem połączenia genomów spokrewnionych przodków, co prowadzi do występowania wielu homologicznych kopii genów o częściowo nakładających się funkcjach. Inaktywacja pojedynczego homoeologu może nie wywołać wyraźnej zmiany fenotypu, jeśli pozostałe kopie zapewniają wystarczającą aktywność szlaku. Z drugiej strony jednoczesne ograniczenie funkcji kilku kopii może przynieść znacznie silniejsze skutki, wpływając nie tylko na odporność, ale i na wzrost, reprodukcję czy metabolizm. Duplikacja genomu może zwiększać możliwości ewolucyjnego różnicowania regulatorów, lecz jednocześnie utrudnia przewidywanie rezultatów precyzyjnej edycji jednego genu. Podobne wyzwania pojawiają się w hodowli pszenicy zwyczajnej, której heksaploidalny genom zawiera wiele kopii genów o istotnych funkcjach obronnych.

Nie można więc zakładać, że narzędzie skutecznie modyfikujące jedną sekwencję u diploidalnego organizmu modelowego zapewni identyczną zmianę fizjologiczną u odmiany poliploidalnej. Niezbędna jest analiza wszystkich odpowiednich kopii genów, ich ekspresji w różnych tkankach oraz możliwej kompensacji wynikającej z aktywności pozostałych komponentów sieci. Z perspektywy biologii ewolucyjnej kluczowe jest tu rozróżnienie między redundancją genetyczną a rzeczywistą równoważnością funkcjonalną, ponieważ homoeologi mogą podlegać odmiennej regulacji i uczestniczyć w różnych procesach zależnie od stadium rozwoju organizmu.

Precyzja edycji genomu a nieprzewidywalność efektów

W tym kontekście należy interpretować znaczenie technologii CRISPR-Cas, wywodzących się z bakteryjnych i archeonowych systemów obrony przed obcym materiałem genetycznym. W klasycznym narzędziu wykorzystującym nukleazę Cas9 z Streptococcus pyogenes kluczową rolę odgrywa RNA przewodnikowe, które dzięki komplementarności zasad umożliwia rozpoznanie odpowiedniej sekwencji DNA. Nukleaza wiąże wybrany fragment genomu pod warunkiem występowania motywu sąsiadującego z protospacerem (PAM), a następnie może wprowadzić przecięcie obu nici DNA. Naprawa takiego uszkodzenia przez endogenne mechanizmy komórkowe prowadzi do powstawania niewielkich insercji lub delecji, których efekt zależy od sposobu naprawy i lokalizacji cięcia. Jeśli zmiana dotyczy sekwencji kodującej, może dojść do przesunięcia ramki odczytu i utraty funkcji białka, choć nie każdy indel wywołuje taki skutek; w niektórych przypadkach powstają warianty zachowujące częściową aktywność enzymatyczną lub odmiennie wpływające na stabilność białka.

Zasadniczą właściwością klasycznej edycji CRISPR-Cas9 nie jest zatem automatyczne „włączanie" konkretnego genu odporności, lecz możliwość wywołania ukierunkowanej zmiany w wybranym miejscu genomu. Ostateczny rezultat zależy od funkcji edytowanej sekwencji oraz mechanizmów naprawczych organizmu. Z tego względu projektowanie odporności wymaga wcześniejszego rozpoznania relacji między genem a fenotypem, gdyż techniczna zdolność modyfikacji DNA nie jest równoznaczna z przewidywalnością skutków fizjologicznych. Rozwój kolejnych generacji narzędzi poszerzył możliwości ingerencji poza klasyczne wywoływanie pęknięć obu nici DNA. W edycji zasad (base editing) wykorzystuje się zmodyfikowane białka Cas sprzężone z enzymami, które umożliwiają chemiczną zmianę określonej zasady nukleotydowej bez konieczności wprowadzania typowego dwuniciowego przecięcia. Systemy edycji cytozynowej pozwalają na przekształcenie par C-G w T-A, natomiast systemy adeninozydowe umożliwiają konwersje prowadzące do powstawania par G-C. Rozwiązania te mogą służyć precyzyjniejszemu odtwarzaniu znanych alleli odpornościowych lub wprowadzaniu konkretnych substytucji aminokwasowych w białkach regulatorowych.

Swoistość edycji zależy jednak od właściwości zastosowanego edytora i kontekstu sekwencyjnego; niektóre układy mogą prowadzić do zmian kilku zasad znajdujących się w oknie aktywności. Jeszcze większą elastyczność zapewnia prime editing, w którym kompleks obejmujący zmodyfikowaną nukleazę i odwrotną transkryptazę wykorzystuje specjalnie zaprojektowane RNA do wprowadzania precyzyjnych zmian w sekwencji.

Precyzyjny dobór narzędzi genetycznych i analiza genów podatności

W praktyce roślinnej efektywność takich systemów jest zróżnicowana, a uzyskanie odpowiedniej precyzji często wymaga dostosowania konstrukcji molekularnej do konkretnego gatunku i miejsca w genomie. Z perspektywy hodowlanej szczególnie wartościowa jest możliwość odtwarzania naturalnie występujących alleli bez konieczności długotrwałego przenoszenia dużych fragmentów chromosomów z odległych linii, choć uzyskany rezultat biologiczny nadal wymaga pełnej weryfikacji.

Odrębnego wyjaśnienia wymaga różnica pomiędzy edycją genomu, transgenezą a regulacją ekspresji genów, gdyż technologie te bywają błędnie przedstawiane jako jedna, jednolita metoda. Edycja genomu pozwala na zmianę sekwencji endogennego genu bez trwałego pozostawienia obcego DNA w końcowej linii hodowlanej, choć na etapie laboratoryjnym może wymagać wprowadzenia odpowiednich konstrukcji genetycznych. Transgeneza polega natomiast na trwałym

wprowadzeniu materiału genetycznego pochodzącego spoza dotychczasowego repertuaru badanego organizmu, przy czym szczegółowa klasyfikacja konkretnych konstrukcji zależy często od źródła i organizacji sekwencji.

Z kolei modyfikowanie ekspresji przy użyciu katalitycznie nieaktywnych wariantów Cas, połączonych z regulatorami transkrypcji, pozwala zwiększać lub ograniczać aktywność wybranych genów bez zmiany ich sekwencji kodującej. Należy pamiętać, że przejściowa regulacja ekspresji różni się od stabilnej zmiany dziedzicznej; jej zastosowanie wymaga zatem odrębnego rozpoznania trwałości efektu oraz sposobu dostarczania komponentów. Projektowanie roślin odpornych nie powinno więc rozpoczynać się od wyboru modnej technologii, lecz od ustalenia biologicznego mechanizmu wymagającego zmiany i określenia rodzaju interwencji, która zapewni skuteczność przy minimalnym ryzyku niepożądanych następstw.

Szczególnie interesującą strategią jest edycja tzw. genów podatności (susceptibility genes), których aktywność w określonych warunkach ułatwia organizmowi antagonistycznemu wykorzystanie gospodarza lub osłabia odpowiedzi ochronne. Pojęcie to wymaga jednak precyzyjnego stosowania, ponieważ gen podatności nie musi być strukturą biologicznie niekorzystną dla samej rośliny. Może on pełnić istotną funkcję w regulacji wzrostu, reprodukcji, metabolizmu czy odpowiedzi na stres, a jego aktywność zwiększa podatność na konkretnego owada jedynie jako uboczne następstwo szerszych zależności fizjologicznych. Z tego względu inaktywacja takiego genu może zwiększyć odporność, ale równocześnie wywoływać koszty rozwojowe, których znaczenie ujawnia się dopiero podczas długotrwałych doświadczeń.

Ważne jest odróżnienie genu, którego produkt jest bezpośrednio wykorzystywany przez konsumenta, od regulatora pośrednio wpływającego na dostępność substancji ochronnych. W pierwszym przypadku zmiana ogranicza konkretną interakcję molekularną, w drugim zaś prowadzi do reorganizacji całej sieci metabolicznej. Z punktu widzenia projektowania odporności najciekawsze są regulatory o relatywnie niskich kosztach utraty funkcji, jednak ich identyfikacja wymaga uwzględnienia właściwości konkretnego genotypu i warunków środowiskowych. Nie ma więc podstaw do uznawania inaktywowania genu podatności za uniwersalnie korzystny zabieg hodowlany, niezależny od jego pozostałych funkcji.

Pouczający przykład dostarczyły badania Hai-pinga Lu, Ting Luo, Hao-weia Fu i współpracowników z 2018 roku (opublikowane w „Nature Plants”), dotyczące roli biosyntezy serotoniny w odporności ryżu na określone fitofagi. Autorzy wykazali, że żerowanie skoczków ryżowych i niektórych owadów uszkadzających łodygi może prowadzić do wzrostu biosyntezy serotoniny – produktu przemian tryptofanu. Kluczowe znaczenie ma tu enzym CYP71A1 (hydroksylaza tryptaminy), uczestniczący w przekształcaniu tego związku w serotoninę. W

mutantach ryżu o nieaktywnej funkcji CYP71A1 stwierdzono ograniczenie biosyntezy serotoniny, zwiększoną akumulację kwasu salicylowego i wyższą odporność na określonych konsumentów. Dowodem przyczynowego znaczenia tego szlaku były doświadczenia, w których egzogenne podanie serotoniny osłabiało odporność roślin, a dodanie jej do sztucznego pokarmu sprzyjało rozwojowi owadów. Wyniki te dowodzą, że zwiększenie odporności może następować przez ograniczenie syntezy metabolitu sprzyjającego konsumentowi, zamiast przez zwiększenie produkcji klasycznej substancji toksycznej.

Warto jednak zaznaczyć, że badanie to stanowi dowód funkcjonalnego znaczenia CYP71A1, a nie gotowe komercyjne wdrożenie odmian ryżu uzyskanych technologią CRISPR-Cas9. Wynik ten wskazuje na wartościowy cel dla dalszych prac hodowlanych i edycyjnych, a nie automatycznie na powszechne zastosowanie tej technologii w gospodarstwach rolnych.

Wpływ edycji genetycznej na metabolizm i odporność

W ujęciu biochemicznym szlak serotoniny i metabolizm kwasu salicylowego są powiązane z przemianami wspólnych prekursorów oraz funkcjonalnym oddziaływaniem odpowiednich regulatorów. Ograniczenie aktywności enzymu katalizującego jedną z tych przemian może zmienić dostępność substratów i względną aktywność innych gałęzi metabolizmu, co prowadzi do skutków trudnych do przewidzenia na podstawie samej funkcji białka docelowego. Kluczowe jest tutaj rozróżnienie między bezpośrednim efektem metabolicznym a późniejszą reorganizacją odpowiedzi hormonalnej, gdyż wzrost stężenia kwasu salicylowego może wynikać z kilku współdziałających procesów regulatorowych. Zatem uzyskanie odporności poprzez inaktywację CYP71A1 nie oznacza automatycznie, że serotoninę należy uznawać za uniwersalny czynnik osłabiający obronę wszystkich roślin.

Jej funkcje zależą od gatunku, rodzaju tkanki, stężenia i biologicznego kontekstu działania. Istotna pozostaje możliwość wpływania tego typu interwencji na metabolizm podstawowych aminokwasów, których dostępność rzutuje na wzrost i reprodukcję. Z perspektywy hodowlanej konieczne jest zatem uwzględnienie nie tylko intensywności uszkodzeń powodowanych przez owady, lecz także architektury rośliny, jej produktywności, gospodarki azotowej i zachowania w warunkach stresu abiotycznego. Geny o potencjalnie korzystnym działaniu odpornościowym wymagają wielowymiarowej oceny, zanim zostaną uznane za odpowiednie cele dla trwałej zmiany programu hodowlanego.

Bardziej bezpośrednie potwierdzenie możliwości wykorzystania CRISPR-Cas9 do zwiększania odporności na owady przyniosły badania nad soją Glycine max, obejmujące gen GmUGT kodujący

UDP-glikozylotransferazę. W publikacji z 2022 roku przedstawiono wyniki doświadczeń, w których zastosowano ukierunkowaną edycję genu Glyma.07g110300, wcześniej powiązanego z locus ilościowej odporności na owady uszkadzające liście. Wytworzone linie mutantów obejmowały między innymi wariant z delecją 33 par zasad oraz wariant z insercją pojedynczego nukleotydu, prowadzące do zmiany funkcjonalnej organizacji białka.

Autorzy wykazali, że odpowiednie linie roślin charakteryzowały się zwiększoną odpornością na gąsienice Helicoverpa armigera i Spodoptera litura, podczas gdy nadekspresja badanego genu prowadziła do większej podatności na te szkodniki. Odporność tę powiązano ze zmianami zawartości flawonoidów i ekspresji genów uczestniczących w ich biosyntezie. Wynik ten stanowi przekonujący przykład interwencji, w której zwiększenie odporności następuje poprzez zmianę sposobu przekształcania metabolitów roślinnych, a nie przez bezpośrednie wprowadzenie nowej toksyny owadobójczej.

Koszty fizjologiczne i pleiotropia w edycji genów odporności

Jednocześnie autorzy nie odnotowali oczywistych zmian w części analizowanych cech morfologicznych, co sugeruje korzystny bilans między odpornością a rozwojem w badanych warunkach. Nie wyklucza to jednak całkowicie wystąpienia kosztów fizjologicznych w innych środowiskach; ich wykrycie mogłoby wymagać wielosezonowych analiz i szerszego zestawu parametrów produkcyjnych.

Zasadniczą wartość tego przykładu ukazuje porównanie mechanizmu działania roślinnej glikozylotransferazy z funkcją owadzich UGT, opisaną we wcześniejszych częściach opracowania. W organizmie konsumenta glikozylacja konkretnego metabolitu może służyć jego detoksykacji poprzez zmianę właściwości chemicznych substancji pobranej z pokarmem. Z kolei w roślinie odpowiedni enzym może przekształcać metabolity wyspecjalizowane tak, by ich aktywność biologiczna wobec konsumenta uległa zmniejszeniu lub zmianie. W rezultacie inaktywacja danej glikozylotransferazy może zwiększyć zawartość substancji silniej chroniących roślinę, choć dokładny mechanizm zależy od struktury substratu i produktu. Glikozylacji nie należy zatem traktować automatycznie jako reakcji jednoznacznie zwiększającej lub zmniejszającej toksyczność – jej efekt jest właściwością konkretnego układu metabolicznego. Interesujące jest również to, że utrata funkcji regulatora bądź enzymu może podnieść odporność bez konieczności intensyfikowania całego szlaku jasmonianowego. Pozwala to na częściowe oddzielenie ochronnych skutków przemian metabolitów od szerszych kosztów hormonalnej reorganizacji wzrostu.

Nawet taki korzystny rezultat wymaga jednak oceny w kontekście zapylaczy, naturalnych wrogów fitofagów oraz jakości produktu rolniczego, gdyż zmienione flawonoidy mogą pełnić liczne funkcje ekologiczne niezwiązane bezpośrednio z żerowaniem analizowanych gąsienic.

Szczególnie doniosłym odkryciem dotyczącym pleiotropowych następstw edycji genów odpornościowych są badania nad kinazą zależną od wapnia GmCDPK38, opublikowane w 2022 roku w „Plant Physiology". Autorzy wykazali, że określone haplotypy genu GmCDPK38 występujące u soi są powiązane zarówno z terminem kwitnienia, jak i podatnością na gąsienice Spodoptera litura. Dzięki technologii CRISPR-Cas9 stworzono mutanty o ograniczonej aktywności tego genu, które wykazywały zwiększoną odporność na konsumenta, lecz jednocześnie później przechodziły do fazy kwitnienia. Analizy transkryptomu, metabolomu i fosfoproteomu ujawniły rozległe zmiany regulatorowe, obejmujące m.in. białka uczestniczące w metabolizmie S-adenozylometioniny.

Wyniki te korespondują z wcześniejszymi danymi dotyczącymi kinaz wapniowych u tytoniu Nicotiana attenuata, gdzie ograniczenie aktywności odpowiednich regulatorów może nasilać odpowiedź jasmonianową i odporność na gąsienice Manduca sexta, ale prowadzi również do opóźnienia kwitnienia. W rezultacie przykład GmCDPK38 stanowi silny argument przeciwko interpretowaniu genów odporności jako autonomicznych elementów funkcjonujących poza sieciami regulacji rozwoju.

Odporność biologiczna nie zawsze oznacza wyższy plon

Zmiana jednego białka może zwiększyć przeżywalność podczas żerowania, lecz jednocześnie wpłynąć na tempo przechodzenia pomiędzy fazami ontogenetycznymi. W praktyce rolniczej może to nieść istotne następstwa, zależnie od długości okresu wegetacyjnego i lokalnych warunków klimatycznych. W tym miejscu kluczowe staje się rozróżnienie odporności biologicznej od produktywności gospodarczej. Odmiana o zwiększonej zawartości metabolitów ochronnych może wykazywać mniejsze uszkodzenia liści, co jednak nie musi automatycznie przekładać się na wyższy plon. Jeśli modyfikacja opóźnia kwitnienie lub zmienia termin dojrzewania, efekt produkcyjny będzie zależny od długości sezonu oraz ryzyka wystąpienia późnych przymrozków, suszy czy innych stresów. Należy pamiętać, że plon jest cechą zintegrowaną, wynikającą z długotrwałej aktywności procesów fotosyntetycznych, gospodarki składnikami mineralnymi, organizacji organów reprodukcyjnych i przebiegu dojrzewania. Z tego względu zmniejszenie biomasy zjedzonej przez fitofaga nie jest równoznaczne z proporcjonalnym zwiększeniem produkcji części użytkowej rośliny.

W określonych warunkach wyższa odporność może jedynie ograniczać straty, które w danym sezonie i tak byłyby niewielkie, podczas gdy jej koszt rozwojowy utrzymuje się niezależnie od obecności zagrożenia. W innym środowisku ta sama modyfikacja przyniesie wyraźną korzyść, o ile presja fitofagów jest wysoka i powtarzalna. Właściwa ocena wymaga zatem doświadczeń wieloczynnikowych, obejmujących obecność i brak konsumenta oraz różne warunki zasobowe, by móc porównać końcowe parametry plonu i sukcesu reprodukcyjnego. Cenną jest także analiza stabilności genotypu w różnych środowiskach, gdyż odporność korzystna w jednym regionie może prowadzić do odmiennych następstw w innym. Możliwość projektowania odporności za pomocą edycji genomu nie ogranicza się do inaktywowania genów podatności; równie istotne jest modyfikowanie elementów regulatorowych odpowiedzialnych za czas i miejsce ekspresji genów obronnych. Z perspektywy ekonomiki alokacji zasobów szczególnie atrakcyjna wydaje się koncepcja uzyskiwania silnej odpowiedzi dopiero po rzeczywistym wystąpieniu żerowania, bez konieczności utrzymywania maksymalnej aktywności metabolicznej w całym okresie rozwoju.

Możliwymi celami są promotory genów związanych z biosyntezą jasmonianów, regulacją metabolitów wyspecjalizowanych i emisją odpowiednich substancji lotnych. Precyzyjna zmiana promotora nie gwarantuje jednak automatycznego wzrostu ekspresji, gdyż jej aktywność zależy od dostępności czynników transkrypcyjnych, organizacji chromatyny i położenia motywów regulatorowych. Istotne jest rozróżnienie pomiędzy zwiększeniem amplitudy odpowiedzi, skróceniem czasu jej uruchomienia a zmianą progu aktywacji, ponieważ każda z tych właściwości wiąże się z odmiennym kosztem biologicznym. Roślina uruchamiająca obronę przy bardzo słabym bodźcu może ponosić zbędne koszty w środowisku pełnym nieszkodliwych sygnałów, natomiast organizm o zbyt wysokim progu aktywacji zareaguje dopiero po wystąpieniu znacznych uszkodzeń. Przedmiotem projektowania staje się zatem dynamika całego układu regulacyjnego, a nie tylko średni poziom ekspresji pojedynczego genu. Takie podejście wymaga łączenia inżynierii genomu z ilościowymi modelami regulacji i badaniami fizjologii stresu.

Interesującym kierunkiem pozostaje również modyfikowanie profilu lotnych związków organicznych emitowanych przez rośliny, co może służyć zmianie zachowań fitofagów, zapylaczy i naturalnych wrogów. Biotechnologiczne zwiększenie produkcji określonego terpenoidu może potencjalnie wpływać na lokalizowanie gospodarza przez owada lub na zdolność parazytoida do rozpoznawania miejsca żerowania.

Konieczność projektowania indukowanej emisji sygnałów chemicznych

Skuteczność sygnału chemicznego zależy jednak nie tylko od jego tożsamości, lecz również od składu całej mieszaniny, stężenia i dynamiki emisji. Wiele sygnałów biologicznych ma charakter krótkotrwałego impulsu, którego znaczenie dla odbiorcy może zasadniczo różnić się od efektów ciągłej ekspozycji. W warunkach naturalnych substancja alarmowa jest uwalniana zazwyczaj dopiero po uszkodzeniu tkanki lub podczas ataku drapieżnika, dzięki czemu jej obecność pozostaje względnie wiarygodną wskazówką określonego zagrożenia.

Wprowadzenie stałej emisji tej samej substancji może prowadzić do osłabienia reakcji odbiorcy, jego habituacji lub zmiany sposobu interpretacji sygnału. Z tego względu kluczowe jest projektowanie ekspresji indukowanej, której aktywność pozostaje związana z rzeczywistym bodźcem, a nie wyłącznie z obecnością odpowiedniego genu biosyntetycznego. Różnicę tę wyraźnie ujawniły doświadczenia nad pszenicą emitującą feromon alarmowy mszyc. W badaniu opublikowanym w 2015 roku w "Scientific Reports" przedstawiono wyniki modyfikacji pszenicy heksaploidalnej w celu wytwarzania (E)-β-farnezenu – substancji będącej składnikiem systemu alarmowego wielu gatunków mszyc. Zastosowano gen syntazy terpenowej wywodzący się z mięty pieprzowej, a jego produkt kierowano do plastydów, co pozwoliło uzyskać stabilne linie roślin emitujących ten związek.

W doświadczeniach laboratoryjnych wykazano, że emisja (E)-β-farnezenu ograniczała zainteresowanie niektórych mszyc roślinami oraz zwiększała aktywność poszukiwawczą parazytoidów. Jednak późniejsze testy polowe nie wykazały istotnego zmniejszenia liczebności mszyc ani wzrostu parazytyzmu w porównaniu z pszenicą kontrolną. Wynik ten ma istotne znaczenie metodologiczne; stanowi przykład sytuacji, w której technicznie sprawne wprowadzenie nowej funkcji metabolicznej i jej potwierdzona aktywność w laboratorium nie przełożyły się na oczekiwany efekt ochronny w środowisku naturalnym. Jednym z rozważanych wyjaśnień była habituacja mszyc wobec stale obecnego sygnału, podczas gdy w naturze jego funkcja alarmowa wiąże się z krótkotrwałym uwalnianiem.

Znaczenie mogły mieć także warunki klimatyczne, stosunkowo niskie zagęszczenie szkodników oraz struktura lokalnej wspólnoty owadów. Nie należy jednak interpretować tego wyniku jako dowodu nieskuteczności wszelkich strategii wykorzystujących feromony, lecz jako potwierdzenie konieczności dostosowania dynamiki sygnału do biologii odbiorcy i rzeczywistych warunków polowych.

Ograniczenia inżynierii metabolicznej i specyfika toksyn Bt

Ten przykład prowadzi do szerszej refleksji nad ograniczeniami inżynierii metabolicznej, która choć może skutecznie zwiększać produkcję określonej substancji, nie zawsze zapewnia przewidywalny rezultat ekologiczny. Zwiększona aktywność syntazy terpenowej może bowiem zmieniać dostępność wspólnych prekursorów izoprenoidowych, co wpływa na biosyntezę innych metabolitów uczestniczących w procesach wzrostu i obrony.

Równocześnie kierowanie enzymu do konkretnego organellum może ograniczać jego dostęp do substratów, a różnice w aktywności promotorów między tkankami mogą prowadzić do nierównomiernego rozkładu produktu w przestrzeni. Biologiczna aktywność substancji lotnej nie wynika bowiem wyłącznie z jej ilości, lecz z relacji pomiędzy emitowanym profilem chemicznym a właściwościami fizjologicznymi i behawioralnymi odbiorcy. Dla jednego gatunku owada zwiększona emisja może być sygnałem odstraszającym, podczas gdy dla innego stanie się wskazówką o dostępności odpowiedniego gospodarza. Istotny jest także wpływ konkretnego metabolitu na naturalnych wrogów fitofagów, których reakcja zależy od wcześniejszego doświadczenia oraz obecności sygnałów pochodzących bezpośrednio od konsumenta. Ocena inżynierii metabolicznej wymaga zatem prowadzenia doświadczeń wielotroficznych, obejmujących rzeczywiste interakcje pomiędzy rośliną, szkodnikiem i organizmami pożytecznymi. Z perspektywy ekologii stosowanej kluczowe jest tu rozróżnienie pomiędzy aktywnością biologiczną substancji w izolowanym teście a jej zdolnością do zwiększania stabilności i produktywności całego agroekosystemu.

Podobną zależność od biologicznego kontekstu widać w przypadku odmian wykorzystujących białka owadobójcze z bakterii Bacillus thuringiensis, określanych zbiorczo jako technologie Bt. Ich rozwój był możliwy dzięki rozpoznaniu właściwości białek krystalicznych, w tym przedstawicieli grupy Cry, których aktywność wobec owadów zależy od organizacji i funkcjonowania nabłonka jelita. W klasycznym mechanizmie działania białka Bt są pobierane wraz z pokarmem, a następnie ulegają przemianom w środowisku przewodu pokarmowego.

Produkty ich aktywacji wiążą się z określonymi białkami powierzchni komórek nabłonka, co prowadzi do zaburzenia integralności błony i tworzenia struktur porowych. Ostatecznym rezultatem jest uszkodzenie nabłonka jelitowego, zahamowanie żerowania i śmierć owada, choć szczegółowy mechanizm zależy od konkretnego białka, jego wariantu, właściwości odbiorcy oraz czynników fizjologicznych. Nie należy więc traktować wszystkich produktów Bt jako jednej toksyny o identycznym sposobie działania; poszczególne rodziny białek wykazują odmienne właściwości strukturalne i zakresy aktywności wobec różnych grup owadów. Biologiczna selektywność danego

białka wynika z interakcji pomiędzy jego strukturą a właściwościami organizmu docelowego, a nie z samego faktu bakteryjnego pochodzenia. Z tego względu ocena wpływu preparatu lub odmiany Bt na organizmy nietarczowe wymaga uwzględnienia konkretnej substancji aktywnej, jej stężenia, sposobu ekspozycji i wrażliwości badanych gatunków. Zasadniczy postęp w rozpoznaniu molekularnych podstaw działania białek Cry nastąpił wraz z identyfikacją receptorów na powierzchni komórek nabłonka jelita owadów. W przypadku części motyli szczególne znaczenie mają transportery błonowe z rodziny ABC, w tym ABCC2 i ABCC3, choć ich funkcja w układzie Bt nie sprowadza się do zwykłego transportowania substancji przez błonę komórkową – białka te mogą uczestniczyć w wiązaniu toksyny, umożliwiając dalsze zdarzenia prowadzące do uszkodzenia nabłonka.

Wielogenowa architektura odporności i koszty adaptacyjne szkodników

Szczególnie przekonujące dane dostarczyły badania nad Plutella xylostella, w których wykorzystano edycję CRISPR-Cas9 do inaktywowania genów PxABCC2 i PxABCC3. W publikacji Zhiqianga Liu i współpracowników z 2020 roku wykazano, że jednoczesna utrata funkcji obu transporterów w analizowanej linii tantnisia prowadziła do ponad ośmiotysięcznego wzrostu odporności wobec Cry1Ac w porównaniu z odpowiednią linią wrażliwą, podczas gdy inaktywacja pojedynczego genu dawała znacznie słabsze rezultaty. Kluczowe okazało się połączenie analiz genetycznych z doświadczeniami nad krzyżowaniem linii, introgresją wariantów odpornościowych i bezpośrednią edycją genów. Wyniki te dostarczyły mocnego dowodu przyczynowego, że dwa częściowo redundantne białka mogą współdecydować o wrażliwości owada na określoną toksynę, a wykształcenie bardzo wysokiej odporności może wymagać zmian w kilku loci. Nie oznacza to jednak, że identyczna architektura receptorowa występuje u wszystkich gatunków motyli lub że wszystkie białka Bt wykorzystują tę samą parę receptorów.

Doprecyzowania wymaga funkcja transportera PxABCH1, którego gen zidentyfikowano u tantnisia krzyżowiaczka i który stanowi interesujący cel badań nad interferencją RNA. W publikacji z 2015 roku wykazano, że wyciszenie PxABCH1 za pomocą odpowiedniej dawki dwuniciowego RNA może prowadzić do silnego ograniczenia ekspresji genu oraz wysokiej śmiertelności larw i poczwarek, zarówno w liniach wrażliwych, jak i odpornych na Cry1Ac. Autorzy wykazali jednak niezależność odporności na Cry1Ac od aktywności tego konkretnego genu w analizowanym układzie. Nie ma więc podstaw do utożsamiania PxABCH1 z potwierdzonym receptorem Cry1Ac odpowiedzialnym za klasyczny mechanizm oporności Bt ani do przyjmowania, że jego wyciszenie samo w sobie

przywraca wrażliwość owada na toksynę poprzez odbudowanie określonej interakcji receptorowej. Bardziej precyzyjna interpretacja wskazuje, że PxABCH1 może być potencjalnym celem technologii RNAi oddziałującej na ważne funkcje fizjologiczne owada, nawet jeśli posiada on niezależnie ukształtowaną odporność na Bt. Potwierdzonymi uczestnikami mechanizmów wrażliwości P. xylostella na Cry1Ac pozostają natomiast przede wszystkim PxABCC2 i PxABCC3.

Rozróżnienie to jest kluczowe dla projektowania zintegrowanych technologii, ponieważ pomylenie białka będącego molekularnym celem interwencji RNAi z białkiem pełniącym funkcję receptora toksyny może prowadzić do błędnych założeń dotyczących spodziewanej synergii. Z perspektywy genetyki ewolucyjnej interesujące jest, że odporność na białka Bt może wynikać z utraty określonej funkcji receptorowej, której niekorzystne następstwa pozostają ograniczone dzięki obecności innych białek lub kompensacyjnych zmian fizjologicznych. W takim układzie zmiana zapewniająca ochronę przed toksyną łatwiej utrzymuje się w populacji, o ile nie prowadzi do poważnego ograniczenia rozwoju i reprodukcji. Jednak nie wszystkie mutacje odpornościowe pozostają bezkosztowe, gdyż transportery ABC uczestniczą również w innych procesach biologicznych, a ich inaktywacja może wpływać na metabolizm, funkcjonowanie błon i zdolność rozwoju.

Warto zauważyć, że odporność może wynikać z odmiennych mechanizmów w różnych populacjach tego samego gatunku. W jednych przypadkach dominować mogą zmiany sekwencji receptorów, w innych ograniczenie ich ekspresji, a jeszcze w innych modyfikacje aktywności enzymów i procesów jelitowych. Zatem rozpoznanie jednego wariantu odpornościowego nie wystarczy do wyjaśnienia całej zmienności populacyjnej. Z punktu widzenia zarządzania technologią istotne stają się badania nad częstością odpowiednich alleli w populacjach terenowych oraz kosztami ich utrzymywania przy braku ekspozycji na daną substancję. Takie dane pozwalają budować modele przewidujące tempo narastania odporności i potencjalną skuteczność rozwiązań ograniczających presję selekcyjną.

Strategiczne zarządzanie odpornością poprzez refugia i piramidyzację cech

Jedną z kluczowych strategii opóźniania ewolucji odporności na uprawy Bt jest łączenie wysokiej ekspresji skutecznego białka owadobójczego ze strefami schronienia (refugia), składającymi się z roślin pozbawionych danej cechy. W klasycznym modelu high-dose/refuge kluczowa jest możliwość przeżycia i reprodukcji osobników wrażliwych w tej części agroekosystemu, która nie zawiera toksyny.

Ich obecność zwiększa prawdopodobieństwo krzyżowania z nielicznymi osobnikami odpornymi, które przetrwały na uprawie Bt, co prowadzi do powstawania potomstwa heterozygotycznego. Jeżeli ekspresja toksyny jest wystarczająco wysoka, a odporność jest funkcjonalnie recesywna, heterozygoty mogą pozostać wrażliwe, co spowalnia rozprzestrzenianie się odpowiednich alleli. Nie oznacza to jednak, że każda odmiana Bt spełnia założenie wysokiej dawki ani że strefy schronienia zawsze dają identyczny efekt. Ich skuteczność zależy od architektury genetycznej odporności, rozmieszczenia roślin, mobilności owadów, wielkości populacji oraz sposobu dziedziczenia cech. Refugia mogą opóźniać ewolucję odporności także w warunkach odbiegających od klasycznego modelu pojedynczego recesywnego allelu, choć ostateczny rezultat wymaga analizy całego systemu. Wieloletnie doświadczenia z uprawami Bt wskazują, że połączenie odpowiedniej organizacji stref schronienia z korzystnymi właściwościami białek owadobójczych jest niezbędne dla utrzymania długoterminowej skuteczności tej technologii.

Rozwinięciem tego podejścia jest piramidyzacja cech ochronnych, polegająca na łączeniu w jednej odmianie kilku mechanizmów oddziałujących na tego samego szkodnika. W idealnym scenariuszu każdy z nich powinien zachować wysoką skuteczność wobec organizmów odpornych na pozostałe, a ich cele molekularne powinny być na tyle odmienne, by pojedyncza zmiana genetyczna nie zniosła wrażliwości na wszystkie komponenty jednocześnie. Samo występowanie dwóch genów kodujących białka owadobójcze nie dowodzi jednak niezależności mechanizmów; niektóre toksyny mogą współdzielić receptory lub wykazywać powiązaną podatność na zmiany w fizjologii jelita. Niezbędne jest zatem badanie rzeczywistej odporności krzyżowej i weryfikacja, czy każdy komponent pozostaje skuteczny wobec populacji wykazujących wysoką odporność na pozostałe substancje. W takich systemach istotna jest również równomierność ekspresji białek w tkankach i stadiach rozwojowych rośliny. Jeśli jeden składnik występuje w stężeniu zbyt niskim, by skutecznie oddziaływać na część konsumentów, może dojść do selekcji podobnej do tej prowadzonej przez pojedynczą substancję. Właściwie zaprojektowana piramidyzacja wymaga więc syntezy wiedzy o biochemii białek, genetyce odporności populacji oraz dynamice ekspozycji w warunkach polowych.

Z perspektywy ekonomiki technologii zwiększanie liczby komponentów ochronnych nie musi prowadzić do proporcjonalnego wzrostu korzyści – decydująca jest ich rzeczywista niezależność funkcjonalna i trwałość w danym agroekosystemie.

> W pogoni za idealnie odporną rośliną ryzykujemy stworzenie biologicznego impasu, w którym każda precyzyjna ingerencja w genom staje się jedynie impulsem do nowej, nieprzewidzianej adaptacji antagonisty. Czy zatem inżynieria genetyczna powinna dążyć do całkowitej eliminacji podatności, czy raczej do projektowania dynamicznej

> równowagi, która akceptuje pewien stopień strat w zamian za stabilność całego ekosystemu? Prawdziwym wyzwaniem nie jest już techniczna zdolność do zmiany sekwencji DNA, lecz zrozumienie, gdzie kończy się kontrola człowieka, a zaczyna nieuchronna logika ewolucji.

Inspiracje

[1] "Insect-Plant Interactions Volume 2" Jamin Ali

Dr **Jamin Ali** jest entomologiem stosowanym i ekologiem chemicznym, związanym z Uniwersytetem Rolniczym w Jilin jako ekspert ds. badań zagranicznych i profesor nadzwyczajny. Uzyskał tytuł licencjata i magistra zoologii ze specjalizacją w entomologii na Uniwersytecie Muzułmańskim Aligarh w Indiach, a następnie doktorat z ekologii chemicznej i entomologii stosowanej na Uniwersytecie Keele w Wielkiej Brytanii w 2022 roku. Badania dr. Alego dotyczą interakcji między owadami a roślinami, mechanizmów obronnych roślin oraz zintegrowanego zwalczania szkodników. Jego główny wkład koncentruje się na wykorzystaniu substancji semiochemicznych, naturalnych elicytorów i substancji lotnych roślin w celu wzmocnienia ochrony upraw przed głównymi szkodnikami rolniczymi, w szczególności mszycą brzoskwiniowo-ziemniaczaną (Myzus persicae). Opublikował liczne artykuły naukowe i tomy poświęcone interakcjom tritroficznym, mechanizmom obrony chemicznej i zrównoważonym ekologicznym alternatywom dla chemicznych insektycydów.

*Dr. **Jamin Ali** is an applied entomologist and chemical ecologist affiliated with Jilin Agricultural University as a Foreign Research Expert and Associate Professor. He earned his Bachelor of Science and Master of Science degrees in Zoology with a focus on entomology from Aligarh Muslim University in India, followed by a Ph.D. in Chemical Ecology and Applied Entomology from Keele University in the United Kingdom in 2022. Dr. Ali's research investigates insect-plant interactions, plant defense mechanisms, and integrated pest management. His primary contributions focus on the use of semiochemicals, natural elicitors, and plant volatiles to enhance crop protection against major agricultural pests, particularly the peach-potato aphid (Myzus persicae). He has published numerous scientific articles and volumes exploring tritrophic interactions, chemical defenses, and sustainable ecological alternatives to chemical insecticides.*

Jilin Agricultural University

Literatura uzupełniająca

Książki

Książki autorów przywoływanych i literatura pokrewna:



[1] "Encyclopedia of Insects"

Vincent H. Resh, Ring T. Cardé

2009 | Academic Press | ISBN: 9780080920900



[2] **"Induced plant responses to microbes and insects"**

Corné M. J. Pieterse, Marcel Dicke, Saskia C. M. Van Wees, Erik H. Poelman

2014 | Frontiers E-books | ISBN: 9782889191901

Treść tworzy Fundacja Dobre Państwo.
Redaguje i publikuje APA ONE, autorski system redakcyjny Fundacji oparty na AI.
APA ONE Publishing System
Fundacja Dobre Państwo © 2026
Article ID: e2b6d803-1197-413a-9319-86829aa81cb7