

JOANNA GRACZ*, AGATA TYCZEWSKA, TOMASZ TWARDOWSKI

Perspektywy i wyzwania hodowli roślin w erze postgenomowej

1. Wstęp

Gatunki roślin, które obecnie są uprawiane na szeroką skalę, powstały w wyniku procesu domestykacji oraz stopniowego, długotrwałego wprowadzania zmian cech ilościowych i jakościowych w wyniku naturalnej, jak i kierowanej przez człowieka selekcji. Spośród 400 000 gatunków roślin, mniej niż 200 zostało udomowionych i wykorzystywanych jako źródło żywności i paszy, a jedynie 12 gatunków roślin zapewnia aż 75% spożywanej na świecie żywności [1]. Początkowo doskonalenie roślin uprawnych opierało się na ocenie i osądzie rolników, którzy wybierali rośliny dające wysoki plon o dobrej jakości do dalszej uprawy i hodowli, odrzucając przy tym te, które radziły sobie gorzej w danych warunkach geoklimatycznych. W związku z tym można powiedzieć, że rozwój w rolnictwie i naukach przyrodniczych już od zarania dziejów jest wynikiem przede wszystkim odkryć naukowych, a także wprowadzania innowacyjnych rozwiązań, które czasem okazywały się rewolucyjne, jak np. fermentacja produktów żywnościowych, wprowadzenie nawozów nieorganicznych czy, całkiem niedawno, zastosowanie transformacji genetycznej roślin. W produkcji rolnej, szczególnie w ostatnich kilku dziesięcioleciach, dokonano znacznego postępu, który możliwy był między innymi dzięki zastosowaniu szerokiej gamy narzędzi biotechnologicznych. Umożliwiły one poznanie genomów wielu gatunków roślin i zwierząt, a także manipulacje na poziomie informacji genetycznej i stworzenie odmian genetycznie zmodyfikowanych. Mimo to potrzeba doskonalenia odmian i zwiększania produkcji rolniczej jest coraz większa i wiąże się z nieustającym przyrostem ludności na świecie, a także z globalnymi zmianami klimatycznymi, którym towarzyszy większe narażenie upraw na stropy biotyczne i abiotyczne. Przed rolnictwem XXI w. stoją trzy główne zadania – zapewnienie zrównoważonego rozwoju (uprawianie roślin na dużą skalę z zachowaniem właściwej równowagi ekologicznej), bezpieczeństwa żywności (zarówno pod względem jej ilości, jak i jakości, tak aby dostarczała odpowiednią ilość kalorii, ale także białek, lipidów, witamin i innych składników odżywczych) oraz produkcji biomateriałów pochodzenia roślinnego (biopaliwa, farmaceutyki, bioplastiki). Rolnictwo klasyczne nie jest w stanie zaspokoić stale rosnącego

światowego popytu na produkty pochodzenia roślinnego, więc przetrwanie człowieka zależy od umiejętnego łączenia klasycznej hodowli i uprawy roślin z najnowszymi osiągnięciami biotechnologii rolniczej. Zielona Rewolucja w latach 60. XX w. doprowadziła do 10-krotnego wzrostu produkcji pszenicy w Indiach i kilku innych krajach południowo-wschodniej Azji oraz umożliwiła wyżywienie 3 razy większej liczby ludności. Podobnie wykorzystanie karłowatych odmian ryżu doprowadziło do wzrostu produktywności rolnictwa [2]. Jednak zalety tych rozwiązań zostały już wykorzystane i obecnie należy poszukiwać alternatywnych metod umożliwiających postęp w hodowli i doskonaleniu roślin uprawnych, który skutkowałby wzrostem plonów czy lepszym przystosowaniem do zmieniających się warunków klimatycznych. Wykorzystanie najnowszych osiągnięć i narzędzi biologii molekularnej na pewno przyspieszy osiągnięcie tego celu.

2. Narzędzia biologii molekularnej w doskonaleniu roślin uprawnych

Šzacuje się, że do 2050 r. liczba mieszkańców Ziemi zwiększy się z 7 do ponad 9 mld. Spodziewany jest niemal czterokrotny wzrost wielkości światowej gospodarki, któremu towarzyszyć będzie rosnące zapotrzebowanie na energię i zasoby naturalne. Przewiduje się również, że ze względu na potrzebę wyżywienia rosnącej liczby ludności o zmieniających się preferencjach żywieniowych, w następnej dekadzie nastąpi globalna ekspansja powierzchni gruntów rolnych, choć tempo tego wzrostu będzie się zmniejszać. Mimo że wzrost populacji będzie wywierał ogromną presję na rolnictwo światowe, popyt na jego produkty może zostać zaspokojony poprzez połączenie rozszerzenia uprawy na tereny marginalne i niewykorzystywane dotychczas grunty, wprowadzanie nowych typów upraw i nowoczesnych technologii.

Przez lata udoskonalanie roślin użytkowych przeprowadzano na drodze bardzo czasochłonnej kierowanej przez człowieka hodowli i selekcji tych odmian, które wykazywały wielopokoleniowe zmiany jakościowe i ilościowe. Tą tradycyjną drogą uzyskano większość z wykorzystywanych w dzisiejszym rolnictwie odmian roślin uprawnych. Jednakże metody tradycyjne przestały być już wystarczające, aby zabezpieczyć obecne i przyszłe zapotrzebowanie ludzkości na żywność. Jedyną możliwą i zarazem słuszną drogą ulepszenia odmian roślin użytkowych, zwiększania odporności na szkodniki czy niekorzystne warunki środowiskowe, a także zwiększenie plonowania jest, jak się wydaje, wykorzystanie technik biotechnologicznych. Rozpoczęta w ostatniej dekadzie era „omics” (analizy genomów, modyfikacji DNA, transkryptomów, profili białkowych czy składu metabolitów) znacznie zbliża nas do dogłębnego i całościowego zrozumienia sieci zależności regulacji wzrostu i rozwoju roślin i ich odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska. Poniżej scharakteryzowano metody genomowe związane zarówno z genomiką strukturalną, jak i funkcjonalną oraz metody biologii systemowej, które wniosły wkład w rozwój biotechnologii roślin.

Metody genomowe

Postęp w dziedzinie technologii, a także zapotrzebowanie i wyzwania nowoczesnego rolnictwa doprowadziły do zaprzęgnięcia technik wysokoprzepustowych do analizy genomów roślin uprawnych w celu ich późniejszego wykorzystania do ulepszania istniejących odmian. Takie podejście zorientowane na poznawanie genomów pozwala na uzyskanie informacji zarówno o rejonach kodujących informacje o strukturze białek (genowych), jak i międzygenowych; oba rodzaje mogą zostać z powodzeniem zastosowane do ulepszania odmian roślin uprawnych.

Genomika funkcjonalna

Polega ona na poznawaniu funkcji genów i opisywaniu zależności oraz oddziaływań między genami w sieciach regulatorowych. Do genomiki funkcjonalnej zaliczyć można techniki takie, jak sekwencyjne znaczniki ekspresji – EST (ang. *Expressed Sequence Tags*), SAGE (ang. *Serial Analysis of Gene Expression*) czy MPSS (ang. *Massively Parallel Signature Sequencing*). EST-y to fragmenty sekwencji uzyskane z cDNA (powstają na bazie transkryptów). Reprezentują zatem fragmenty sekwencji powstałych na drodze transkrypcji, czyli posiadają potencjalną zdolność do kodowania białek. Sekwencjonowanie EST-ów wykorzystywane jest szczególnie często w przypadku organizmów o nieznanym, dużym genomie np. roślin uprawnych. Obecnie w bazie danych NCBI (ang. *National Center for Biotechnological Information*) zdeponowanych jest przeszło milion EST-ów dla tak ważnych z ekonomicznego punktu widzenia roślin, jak: kukurydza, soja, pszenica czy ryż [3]. EST-y uzyskiwane z różnych tkanek, etapów rozwojowych czy warunków stresowych służą do szacowania zmian w poziomach ekspresji genów [4]. Technikę SAGE opracowano w celu ilościowego określania tysięcy transkryptów jednocześnie. W tym podejściu krótkie fragmenty powstające podczas transkrypcji łączone są w długie konkatamery i sekwencjonowane, dając poziom całkowitej transkrypcji [5, 6]. Pomimo że technika ta nie jest szeroko wykorzystywana do badań genomów roślinnych, już jej pierwsze zastosowanie doprowadziło do identyfikacji nowych genów, a także zaproponowania nowych funkcji znanych genów w siewkach ryżu [7]. Z kolei MPSS umożliwia sekwencjonowanie milionów sekwencji jednocześnie dzięki wiązaniu długich fragmentów sekwencji do mikrokuleczek [8]. Co ważne, dzięki sekwencjonowaniu dłuższych fragmentów i zastosowaniu technik wysokoprzepustowych uzyskuje się informacje na temat transkryptów występujących także w mniejszych ilościach (znacznie większa specyficzność i czułość metody). U roślin technika MPSS została wykorzystana, obok analizy transkryptów, do badania zmian w poziomach krótkich cząsteczek RNA [9, 10], które odgrywają bardzo istotną rolę w odpowiedzi organizmów, nie tylko roślinnych, na zmieniające się warunki środowiska i czynniki wywołujące stresy biotyczne i abiotyczne [11].

Metody oparte na zjawisku hybrydyzacji

Są to głównie techniki opierające się na hybrydyzacji docelowego DNA z cDNA lub sondami oligonukleotydowymi przyczepionymi do powierzchni płytki hybrydyzacyjnej. Techniki te wymagają znajomości sekwencji transkryptów, które zamierza się analizować. Analizy mikromacierzowe przeprowadzono na szeroką skalę dla modelowych roślin, takich jak *Arabidopsis thaliana* i ryżu, których genomy są już poznane [12-15]. Technikami tymi przeanalizowano również zmiany w poziomach ekspresji transkryptów pod wpływem warunków stresowych innych ważnych roślin uprawnych, takich jak pszenica [16], jęczmień [17], kukurydza [18] czy bawełna [19].

Genomika strukturalna

Techniki zaliczane do tzw. genomiki strukturalnej mają na celu poznanie, zlokalizowanie i ułożenie fragmentów genomu na chromosomach, skupiają się one zatem nie na określaniu funkcji genów, ale na ich fizycznej strukturze i rozmieszczeniu w obrębie genomów. Wraz z technikami genomiki funkcjonalnej pozwalają na całkowite scharakteryzowanie genomów badanych organizmów. Do najczęściej wykorzystywanych do tego celu technik należą:

a) Sztuczne chromosomy bakteryjne BAC (ang. *Bacterial Artificial Chromosome*)

BAC jest zrekombinowanym DNA powstałym na bazie plazmidowego DNA bakterii *Escherichia coli*, wykorzystywanym w technikach inżynierii genetycznej jako wektor do klonowania DNA. Wykazuje zdolność do przyjmowania dużych fragmentów obcego DNA długości od 100 kbp do 350 kbp. W ciągu ostatniego dziesięciolecia udoskonalanie technik sortowania chromosomów umożliwiło tworzenie bibliotek BAC-ów. Powstałe na ich bazie mapy fizyczne nie tylko zestawiają dane w kontigi, ale także służą za szkielet do składania sekwencji genomów referencyjnych. Przy braku zsekwencjonowanych genomów referencyjnych informacje uzyskiwane z bibliotek BAC-ów dodają wiele bardzo cennych informacji o strukturze i ewolucji genomów, np. w przypadku pszenicy [20, 21], jęczmienia [22] czy też żyta [23].

b) Sekwencjonowanie genomów i mapowanie

Ogromny postęp technologiczny dokonany w ostatnich 20 latach doprowadził do rozwoju nowoczesnych, wysokoprzepustowych technik sekwencjonowania genomów (NGS, ang. *Next Generation Sequencing*) na platformach, np. Roche 454 GS FLX Titanium (www.roche454.com) czy też Illumina Solexa Genome Analyser (www.illumina.com). Tą drogą uzyskuje się bardzo szczegółowe informacje na temat organizacji genomów, sekwencji kodujących i niekodujących, regulatorowych, elementów powtórzonych czy też zawartości par GC [24]. Stosując technologie NGS, można sekwencjonować nawet bardzo duże genomy, choć staje się to wtedy bardzo kosztowne. Dodatkowo obecność w genomach wielu roślin o walorach przemysłowych, takich jak kukurydza, dużej

ilości sekwencji powtórzonych i mobilnych elementów genetycznych utrudnia uzyskiwanie jednoznacznych wyników. W przypadku roślin o poliploidalnych genomach (np. pszenica) napotykamy kolejne trudności – obecność genomów homologicznych i paralogicznych loci [25]. Jeszcze do niedawna sądzono, że poznanie i opracowanie pełnej sekwencji genomów takich roślin jest nieosiągalne, niemniej przy tak szybkim postępie nowych technik analizy genomów staje się coraz bardziej realne.

c) Markery molekularne

Najczęściej wykorzystywanymi markerami molekularnymi w genomice są polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP, ang. *Single Nucleotide Polymorphisms*) [26]. Identyfikowane są w drodze resekwencjonowania transkryptów, czy też porównywania różnych genotypów w obrębie gatunku, w przypadkach gdy w bazach danych zostało ich zdeponowanych wiele. SNP-y występują obficie w genomach różnych organizmów, stąd ich wysoka wartość jako markerów.

Inna grupa markerów są ISBP-y (ang. *Insertion Site-Based Polymorphisms*), bazujące one na zjawisku polimorfizmów insercyjnych obserwowanych w rejonach połączeń sekwencji powtórzonych dużych i skomplikowanych genomów. Około 50-60% markerów ISBP jest specyficznych dla danego locus [27].

MAS (ang. *Marker Assisted Selection*) oznacza wykorzystanie markerów molekularnych do hodowli odmian roślin użytkowych o ulepszonych cechach, takich jak np. odporność na szkodniki, zwiększona tolerancja na warunki stresowe czy wysokie plonowanie [28]. Aby stosowanie takich markerów było owocne, wybraną cechę najlepiej skorelować z dwoma markerami, które ją otaczają (optymalna odległość to mniej niż 5 cM) [28].

Biologia systemowa

Postęp technologiczny dokonany w ostatnich dziesięcioleciach po raz pierwszy w historii pozwala nam spojrzeć na komórkę i procesy w niej zachodzące z całościowego punktu widzenia. Holistyczne podejście, na które składają się analizy metylomu, transkryptomu, degradomu, proteomu czy metabolomu, pozwalają na głębsze zrozumienie bardzo skomplikowanych sieci zależności procesów zachodzących w żywych organizmach. Najbardziej do tej pory popularne były analizy transkryptomów różnych organizmów. Analizuje się tą drogą zmiany w poziomach ekspresji poszczególnych genów. Analizy można uzupełnić o sekwencjonowanie degradomu, czyli fragmentów RNA powstałych na drodze specyficznej degradacji. Pełniejszy obraz skomplikowanej sieci regulacji ekspresji genów otrzymamy, jeżeli przeprowadzimy analizy profili krótkich regulatorowych RNA. Są to 20-24 nukleotydowe cząsteczki, które na zasadzie komplementarności parują z docelowymi mRNA i prowadzą do inhibicji tworzenia białek na skutek cięcia matrycowych RNA bądź inhibicji procesu translacji. Weryfikacją danych uzyskanych z zastosowaniem wymienionych technik może być analiza proteomu komór-

kowego, a także modyfikacji potranslacyjnych białek. Dodatkowo analizy można poszerzyć o informacje na temat DNA i wysoko wydajnymi technikami analizować stopień i miejsce jego metylacji, a także modyfikacje białek histonowych (metylacje, acetylacje, fosforylacje). Takie modyfikacje regulują transkrypcję poszczególnych fragmentów genomu. Jakość i ilość danych uzyskiwanych jest bardzo wysoka, problemem pozostaje nadal próba integracji tych wszystkich danych w jedną spójną i logiczną całość.

Wysoko wydajne metody „omics” ułatwiają identyfikację nowych genów i ich funkcji. W biologii systemowej próbuje się złożyć w całość poszczególne molekularne fragmenty i dopasować je w funkcjonalne sieci czy też modele utworzone w celu opisywania lub przewidywania dynamicznych zmian zachodzących w organizmach w zmieniających się warunkach środowiska. Takie zintegrowane podejście umożliwia dogłębne poznanie odpowiedzi roślin na stresy abiotyczne. Ponadto dodatkowych informacji dostarczyć mogą także metaanalizy (wtórne odkrywanie wiedzy metodą uogólniania informacji zawartych w publikacjach czy źródłach pierwotnych). Na podstawie wyników analizy literatury naukowej z zakresu stresu suszy z ostatnich 15 lat zaproponowano model odpowiedzi roślin na suszę [29]. Przedstawiono w nim rolę takich cząsteczek, jak cukry, hormony (ABA, etylen, auksyny, cytokininy, kwas salicylowy, gibbereliny czy brasinosteroidy) czy też reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*), reaktywnych form azotu (RNS, ang. *reactive nitrogen species*) i metabolizmu azotu. Wykazano w ten sposób wysoce skomplikowaną naturę odpowiedzi roślin na stresy abiotyczne.

W odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiskowe zaobserwowano również zmiany w poziomach ekspresji wielu genów. Jednakże ze względu na skomplikowanie sieci zależności między powstawaniem transkryptów a innymi procesami zachodzącymi w komórce w czasie odpowiedzi na warunki stresowe, w celu udoskonalenia odmian przemysłowych konieczne jest przeprowadzenie fenotypowania (wraz z testami polowymi).

Dalszy postęp w dziedzinie biotechnologii roślin i rolnictwa zależy od sposobu wykorzystania wielu różnych naukowych odkryć z zakresu biologii komórki, biochemii, metabolizmu, różnych „omics”, biologii systemowej, bioinformatyki itd. Ostatnie lata obfitują w rozwój rozmaitych inżynierii genomowych umożliwiających wprowadzanie zmian w ekspresji konkretnych genów. Jedną z bardzo obiecujących do wykorzystania w ulepszaniu roślin przemysłowych technik jest tzw. CRISPR-Cas9 (ang. *The Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*). Oparta jest ona na wykorzystaniu endonukleazy kierowanej przez RNA. Dzięki jej zastosowaniu możliwe jest specyficzne rozpoznawanie sekwencji, na którą chcemy wpłynąć [30]. Spośród wielu możliwych zastosowań tej techniki jest wprowadzanie insercji bądź delecji (ang. *InDels*) w sekwencjach docelowych, prowadząc do zmian ramki odczytu, wprowadzenia przedwczesnego

kodonu stop kierując w ten sposób docelowy mRNA na ścieżkę degradacji. System ten można również wykorzystać do wprowadzania specyficznych modyfikacji nukleotydowych, do aktywacji lub hamowania ekspresji wybranych genów, zmiany poziomów wybranych niekodujących regulatorowych RNA czy też znakowania znacznikami fluorescencyjnymi konkretnych fragmentów genomu.

Wszelkie ulepszenia odmian roślin przemysłowych wymagają przejścia bardzo rygorystycznych procedur testowania. Czynniki najczęściej ulepszanymi są wydajność produkcji, ale także i jakość (np. zawartość składników odżywczych, smak, kolor, aromat czy możliwości i czas przechowywania). W czasach zmian klimatycznych jednym z najważniejszych celów programów doskonalenia odmian jest uodparnianie roślin na warunki stresów biotycznych i abiotycznych, takich jak susza, zasolenie, ekstremalne temperatury czy zanieczyszczenie środowiska. W wyniku przeprowadzenia wielu eksperymentów w ciągu kilku ostatnich dekad udało się zidentyfikować wielu „graczy” w skomplikowanych sieciach odpowiedzi i adaptacji do warunków stresowych [31].

Wiedza uzyskana w wyniku przeprowadzanych eksperymentów i analiz naukowych jest jednak tylko pierwszym krokiem w ulepszaniu roślin uprawnych. Kolejne etapy obejmują przedpolowe fenotypowanie, aby zwiększyć liczbę osobników o wysokim potencjale wykorzystania w rolnictwie. Wczesne etapy wytwarzania ulepszonych roślin obejmują regenerację roślin *in vitro*, fazy przesiewania kandydatów i rozwoju, wyboru linii, które wykazują wysoką tolerancję na czynniki stresowe, utrzymując pozostałe pożądane cechy, takie jak ilość i jakość wzrostu na wysokim poziomie. W rzeczywistości podczas procesów selekcji polowej i analizy tysięcy roślin, co jest nie tylko czasochłonne, ale i bardzo kosztowne, wybiera się jedynie kilku kandydatów wykazujących pożądane cechy [32-34]. Optymalnym rozwiązaniem byłoby zatem wprowadzenie diagnostycznych platform przesiewowych charakteryzujących się wysoką wydajnością i rozdzielczością w analizie cech fizjologicznych (ang. *physiological performance*). Taki system oceny fenotypów znacznie przyspieszyłby proces ulepszania roślin i pozwoliłby na ciągły pomiar zachowania roślin w kontrolowanych warunkach stresowych, tak aby na wczesnych etapach rozwoju wyeliminować osobniki gorzej przystosowane [35, 36]. Kilku wybranych kandydatów należałoby w kolejnym etapie przebadać szczegółowo w standardowych warunkach polowych, tak aby w efekcie wyłonić osobniki charakteryzujące się wysoką tolerancją na stres i pozostałymi pożądanymi cechami.

3. Rośliny jako źródło biomateriałów i biopaliw

Jednym z głównych zadań rolnictwa i leśnictwa jest zwiększenie ilości otrzymanego z upraw plonu, a także jego jakości. Dotyczy to zarówno produkcji żywności, jak i produkcji drewna, włókien czy tkanin. Bogactwo metabolitów roślinnych było wykorzystywane przez ludzkość przez ostatnie kilka tysięcy lat – do produkcji barwników,

przypraw, perfum, insektycydów, a także substancji leczniczych czy trucizn. Od tysięcy ludzi wykorzystuje rośliny jako odnawialne źródło biomateriałów, a dzięki coraz głębszemu poznaniu świata roślin, zwiększamy możliwość korzystania także z szerokiego spektrum metabolitów wtórnych (SM, ang. *secondary metabolites*), które produkują. Dotychczas zidentyfikowano ponad 200 000 takich związków [37], w tym wiele polimerów, a do tego należy doliczyć kilka tysięcy metabolitów pierwotnych (PM, ang. *primary metabolites*), które produkowane są przez rośliny i mogą być z nich pozyskiwane przy stosunkowo niskim nakładzie środków. Nowe technologie i techniki umożliwiające zmiany w szlakach metabolicznych zostały z powodzeniem zaimplementowane do pozyskiwania i modyfikowania zarówno ilości, jak i jakości PM wykorzystywanych w przemyśle spożywczym, chemicznym czy energetycznym. Dotychczas zmieniono skład węglowodanów, np. rozmieszczenie i ilość ziaren skrobi, stosunek amylopektyny do amylozy czy ilość produkowanych fruktanów. Ingerowano także w zawartość białka i jego skład aminokwasowy oraz w skład tłuszczów (zmieniono stosunek kwasów tłuszczowych nasyconych do nienasyconych czy ilość specyficznych i cennych olejków). Należy podkreślić, że produkcja metabolitów roślinnych nie wymaga dodatkowych nakładów energii, a jedynie tę pozyskiwaną ze słońca w procesie fotosyntezy. Doniesienia z ostatnich lat zwracają ponadto uwagę, że długotrwałe spożywanie w nieznacznych ilościach niektórych SM ma dobroczynny wpływ na zdrowie ludzi i zapobiega powstawaniu nowotworów i innych przewlekłych chorób, co zwiększa zainteresowanie roślinami jako biotechnologicznymi fabrykami do produkcji nowych farmaceutyków czy nutraceutyków [38]. Obecnie zastosowanie roślin jako „zielonych fabryk” staje się wręcz koniecznością w związku z wyczerpywaniem się złóż paliw kopalnych, które są nie tylko źródłem energii, ale także tworzyw sztucznych i innych substancji chemicznych oraz przymusem zwiększenia sekwestracji węgla i zmniejszenia zanieczyszczenia powietrza. Pozyskiwanie metabolitów roślinnych obejmuje dwie główne metody: 1) bezpośrednią modyfikację i doskonalenie szlaków metabolicznych obecnych w danej roślinie lub 2) produkcję w organizmach roślinnych substancji naturalnie w nich niewystępujących (najczęściej dotyczy to farmaceutyków). Wykorzystanie pełnego potencjału produkcyjnego roślin jest możliwe dzięki wykorzystaniu nowoczesnych metod inżynierii genetycznej i biotechnologii (rozdz. 2), a także stale rosnącej ilości danych dotyczących wszelkich aspektów funkcjonowania roślin (od danych fenotypowych, przez genomowe, transkryptomyczne czy metabolomiczne). Poniżej znajduje się opis produktów pochodzenia roślinnego, które są obecnie obiektem rozwoju biotechnologii rolniczej.

Biopaliwa

Jako biopaliwo na największą skalę wykorzystuje się obecnie etanol produkowany z roślin bogatych w skrobię i inne węglowodany, takich jak kukurydza czy trzcina cukro-

wa. Surowce do produkcji biopaliw pochodzą z dwóch źródeł: upraw rolniczych i zasobów leśnych – szacuje się, że w Stanach Zjednoczonych całkowita roczna ilość biomasy, która może być użyta do produkcji bioetanolu to ok. 1,4 mld ton suchej masy, w tym 1 mld pochodzi z rolnictwa i upraw roślin jadalnych, a 400 mln ton dostarcza leśnictwo (głównie z szybko rosnących drzewostanów topoli, eukaliptusa, sosny taeda i wierzby) oraz z upraw roślin energetycznych, takich jak sorgo, proso różgowe czy miskant, które często rosną na nieużytkach i glebach słabej jakości. Zwiększona produkcja biopaliw z roślin wykorzystywanych w przemyśle spożywczym może mieć negatywny wpływ na ceny żywności, dlatego coraz większy nacisk kładzie się na wykorzystanie bogatych w ligninę i celulozę drzew czy wymienionych roślin energetycznych, które są źródłem tzw. biopaliw drugiej generacji. Rząd Stanów Zjednoczonych przyjął założenie zastąpienia 36 bilionów galonów ropy naftowej zużywanej w sektorze transportu na biopaliwa do roku 2022. Podobne cele dla produkcji odnawialnych źródeł paliwa przyjęły państwa Unii Europejskiej, a także Nowa Zelandia, Australia, Brazylia, Chiny czy Kanada. Biomasa roślinna odegra z pewnością główną rolę jako odnawialne niskoemisyjne źródło energii, które będzie zastępować paliwa kopalne. Jednak czas potrzebny do osiągnięcia wystarczająco wysokiego poziomu produkcji biopaliw pozostaje nadal pod znakiem zapytania [1].

Biopolimery i enzymy

W tej kategorii znajduje się wiele nowych polimerów produkowanych w transgenicznych roślinach, takich jak biodegradowalne termoplastyki i elastomery, polisacharydy stosowane w metodzie oczyszczania przez powinowactwo, a także odporne na temperaturę i zasolenie enzymy mające zastosowanie w przemyśle spożywczym, w produkcji detergentów i papieru (np. amylazy, celulazy, tripsyna). Rośliny z powodzeniem wykorzystano także do produkcji polimerów białkowych – jedwabiu, kolagenu i elastyny, które znane są ze swojej wytrzymałości, trwałości, elastyczności i tzw. biokompatybilności. Liczne zalety tych materiałów umożliwiają ich stosowanie w produkcji włókien, biofilmów, żeli, które następnie są stosowane w inżynierii tkankowej, przy systemach dostarczania leków czy projektowaniu urządzeń medycznych [39].

Terapeutyki i nutraceutyki

W ciągu ostatnich dekad większość nowo zatwierdzanych leków wywodziła się lub była inspirowana naturalnymi produktami pochodzenia roślinnego, a rośliny lecznicze pozostają nadal dla ponad dwóch trzecich populacji świata podstawą opieki farmaceutycznej i medycznej [40]. Do produkcji białek o znaczeniu terapeutycznym – antygenów i szczepionek czy substancji terapeutycznych takich jak kwas hialuronowy czy kolagen zastosowano metodę trwałej transformacji jądrowej informacji genetycznej, jak również

transformację plastydów i różnego rodzaju metody uzyskiwania przejściowej ekspresji genów w organizmach roślinnych. Dzięki wykorzystaniu nowych technologii FDA zaakceptowało pierwsze rekombinowane białko pochodzenia roślinnego do leczenia choroby Gauchera, a kilka kolejnych białek, które są w fazie klinicznej badań, uzyskało zgodę na produkcję [41]. Podjęto także próby stworzenia tzw. jadalnych szczepionek – wykazano, że antygeny wykorzystywane w szczepieniach mogą z powodzeniem być produkowane w organizmach roślinnych, a po zjedzeniu danej rośliny uzyskuje się zarówno miejscową, jak i ogólnoustrojową odpowiedź immunologiczną, która zapewnia ochronę przed infekcjami bakteryjnymi i wirusowymi. Podawane doustnie autoantygeny skutecznie zapobiegały także powikłaniom w cukrzycy typu I i hemofilii, podobnie produkowana przez rośliny proinsulina oraz ekspandyna-4 przyjmowane doustnie obniżały poziom cukru we krwi chorych na cukrzycę z wydajnością porównywalną do stosowanych powszechnie iniekcji [42]. Zespół polskich naukowców zoptymalizował z kolei produkcję antygeny powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B w sałacie, który może być wykorzystywany jako jadalna szczepionka [43]. Szczególnie w krajach rozwijających się wykorzystanie roślin jako platformy do produkcji i dostarczania leków jest wysoce uzasadnione w związku z łatwością ich produkcji, dostarczania i przechowywania (jadalne szczepionki nie wymagają skomplikowanych i kosztownych metod fermentacji, systemów oczyszczania, przechowywania w chłodni i dostarczania do pacjentów w jałowy i sterylny sposób).

Zwiększa się także zainteresowanie roślinami jako źródłem tzw. nutraceutyków. Są to substancje wykazujące właściwości prozdrowotne izolowane lub oczyszczane z roślin jadalnych, które są dostępne najczęściej w formie pigułek (w przeciwieństwie do tzw. żywności funkcjonalnej, która jest spożywana jako normalny element diety i oprócz dostarczania składników odżywczych jest także źródłem substancji prozdrowotnych, które zapobiegają występowaniu chorób takich jak nadciśnienie czy nowotwory). Do grupy nutraceutyków zalicza się takie substancje, jak izoflawony pozyskiwane z soi, które przyjmowane są przez kobiety w okresie menopauzy jako alternatywa dla hormonalnej terapii zastępczej. Innym przykładem nutraceutyków są różnego typu ekstrakty ziołowe czy wzbogacone w luteinę kapsułki multiwitaminowe. Także niektóre peptydy redukujące ciśnienie krwi stanowią składniki żywności funkcjonalnej oraz nutraceutyków i uzyskały status żywności specjalnego przeznaczenia. Źródłem peptydów o aktywności przeciwzakrzepowej są np. głównie białka mleka, natomiast obniżających poziom cholesterolu białka soi [44].

4. Zrównoważona intensyfikacja produkcji rolnej

Zainteresowanie zrównoważonym rozwojem gospodarczym zaczęło stopniowo wzrastać w latach 50. i 60. XX w., wraz z coraz liczniejszymi doniesieniami o rosnącym

zanieczyszczeniu i degradacji środowiska naturalnego. Jednak opis praktyk i zaleceń uwzględniających założenia zrównoważonego rozwoju można odnaleźć nawet w najstarszych tekstach dotyczących rolnictwa i pochodzących zarówno z Grecji czy Rzymu, ale także z Chin i Indii. Już wówczas dostrzegano konieczność integrowania działań na wielu płaszczyznach dotyczących gospodarki zasobami naturalnymi, które najdobitniej przejawiają się w działalności człowieka związanej z rolnictwem. Sukces rolnictwa zależy w dużej mierze od czynników, które zostaną zapewnione, a na które zwrotnie rolnictwo wywiera także ogromny wpływ – krytyczna, jak się okazuje, jest pętla zwrotna między efektem prowadzenia upraw a nakładem w nie włożonym. Można wyróżnić cztery główne czynniki, które wywierają największy wpływ na rolnictwo, a rolnictwo zwrotnie na nie – jest to środowisko naturalne, społeczne, kapitał ludzki i czynniki finansowe. Zrównoważone systemy rolnicze to te, które wywierają pozytywny wpływ na zainwestowany kapitał, zarówno ludzki czy społeczny, jak i naturalny, w przeciwieństwie do systemów niezrównoważonych, które prowadzą do pomniejszania zasobów, które będą wykorzystywane przez przyszłe pokolenia. Współczesne systemy rolnicze są to wykreowane przez człowieka ekosystemy, które zostały zmienione w sposób, który umożliwia maksymalizację produkcji (Tab. 1). Agroekosystemy wraz z rozwojem rolnictwa na wielką skalę zostały w znacznej mierze uproszczone. Obecnie zrównoważona gospodarka rolna dąży do przeniesienia części właściwości z ekosystemów naturalnych, jednak w taki sposób, aby nie utracić wysokiej produktywności, a zapewnić nawet wzrost wydajności. Jednym z lepiej poznanych skutków prowadzenia monokultur roślin uprawnych jest utrata bioróżnorodności, która prowadzi do braku kontroli i zwiększenia podatności na szkodniki i choroby. W rolnictwie zrównoważonym bioróżnorodność ekosystemu musi zostać przywrócona, aby możliwe było odtworzenie naturalnych mechanizmów kontrolnych i regulacyjnych, które prowadzą raczej do odpowiedniego „zarządzania” szkodnikami czy chorobami, aniżeli do ich całkowitego zwalczania. Współczesne systemy rolnicze polegają także w dużej mierze na dostarczaniu z zewnątrz energii (głównie ze spalania paliw kopalnych) oraz syntetycznych składników odżywczych, których produkcja również wymaga dużych nakładów energii. Składniki te są często stosowane nieefektywnie i prowadzą do zanieczyszczenia wody i powietrza produktami, takimi jak podtlenek azotu, amoniak czy azotany [45]. Aby sprostać założeniom zrównoważonego rolnictwa, należy zmaksymalizować udział odnawialnych źródeł energii oraz zminimalizować straty i szkody powodowane przez stosowanie nawozów nieorganicznych. Dlatego też wszelkie mechanizmy opierające się na recyklingu i mechanizmach sprzężenia zwrotnego powinny być wprowadzane i umacniane w gospodarstwach rolnych. Naturalne ekosystemy nie są uważane za stabilne i niezmiennie, ale znajdują się raczej w stanie dynamicznej równowagi, która pełniąc rolę swoistego buforu, umożliwia im przetrwanie większych czy bardziej drastycznych zmian i warunków stresowych. Agro-

ekosystemy pozbawione są tej elastyczności i przejście w stronę zrównoważonego rozwoju będzie wymagało zaprojektowania i wprowadzenia takich rozwiązań i technologii, które umożliwią łatwiejsze przystosowanie systemów rolniczych do zmieniających się warunków klimatycznych przy zachowaniu ich podstawowej funkcji produkcji żywności dla ciągle rosnącej populacji ludzkiej.

Tabela 1. Właściwości i cechy naturalnych ekosystemów w porównaniu ze współczesnymi systemami rolniczymi i systemami opartymi na zrównoważonym rozwoju [46]

| Cecha | Naturalne ekosystemy | Współczesne systemy rolnicze | Systemy rolnicze oparte na zrównoważonym rozwoju |
|---|----------------------|------------------------------|--|
| produktywność | średnia | wysoka | średnia (możliwa wysoka) |
| bioróżnorodność | wysoka | niska | średnia |
| stabilność plonu | średnia | niska/średnia | wysoka |
| akumulacja biomasy | wysoka | niska | średnia/wysoka |
| obieg składników pokarmowych | zamknięty | otwarty | półzamknięty |
| interakcje troficzne | skomplikowane | proste | pośrednie |
| naturalna regulacja populacji | wysoka | niska | średnia/wysoka |
| elastyczność | wysoka | niska | średnia |
| zależność od wpływów zewnętrznych | niska | wysoka | średnia |
| ingerencja człowieka w interakcje ekologiczne | niska | wysoka | średnia/niska |
| odnawialność zasobów | wysoka | niska | wysoka |

Zrównoważone systemy produkcji powinny spełniać kilka podstawowych założeń:

- 1) wykorzystywać odmiany roślin i rasy zwierząt hodowlanych, które zapewniają największą produktywność w danych warunkach geoklimatycznych i nakładach środków;
- 2) unikać niepotrzebnego dostarczania energii i innych środków z zewnątrz (np. nawozów, chemicznych środków ochrony roślin czy dodatkowych zasobów wody);
- 3) wykorzystywać naturalne zjawiska, takie jak obieg składników pokarmowych, biologiczne wiązanie azotu, alleopatia, drapieżnictwo czy pasożytnictwo;
- 4) zminimalizować udział technologii, które mają negatywny wpływ na środowisko czy zdrowie ludzi;
- 5) wykorzystywać wydajnie kapitał ludzki w oparciu o wiedzę i zdolność do adaptowania innowacyjnych rozwiązań zarówno na skalę lokalną, jak i w podejściu syste-

mowym do zrównoważonego zarządzania zasobami wody, ziemi i ochroną przed szkodnikami;

- 6) zminimalizować negatywny wpływ gospodarki na emisję gazów cieplarnianych, zasoby wody pitnej, sekwestrację węgla czy bioróżnorodność [47].

Zrównoważona intensyfikacja produkcji rolnej może być zdefiniowana jako proces czy system, w którym plon jest zwiększany, ale bez negatywnego wpływu na środowisko oraz bez zwiększania areалу upraw. Tak przedstawiona koncepcja jest otwarta i kładzie nacisk raczej na konkretne cele, niż na metody, które mają do nich doprowadzić; nie determinuje technologii, gatunków czy jedynej słusznej gamy środków, które należy stosować. Zrównoważona intensyfikacja podkreśla i dąży do realizacji szeroko zakrojonych celów, a nie tylko do zwiększenia wydajności rolnictwa. Globalnie rolnictwo produkuje już wystarczającą ilość kalorii w przeliczeniu na mieszkańca, aby zapewnić przetrwanie i rozwój wszystkim ludziom [48], jednak świat nadal boryka się z jednej strony z problemem niedożywienia (zarówno pod względem konsumpcji niewystarczającej ilości kalorii, jak i proporcji między głównymi składnikami odżywczymi), a z drugiej strony z przekarmieniem i otyłością w krajach rozwiniętych. Wyzwanie zrównoważonej intensyfikacji produkcji jest ponadto ściśle związane z innymi równie nagłącymi wyzwaniami współczesnego świata takimi jak ubóstwo czy brak bezpieczeństwa energetycznego. Wraz z zapewnieniem równego dostępu do rynków zbytu, wykorzystaniem kapitału ludzkiego i odpowiednim przywództwem politycznym, innowacyjne rozwiązania są podstawą osiągnięcia zrównoważonego rozwoju rolnictwa. Rolnictwo światowe potrzebuje dostępu do szerokiego spektrum technologii, które mogą być zarówno konwencjonalne, tradycyjne, jak i nowoczesne czy nawet dopiero co odkryte (por. rozdz. 2) – ważne jednak, aby były one łatwo dostępne, skuteczne, proste w użyciu, niedrogie i przyjazne środowisku. Powinny służyć, co najważniejsze, rzeczywistym potrzebom danej społeczności. Dyskutując o zrównoważonym rozwoju, powinno się unikać twierdzenia, że jeden rodzaj technologii czy metodyki jest odpowiedni w każdych warunkach i okolicznościach, a skupić się raczej na tworzeniu zintegrowanych i multidyscyplinarnych projektów badawczych zarówno na szczeblach narodowych, jak i lokalnych, które sprzyjałyby przepływowi informacji oraz rozwojowi i tworzeniu nowych rozwiązań agrotechnicznych, umożliwiających zwiększenie uzyskiwanych plonów, przy minimalnych skutkach negatywnych dla środowiska. Trudno oszacować, jaki areal upraw jest obecnie zagospodarowany zgodnie z założeniami zrównoważonej intensyfikacji rolnictwa. Można jednak stwierdzić, że zagadnienia związane z zieloną gospodarką, w której nurt wpisuje się zrównoważony rozwój rolnictwa, są istotnymi celami organizacji narodowych i międzynarodowych, jak np. Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju [49], Programu Środowiskowego Organizacji Narodów Zjednoczonych [50], Banku Światowego [51] czy inicjatywy Rio+20 [52].

5. Konkluzje i perspektywy

Współczesne osiągnięcia w dziedzinie biotechnologii roślin przewyższają wcześniejsze oczekiwania, a perspektywy ich wykorzystania są jeszcze bardziej obiecujące. Ponadto lepsze zrozumienie biologii roślin, które jest możliwe dzięki zastosowaniu technologii „omics”, zasobów biologii molekularnej i nowych platform analizy danych, zostało przełożone na praktykę rolniczą i umożliwiło doskonalenie wielu gatunków roślin uprawnych. Udało się zwiększyć kontrolę nad wzrostem i rozwojem roślin (zarówno w fazie wegetatywnej, jak i generatywnej), wytworzyć stan tolerancji, a nawet odporności na stale rosnące zagrożenia związane z warunkami stresu biotycznego i abiotycznego oraz wspierać i wspomagać tradycyjne metody hodowlane poprzez zastosowanie selekcji w oparciu o różnego typu markery molekularne. Wykorzystanie narzędzi biotechnologicznych umożliwiło także stworzenie organizmów genetycznie zmodyfikowanych i wykorzystanie roślin do produkcji biofortyfikowanej żywności, biopaliw czy wielu nowych biomateriałów. W związku z utrzymującymi się obawami dotyczącymi roślin GM, pełne wykorzystanie nowych technologii zależy od dalszego postępu prac badawczych i rozwojowych, ale przede wszystkim od korzystnego dla ich prowadzenia ustawodawstwa oraz akceptacji społeczeństwa. Niektóre z narzędzi biotechnologicznych różnią się od tradycyjnie wykorzystywanych przez hodowców i ich działanie powinno być starannie oceniane, aby uniknąć czy zminimalizować domniemane ryzyko związane z ich stosowaniem. Jednak wiele zarzutów związanych z bezpieczeństwem żywności pochodzącej z roślin GM i ich wpływu na środowisko zostało już zbadanych i ciągle powstają nowe rozwiązania, które pozwalają uniknąć części z nich. Pozostaje zatem dbać o czynniki socjologiczne, takie jak akceptacja społeczna roślin transgenicznych i innych rozwiązań oferowanych przez biotechnologię, czy ramy prawne i polityczne, które umożliwią komercjalizację wyników badań i dadzą impuls do dalszego ich wdrażania. Intensyfikacja rozwoju rolnictwa wymaga efektywnych technologii do produkcji ekonomicznie uzasadnionych i konkurencyjnych produktów pochodzenia roślinnego. Nie może być to osiągnięte bez zaawansowanych badań i rozwoju biochemii, fizjologii, genomiki i agrotechniki. Biotechnologia roślin ma zatem szansę w dalszym ciągu wpływać na ewolucję rolnictwa, tak aby sprostać światowym wymaganiom zarówno dostaw żywności, jak i nowych biomateriałów.

Wykaz stosowanych skrótów

| | |
|------|--|
| EST | Expressed Sequenced Tags |
| MPSS | Massively parallel Signature Sequencing |
| NCBI | National Center for Biotechnological Information |
| BAC | Bacterial Artificial Chromosome |
| NGS | Next Generation Sequencing |

| | |
|-------------|---|
| SNP | Single Nucleotide Polymorphism |
| ISBP | Insertion Site-Based Polymorphism |
| MAS | Marker Assisted Selection |
| ROS | Reactive Oxygen Species |
| RNS | Reactive Nitrogen Species |
| CRISPR-Cas9 | Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats |
| SM | Secondary Metabolites |
| PM | Primary Metabolites |

Finansowanie

Artykuł powstał dzięki finansowaniu z grantów Narodowego Centrum Nauki o nr UMO-2011/01/D/NZ9/03631, UMO-2011/01/N/NZ9/02900 oraz UMO-2012/06/A/NZ9/00125.

Literatura

- [1] Moshelion M., Altman A., *Current challenges and future perspectives of plant and agricultural biotechnology*. Trends in Biotechnology, 2015, in press: <http://dx.doi.org/10.1111/pce.12410>
- [2] Altman A., Hasegawa P.M., *Introduction to plant biotechnology 2011: basic aspects and agricultural implications*. Plant Biotechnology and Agriculture: Prospects for the 21st Century, Elsevier, 2012.
- [3] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/>
- [4] Yamamoto K., Sasaki T., *Large-scale EST sequencing in rice*. Plant Mol. Biol. 1997, 35(1-2) 135-144.
- [5] Velculescu V.E. et al., *Serial analysis of gene expression*. Science 1995, 270(5235) 484-487.
- [6] Breynne P., Zabeau M., *Genome-wide expression analysis of plant cell cycle modulated genes*. Curr. Opin. Plant Biol. 2001, 4(2) 136-142.
- [7] Matsumura H. et al., *Transcript profiling in rice (Oryza sativa L.) seedlings using serial analysis of gene expression (SAGE)*. Plant J. 1999, 20, 719-726.
- [8] Brenner S. et al., *Gene expression analysis by massively parallel signature sequencing (MPSS) on microbead arrays*. Nature Biotech. 2000, 18(6) 630-634.
- [9] Meyers B.C. et al., *Sweating the small stuff: microRNA discovery in plants*. Curr. Opin. Biotech. 2006, 17(2) 139-146.
- [10] Nobuta K. et al., *An expression atlas of rice mRNAs and small RNAs*. Nature Biotech. 2007, 25(4) 473-477.
- [11] Sunkar R. et al., *Small RNAs as big players in plant abiotic stress responses and nutrient deprivation*. Trends Plant Sci. 2007, 12(7) 301-309.
- [12] Zimmermann P. et al., *GENEVESTIGATOR. Arabidopsis Microarray Database and Analysis Toolbox*. Plant Physiology 2004, 136(1) 2621-2632.
- [13] Wang D. et al., *Genome-wide temporal-spatial gene expression profiling of drought responsiveness in rice*. BMC Genomics 2011, 12, 149.
- [14] Kumar R. et al., *Functional screening of cDNA library from a salt tolerant rice genotype Pokkali identifies mannose-1-phosphate guanyl transferase gene (OsMPG1) as a key member of salinity stress response*. Plant Mol. Biol. 2012, 79(6) 555-568.
- [15] Singh A. et al., *Comprehensive expression analysis of rice phospholipase D gene family during abiotic stresses and development*. Plant Signaling and Behavior 2012, 7(7) 847-855.

- [16] Ergen N.Z. et al., *Transcriptome pathways unique to dehydration tolerant relatives of modern wheat*. Functional and Integrative Genomics 2009, 9(3) 377-396.
- [17] Close T.J. et al., *A New Resource for Cereal Genomics: 22K Barley GeneChip Comes of Age*. Plant Physiology 2004, 134(3) 960-968.
- [18] Luo M. et al., *Monitoring the Expression of Maize Genes in Developing Kernels under Drought Stress using Oligo-microarray*. Journal of Integrative Plant Biology 2010, 52(12) 1059-1074.
- [19] Ranjan A. et al., *Comparative transcriptomic analysis of roots of contrasting Gossypium herbaceum genotypes revealing adaptation to drought*. BMC Genomics 2012, 13, 680.
- [20] Vitulo N. et al., *First Survey of the Wheat Chromosome 5A Composition through a Next Generation Sequencing Approach*. PLoS One 2011, 6(10) e26421.
- [21] Hernandez P. et al., *Next-generation sequencing and syntenic integration of flow-sorted arms of wheat chromosome 4A exposes the chromosome structure and gene content*. Plant Journal 2012, 69(3) 377-386.
- [22] Mayer K.F.X. et al., *Unlocking the Barley Genome by Chromosomal and Comparative Genomics*. Plant Cell 2011, 23(4) 1249-1263.
- [23] Fluch S. et al., *Sequence Composition and Gene Content of the Short Arm of Rye (Secale cereale) Chromosome 1*. PLoS One 2012, 7(2) e30784.
- [24] Mochida K., Shinozaki K., *Genomics and bioinformatics resources for crop improvement*. Plant Cell Physiology 2010, 51(4) 497-523.
- [25] Morrell P.L. et al., *Crop genomics: advances and applications*. Nature Reviews Genetics 2011, 13(2) 573-583.
- [26] Edwards D., Batley J., *Plant genome sequencing: applications for crop improvement*. Plant Biotechnology Journal, 2010, 8(1) 2-9.
- [27] Paux E. et al., *Insertion site-based polymorphism markers open new perspectives for genome saturation and marker-assisted selection in wheat*. Plant Biotechnology Journal 2010, 8(2) 196-210.
- [28] Collard B.C.Y., Mackill D.J., *Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century*. Philosophical Transactions of the Royal Society B 2008, 363(1491) 557/572.
- [29] Pinheiro C., Chaves M.M., *Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data?* J. Exp. Bot. 2011, 62(3) 383-394.
- [30] Rajendran S.R. et al., *CRISPR-Cas9 Based Genome Engineering: Opportunities in Agri-Food-Nutrition and Healthcare*. OMICS. 2015, 19(5) 261-275.
- [31] Friedel S. et al., *Reverse engineering. Key component of systems biology to unravel global abiotic stress cross-talks*. Front Plant Sci. 2012, 3, 294.
- [32] Richards R.A. et al., *Breeding for improved water productivity in temperate cereals: phenotyping, quantitative trait loci, markers and the selection environment*. Funct. Plant Biol. 2010, 37, 85-97.
- [33] Munns R. et al., *New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit*. J. Exp. Bot. 2010, 61, 3499-3507.
- [34] Passioura J.B., *Phenotyping for drought tolerance in grain crops: when is it useful to breeders?* Funct. Plant Biol. 2012, 39, 851-859.
- [35] Sade N. et al., *Improving plant stress tolerance and yield production: is the tonoplast aquaporin SITIP2;2 a key to isohydric to anisohydric conversion?* New Phytol. 2009, 181, 651-661.

- [36] Sade N. et al., *The role of tobacco Aquaporin1 in improving water use efficiency, hydraulic conductivity, and yield production under salt stress*. Plant Physiol. 2010, 152, 245-254.
- [37] Aharoni A., Galili G., *Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface*. Current Opinion in Biotechnology, 2011, 22, 239-244.
- [38] Enfissi E.M.A. et al., *Integrative Transcript and Metabolite Analysis of Nutritionally Enhanced DE-ETIOLATED1 Downregulated Tomato Fruit*. The Plant Cell, 2010, 22, 1190-1215.
- [39] Börnke F., Broer I., *Tailoring plant metabolism for the production of novel polymers and platform chemicals*. Current Opinion in Plant Biology, 2010, 13, 354-362.
- [40] Wu S., Chappell J., *Metabolic engineering of natural products in plants; tools of the trade and challenges for the future*. Current Opinion in Biotechnology, 2008, 19, 145-152.
- [41] Morrow T., *Gaucher's disease treatment option rides on carrot cells' biologic power*. Managed Care, 2012, 21, 45-46.
- [42] Kwon K. et al., *Oral delivery of human biopharmaceuticals, autoantigens and vaccine antigens bioencapsulated in plant cells*. Advance Drug Delivery Reviews, 2013, 65, 782-799.
- [43] Czyż M. et al., *Freeze-Drying of Plant Tissue Containing HBV Surface Antigen for the Oral Vaccine against Hepatitis B*. BioMed. Research International, 2014, ID 485689.
- [44] Iwaniak A. et al., *Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności jako składniki diety o właściwościach kardioprotekcyjnych*. Polski Merkuriusz Lekarski (Pol. Med. J.), 2014, 216, 403-406.
- [45] Thompson A.J. et al., *Biological sources and sinks of nitrous oxide and strategies to mitigate emissions*. Philosophical Transaction of the Royal Society B: Biological Sciences, 2012, 367, 1157-1168.
- [46] Pretty J., Bharucha Z.P., *Sustainable intensification in agricultural systems*. Annals of Botany, 2014, 1571-1596.
- [47] Royal Society. 2009. *Reaping the benefits: science and the sustainable intensification of global agriculture*. London: The Royal Society.
- [48] FAO, WFP, IFAD, 2012, *The state of food insecurity in the world*. Rome: FAO.
- [49] OECD, 2011, *Towards green growth*. Paris: OECD.
- [50] UNEP, 2011, *Towards a green economy: pathways to sustainable development and eradication of poverty*. UNEP, Nairobi.
- [51] World Bank, 2012, *Inclusive green growth. The pathway to sustainable development*. Washington: World Bank.
- [52] UNCSO, 2012, United Nations conference on sustainable development. <http://www.uncsd.org/rio20/>

Perspectives and challenges of plants breeding in the post-genomic era

Nowadays achievements in the field of plant biotechnology exceed our earlier expectations. Prospects for their use are even more promising in near future. A better understanding of plant biology, related to new knowledge resources for molecular biology and new platforms for data analysis allowed the improvement of many crop species. With the advent of new technologies platforms, we are now capable to increase the control over the growth and development of plants (both in the vegetative and generative states), induce states of tolerance and even resistance to the ever-increasing risks associated with biotic and abiotic stresses and to support and assist traditional breeding methods by plant selection based on various types of molecular markers. The use of biotechnological tools has enabled the creation of genetically modified

organisms and the use of plants for the production of biofortified foods, biofuels and many new biomaterials. Due to persistent concerns about GM crops from various societies, making full use of new technologies depends on further progress of research and development, but mainly on favorable legislation and public acceptance. The sustainable intensification of agriculture requires efficient technologies for the production of economically competitive products of plant origin. It cannot be achieved without advanced research and development of biochemistry, physiology, genomics and agricultural sciences. Plant biotechnology therefore gives us opportunities to continue the agricultural revolution, that will meet the global demands of both food supplies and new biomaterials.

Key words: agrobiotechnology, plants breeding, GM crops, sustainable development