

Plan(t)er for fremtiden

AF BARBARA ANN HALKIER

Introduktion

Planter er livsnødvendige for mennesker. Takket være fotosyntesen leverer de ilt, mad, byggematerialer, tøj og medicin til os, og skovene fungerer som kulstoflagre på planeten. Planter er derfor også en vigtig komponent til løsning af fremtidens udfordringer.

I dette kapitel vil jeg viderebringe min fascination af planter og give et indblik i skønheden af den forskning, jeg er engageret i. Samtidig vil jeg – i min egenskab af planteforsker – informere om store videnskabelige fremskridt inden for planteforskningen og komme med eksempler fra egen og andres forskning. Den seneste viden har givet os værktøjer til at løse nogle af de store udfordringer, som vi står overfor, nemlig at levere føde til verdens befolkning på et begrænset landareal.

Ekspllosion i vores viden om planter

I 2000 blev DNA-sekvensen af det første menneskegenom og det første plantegenom publiceret. Menneskets og en plantes arvemasse var nu kortlagt, og antallet og rækkefølgen af de basepar, som udgør byggestenene i vores og plantens DNA, blev tilgængelige for forskningen. Den næste udfordring var at finde ud af, hvad de forskellige sekvenser af basepar koder for. Menneskets genom består af 3,2 milliarder basepar, mens genomet af modelplanten gåsemad, *Arabidopsis thaliana*, består af 125 milliarder basepar. Gåsemad blev



i sin tid valgt som modelplante bl.a. på grund af sin korte livscyklus (otte uger fra frø til frø) og sit relativt lille genom sammenlignet med andre planter.

Trods den store forskel i arvemasse – med plantegenomet som det største – er det ganske overraskende, at både menneskers og gåsemads genomer indeholder ca. det samme antal gener, nemlig omkring 30.000. Generne koder for proteiner, der varetager vigtige funktioner fx som enzymer, der får kemiske processer til at foregå hurtigere, transportproteiner, der flytter stoffer rundt inde i og mellem cellerne, og regulatorer, der bestemmer, hvilke gener der er aktive i en given celle. Siden år 2000 er vores viden om de mange protein-kodende gener og deres funktioner vokset eksponentielt. De fleste læsere er nok bekendt med de store fremskridt, der er opnået med kortlægningen af det humane genom, og som har gjort det muligt fx at screene efter specifikke arvelige sygdomme. Færre er måske klar over, at vores viden om planternes gener og deres funktioner også er vokset eksponentielt.

En vigtig metode for planteforskere til at forstå funktionen af et enkelt gen er at undersøge mutanter af dette gen. En mutant er i denne sammenhæng en plante, hvor et eller flere af genomets basepar er ændret i forhold til den oprindelige plante, den såkaldte vildtype. Mutanter er planteforskernes arbejdsværktøj, og i laboratoriet genererer vi rutinemæssigt mutanter, hvor funktionen af et givent gen typisk er fjernet eller øget. Efterfølgende sammenligner vi mutanterne med en vildtypeplante på det molekylære plan

Planteforskere anvender ofte ukrudtsplanten gåsemad (*Arabidopsis thaliana*) som modelplante i laboratorierne. Det gør de, fordi den er lille, fordi hver generation kun tager otte uger, og fordi den vokser over hele jordkloden og findes i et hav af variationer, der er tilpasset forskellige miljøer. Gåsemads genom har været kortlagt siden år 2000, og funktionen af mange af dens gener er allerede kendt, da der er udviklet en lang række molekylære værktøjer og mutantsamlinger, som giver forskerne et væld af muligheder for at afdække ny viden om planter.

og sammenholder dem med ændringer, der kan ses eller måles på planten, fx mængden af indholdsstoffer, vækst, modstandskraft, rodlængde og næringsoptagelse. På den måde kan vi afdække genernes funktion og se, hvordan specifikke mutationer påvirker planten. I dag har vi opnået et stort kendskab til, hvilke gener der er ansvarlige for de egenskaber, som søges fremmet gennem forædling, herunder fx tørke- og sygdomsresistens, samt hvilke gener der koder for farve-, duft- og giftstoffer.

I dag kendes genomerne for tusindvis af planter, herunder for alle vores kulturafrøder, såsom hvede, rug, kartofler og majs.

Planter er fantastiske kemikere

Planter kan i modsætning til dyr ikke løbe væk, men er bundet til jorden gennem deres solidt forankrede rødder. Trods denne tilsyneladende stillestående livsform udfoldes der et væld af aktiviteter inden i planterne. Her foregår der en kompleks orkestrering af de processer, som gør planten i stand til selv at lave føde (via fotosyntese), til at modstå alskens vejrlig (fx fungerer UV-absorberende stoffer i bladene som 'solcreme') og til at forsvare sig mod planteædere og sygdomsfremkaldende mikroorganismer.

Planter er fantastiske kemikere og syntetiserer et imponerende arsenal af kemiske stoffer, hvoraf mange udnyttes af mennesker som medicin, smags-, duft- og farvestoffer. Planterne selv bruger en vigtig del af de kemiske stoffer til at kommunikere og interagere med omgivelserne. Det kan være for at tiltrække bier, forsvare sig mod dyr og bakterier eller for at advare artsfæller, hvis der er fare på færde.

Netop planters kommunikation og interaktion med omgivelserne er dybt fascinerende og grundlag for stor forskningsaktivitet. Den nyeste forskning viser, at interaktionen mellem planterne og de mikroorganismer, de er i umiddelbar kontakt med, eller som er inden i rødderne og bladene, er lige så vigtige for planter, som mikrobiomet i vores tarme er for mennesket. 90% af alle planter har udvidet deres rodnet ved at leve i symbiose med en særlig slags svampe, de såkaldte mycorrhiza-svampe. Her leverer planten organiske sukkerstoffer, som de selv har fremstillet via fotosyntese, til svampen, og svampen kvitterer ved at hjælpe planten med at optage næringsstoffer fra jorden, herunder kvælstof og fosfat.

Som et andet eksempel kan nævnes, at planter i bælgfamilien – der bl.a. omfatter ærter og bønner, lupiner og kløver – lever i symbiose med nogle kvælstof-

fikserende Rhizobia-bakterier, som har den helt unikke egenskab, at de er i stand til at hente kvælstof (N₂) direkte ud af atmosfæren. Dette samarbejde giver bælgfrugter en stor fordel, fordi det skaffer dem nem adgang til dette livsvigtige næringsstof. Et tegn på, at det må dreje sig om en meget stor fordel, er, at bælgfamilien er den mest succesfulde familie målt på antallet af arter i planteriget.



Plantearter i bælgfamilien, herunder kløver og bælgfrugter, lever i symbiose med Rhizobium-bakterier i rodknolde i plantens rodsystem. Rhizobium har den fantastiske egenskab, at de er i stand til at fikse luftens kvælstof, som de derpå udveksler med planten til gengæld for sukkerstoffer, som planten har fremstillet ved sin fotosyntese. På billedet ses de typiske rodknolde på roden af en ærteplante.

Primære og specialiserede metabolitter

De stoffer, som planterne fremstiller, kaldes ofte for metabolitter, og de kan inddeles i primære og specialiserede metabolitter. Primære metabolitter, der opstår ved fotosyntese, omfatter proteiner, fedtstoffer, kulhydrater (fibre og sukkerstoffer), samt nukleinsyrer (DNA og RNA).

Mens primære metabolitter er essentielle for liv (heraf navnet) og til stede i alle celler i den enkelte organisme, så betegnes de øvrige stoffer, såsom farvestoffer, duftstoffer, smagsstoffer og forsvarstoffer som specialiserede metabolitter. Disse stoffer er typisk karakteristiske for bestemte grupper af planter og som sådan ikke essentielle for opretholdelse af liv, om end de selvfølgelig kan være vigtige for fitness og overlevelse. Som eksempel på specifikke specialiserede metabolitter kan nævnes koffein, vanillin, mentol og morfin. For os mennesker kunne man – i spøg – sige, at det netop er planters specialiserede metabolitter, der gør livet værd at leve.



Til højre ses den vilde kålplante strandkål (*Brassica oleracea*), der stammer fra Middelhavslandene og er ophav til alle de kultiverede kålplanter, mennesker spiser. Alle planterne ovenover er mutanter af den vilde kål og adskiller sig kun fra den ved hver især at have mutationer i ganske få gener, for eksempel for farve, øget blomsterstand, større blade, opsvulmet rod eller kortere stængel. De forskellige kålplanter har således alle det samme latinske navn (*Brassica oleracea*) som den vilde kålplante.

Glucosinolater

Glucosinolater er specialiserede metabolitter karakteristiske for planter, som tilhører kålfamilien (*Brassicaceae*), der bl.a. omfatter kål, karse og raps. Som et eksempel på, at mutanter er en del af vores hverdagsmad, er det interessant at bemærke, at de mange forskellige slags kål, vi spiser – grønkål, rødkål, hvidkål, rosenkål, broccoli, blomkål, kålrabi – alle er mutanter af den samme plantearart, *Brassica oleracea*. Broccoli repræsenterer en variant, som er muteret i gener relateret til blomsterudvikling, kål er muteret i gener relateret til dominans af hovedskud, og kålrabi er muteret i gener, som fører til opsvulmet stængel.

Der findes over 130 forskellige slags glucosinolater i naturen, og de forskellige planter har hver deres individuelle sammensætning af dem, hvilket også afspejles i smagen af de forskellige kål. For planterne er glucosinولاتernes primære funktion at være forsvarsstoffer.

Glucosinولاتers mange bioaktiviteter

Mennesker udnytter de mange glucosinolater til mange formål. Glucosinolater er velkendte som smagsstoffer, og det er fx dem, der giver den skarpe smag i wasabi (japansk peberrod). Der er mange undersøgelser, som har vist, at hvis man spiser meget kål (fx brocco-



li), kan man mindske risikoen for at udvikle forskellige sygdomme, herunder kræft.

I et forsøg med rotter, som var behandlet med et kemikalie, der inducerer brystkræft, blev det vist, at jo mere broccoliekstrakt, de havde indtaget, jo færre brystkræftkudier havde den enkelte rotte. Forskere har vist, at det er glucosinولاتerne, der giver denne sundhedsfremmende effekt, og de peger især på et glucosinolat ved navn glucoraphanin som særligt sundhedsfremmende for mennesker. Broccoli er rig på glucoraphanin, hvilket bl.a. har været medvirkende til det store fokus på, at broccoli er sundt. Det skal dog nævnes, at indholdet af glucoraphanin er endnu højere i rødkål end i broccoli, hvorfor det kan anbefales, at man ikke begrænser rødkål til sin julemad.

Men det er ikke ligegyldigt, hvilke af de mange slags glucosinolater, man indtager. Et specifikt glucosinolat, det såkaldte progoitrin, har fået sit navn, fordi det kan forårsage struma (*goitre* på engelsk), hvis man indtager det i store mængder, idet det hæmmer skjoldbruskkirtlens funktion. Progoitrin findes ikke i kål,

men bl.a. i raps, hvor det er væksthæmmende for de dyr, der har rapskage som hovednæringskilde (se mere nedenfor).

I landbruget er raps vigtig i sædskiftet. Her virker

glucosinolaterne som biopesticider, der lækker ud af rapspanternes rødder og dermed er medvirkende til at holde jordbårne sygdomsfremkaldende mikroorganismer og planteædere som nematoder nede.



Glucosinolater er planteindholdsstoffer, som produceres af planter i kålfamilien. Deres primære funktion er at beskytte planten mod at blive spist, idet deres skarpe smag vil afskrække langt de fleste planteædere. Således også den lille natsværmerlarve, der kravler på et kålblad uden at spise noget af det.



Men glucosinolater spiller også utrolig mange andre roller, både for planter – og mennesker. Velkendt er den skarpe smag, man fx kender fra wasabi, peberrod og sennep – og som man også kan genkende i en mildere variant i kål.



Glucosinolater, især glucoraphanin fra bl.a. broccoli, er kendt for at have en gavnlig effekt på menneskers helbred. De er stærke antioxidanter, kræftforebyggende og kan hæmme tumurvækst. De gavner hjerte-kar-systemet, har antiinflammatoriske egenskaber og understøtter et sundt mikrobiom i vores tarme.



Husdyr, der får foder med et meget højt indhold af glucosinolater, kan dog udvise en række negative symptomer, såsom væksthæmning, spisevægring, tarmirritation, anæmi og leverskader. Det skal pointeres, at der skal et stort og vedvarende indtag af glucosinolater til, før de negative bivirkninger kommer til udtryk, og for mennesker er disse bivirkninger aldrig observeret.



I landbruget har man stor gavn af glucosinolaterne som biopesticider i forsvaret mod jordbårne plantesygdomme og planteædere. Her udnyttes det, at glucosinolaterne og deres nedbrydningsprodukter lækkes ud af rødderne på fx raps, som følgelig er en vigtig afgrøde i sædskiftet. Ved biofumigering pløjes glucosinolat-holdige planter ned i jorden, så de efterfølgende kan udskille glucosinolaterne til jorden.



Sidst, men ikke mindst har glucosinolater vist sig at være et fremragende redskab for planteforskerne. Ved at anvende planten gåsemad og de glucosinolater, den fremstiller, som modelsystem har forskerne været i stand til at afdække en lang række forunderlige kendsgerninger på et meget detaljeret molekylært niveau om, hvorledes planter – og i nogle tilfælde alle flercellede organismer – er i stand til at overleve i og tilpasse sig deres evigt omskiftelige omgivelser.



Raps (*Brassica napus*) er en fremragende olieafgrøde, og rapsolie vinder da også større og større indpas i det danske køkken. Desværre er rapsplanten ikke særlig robust, for den kræver tempereret klima, og derfor lider den under den globale opvarmning. En gruppe forskere fra Københavns Universitet med Barbara Ann Halkier i spidsen er nu i fuld gang med at gøre en klima-robust fætter til raps, den såkaldte indiske sennep (*Brassica juncea*), lige så attraktiv som olieafgrøde. Fordelen ved sennepsplanten er, at den er både varme- og tørketolerant og desuden sygdomsresistent, og derfor kan den dyrkes i tørre egne som fx Østeuropa og Midtcanada. Også i Danmark vil den kunne dyrkes, selvom her skulle blive varmere og tørrere.

Den proteinrige rapskage er væksthæmmende

Inden for Brassica-slægten er der en række olieproducerende arter, fx raps (*Brassica napus*) og indisk sennep (*Brassica juncea*). Rapsplanten er en vigtig olieafgrøde (60 millioner tons pr. år på verdensplan), mens der kun dyrkes 0,5 ton pr. år af indisk sennep.

Grunden til, at rapsplanten er blevet vidt udbredt og har opnået så stor succes i landbruget, er, at man i 1970'erne fandt en mutant med reduceret indhold af glucosinolater og dermed progointrin i frøene. Mutan-

ten kaldes Bronowski efter den polske forædlingsstation, hvor den blev identificeret. Her skal det påpeges, at mutationer, såsom i Bronowski-mutanten, hele tiden opstår i naturen som følge af ydre påvirkninger (fx sollys), eller når der sker fejl i cellernes DNA (fx ved celledeling). I dag er Bronowski-mutanten den genetiske baggrund for al kommerciel raps i landbruget.

Når olien er presset ud af rapsplantens frø, er restproduktet en meget proteinrig rapskage. Den bliver brugt til dyrefoder, men kun i begrænset omfang (max 10-20% af foderpiller). Så selv om indholdet af det væksthæmmende progointrin er reduceret i Bronowski-mutanten, så skal det reduceres yderligere for, at rapskagen kan udgøre en større del af foderet. I dag er 80% af proteinfoderet, der anvendes i den animalske produktion i EU, sojabønnekage, som importeres fra Nord- og Sydamerika.

At udvikle det bedste grisefoder er et stort forskningsfelt med mange udfordringer, både ernæringsmæssige, økonomiske, politiske og miljømæssige. For tiden fodres den danske grisebestand i høj grad med foderpiller, der indeholder op imod 80% sojabønner importeret fra Sydamerika. Danske planteforskere arbejder ihærdigt på at udvikle lokale alternativer, der både vil være sundere for grisene, billigere for landmændene og bedre for miljøet.



Rapsplanten dyrkes på vores breddegrader, da den kræver tempereret klima. Følgelig er raps udfordret, hvis klimaforandringer kommer til at medføre højere temperaturer. Som alternativ til rapsplanten findes indisk sennep, hvis frø indeholder lige så god olie og protein som rapsfrø. Sennepsplanten er en mere robust afgrøde med både højere varme- og tørketolerance, samt højere sygdomsresistens, men også med meget højere indhold af progoitrin i frøene.

Progoitrin bliver ikke dannet inde i frøet, men i andre dele af planten, og først efterfølgende bliver det importeret ind i frøene, så de kan blive beskyttet mod at blive spist. Hvis man kan finde metoder til at forhindre importen af progoitrin til frøene, vil den indiske sennep være en fremragende olieafgrøde, der vil være raps overlegen. En forudsætning herfor er viden på det molekylære plan om den mekanisme, der transporterer glucosinolaterne ind i frøene.

Grundforskning i modelplante identificerer transportproteiner

Modelplanten gåsemad er også medlem af kålfamilien og nært beslægtet med raps, men den er hurtigere og nemmere at arbejde med grundet dens korte livscyklus og de mange mutantsamlinger, som allerede er tilgængelige. Min forskningsgruppe på Københavns Universitet satte sig for at identificere de transportproteiner, som er ansvarlige for importen af glucosinolater i frø.

Først screenede vi 240 transportproteiner for deres evne til at transportere glucosinolater. Det var ikke så ligetil, og vi måtte anvende æg fra en særlig slags frø, der lægger meget store æg, nemlig den afrikanske spofrø (*Xenopus laevis*), til at udtrykke transportproteinerne og efterfølgende måle, om der var kommet glucosinolat ind i frøæggene. Efter lang tids eksperimenteren lykkedes det os at finde et protein, som importerer glucosinolater ind i frøægget.

Vores næste opgave var at finde ud af, om det protein, vi havde identificeret, også var ansvarligt for importen af glucosinolater i plantefrø. Vi gik i gang med at analysere indholdet af glucosinolater i frø af modelplanten gåsemad, som havde fået deaktiveret produktionen af det pågældende transportprotein. Nedslående fandt vi, at indholdet var det samme som i vildtypeplanten. Så fandt vi på at analysere en anden mutant, hvor et nærtbeslægtet transportprotein var blevet deaktiveret, og til vores store glæde fandt vi, at her var indholdet af glucosinolater i frøet reduceret med 50%. Vi lavede så en ny plante ved at krydse de to mutanter og fik det overraskende resultat, at dobbeltmutanten

havde frø helt fri for glucosinolater. Der skulle altså fjernes to transportproteiner for at forhindre glucosinolaterne i at komme ud i frøerne. Vi havde dermed identificeret to Glucosinolat Transporter-gener, der blev kaldt for *GTR1* og *GTR2*, og som til sammen er ansvarlige for importen af glucosinolater ind i gåsemads frø.

Fra modelplante til afgrøde

Hvis vores resultater fra gåsemad kunne overføres til de beslægtede olieproducerende raps- og sennepsafgrøder, ville det åbne muligheder for, at restproduktet fra lokalt dyrket olieproduktion kunne udnyttes som dyrefoder i langt højere grad end nu. For raps ville det betyde en yderligere reduktion af glucosinolater i frøene i forhold til niveauet i Bronowski-mutanten, og for sennep ville det åbne op for at finde en plante, der kan blive et alternativ til raps, hvis de forudsagte klimændringer slår igennem, fordi den vil kunne dyrkes i tørre og varme områder, hvor rapsen ikke kan gro.

Der ligger altid en udfordring i at overføre viden fra modelplante til afgrøde. Kulturfafgrødernes genomer har ofte undergået multiplikationer og fusioner, hvilket har resulteret i, at de typisk har mange flere kopier af hvert gen. Fx er der seks kopier af *GTR1* og seks kopier af *GTR2* i raps og indisk sennep, hvorimod der kun er én kopi af hvert gen i gåsemad.

Fremtidens olieafgrøde

I forbindelse med, at vi gerne ville overføre vores nyvundne viden fra modelplanten til en afgrøde, skulle vi først beslutte, om vi ville satse på raps eller indisk sennep. Da sennepsplanten har langt bedre agronomiske egenskaber, valgte vi at starte med den. Det næste spørgsmål var, hvordan vi skulle få fat i sennepsplanter med de rigtige mutationer i transportergenerne.

Her indledte vi et samarbejde med det verdensomspændende frøfirma Bayer CropScience, som har en stor samling mutanter af netop indisk sennep. Dem har de fremstillet ved at behandle sennepsfrø med en passende dosis af kemikaliet methylethylsulfat (EMS). EMS inducerer mutationer tilfældigt udover hele genomet ved, at DNA-baseparret Guanin/Cytosin (G/C) omdannes til Adenin/Thymidin (A/T). Typisk bruges en dosis, så man genererer 10.000 mutationer pr. genom.

Kemisk induktion af mutationer er standardprocedure i planteforædling og blev indført for ca. 100 år siden. Vi screenede Bayers muterede sennepsplanter, og

Maleriet *Høstfolket* af Pieter Bruegel (1565) skildrer høsten.

Landbruget i 1500-tallet blev hovedsagelig drevet ved håndkraft og trækdyr og er meget forskelligt fra det industrielle landbrug, som brødføder Jordens befolkning i dag. I gamle dage var afgrøderne højere og gav mindre udbytte pr. aks. Den grønne revolution i 1960'erne skyldtes bl.a., at klassisk forædling havde ført til en hvedeafgrøde med kortere strå og større udbytte pr. aks. Planteforskerne ved i dag, hvilke gener der blev muteret i denne proces.



det resulterede i, at vi identificerede adskillige planter med mutationer i de pågældende transportproteiner. Efterfølgende fik vi mutanterne krydset med hinanden – ligesom vi havde gjort med modelplanten.

Det lykkedes os at fremstille en sennepsplante, der var muteret i fire *GTR*-gener, og som havde en reduktion i glucosinolatindholdet i frøene på mere end 60%. Dermed er vi allerede 75% af vejen mod at have reduceret indholdet af glucosinolater til de 18 $\mu\text{mol/g}$ frø, som er tærskelværdien for brug i foder. Når den klima-robuste, lokalt dyrkede sennepsplante uden glucosinolater i frøene er færdigudviklet, vil den kunne udgøre et bæredygtigt alternativ til import af sojabønneprotein fra Sydamerika.

Det er vigtigt at pointere, at de væksthæmmende glucosinolater i raps- og sennepsplanter er forskellige fra de sundhedsfremmende glucosinolater i kål, og at vi endelig skal blive ved med at spise kål i rigelige mængder. Ydermere skal det nævnes, at den sennep, vi spiser til vores mad, er fra planten gul sennep, *Sinapis alba*, som ikke er nært beslægtet med den indiske sennep og ikke indeholder det skadelige glucosinolat progoitrin. Vi kan altså roligt blive ved med at spise al den sennep, som vi plejer.

Plantebioteknologiens potentiale

Der ligger en kæmpe udfordring i at producere nok mad til at brødføde verdens befolkning på forventeligt 9,5 milliarder mennesker i 2050. Tilbage i 1500-tallet, da vi kun var 500 millioner mennesker på Jorden, blev landbruget drevet uden maskiner og primært ved håndkraft.

I dag, hvor vi er over 7 milliarder mennesker, har vi et meget intensivt landbrug. Der er ingen tvivl om, at det intensive, konventionelle landbrug er skadeligt for miljø og biodiversitet med dets brug af pesticider, dræning af engarealer, rydning af skov og regnskov. Samtidig er mængden af tilgængeligt landareal til landbrug begrænset, hvis vi stadig skal kunne bevare biodiversiteten og den vilde natur til fremtidige generationer.

I den forbindelse er det værd at notere sig, at ny forskning peger på, at det snarere er reduktionen af naturlige økosystemer end forandringerne af klimaet, der er kilden til den masseuddøen af arter, som vi desværre er vidner til i vores tid.

Der ligger uudnyttede muligheder for en forbedret fødevareproduktion i den eksplosivt voksende viden

om planters gener, som har foregået siden år 2000. Planteforskere har opnået stor viden om, hvilke gener der giver de egenskaber, vi ønsker for vores afgrøder. Mutanter er basis for, at denne viden kan udnyttes. I gamle dage var forædling baseret på evolution og udvælgelse (domesticering) af naturlige mutanter. I dag behøver vi ikke at vente på, at mutationer tilfældigt opstår i naturen. Spørgsmålet er blot, hvordan vi vil generere de ønskede mutanter, og hvilke former for bioteknologiske løsninger vi ønsker.

Kulturafrøderne og domesticeringsprocessen

I domesticeringen af vores kulturafrøder har vi udvalgt med henblik på større udbytter og reduktion af bitterstofferne, som rent faktisk er en del af plantens forsvar. De kultiverede planter har derfor mindre naturligt forsvar og dermed en mindre evne til at forsvare sig mod sygdomsfremkaldende mikroorganismer og planteædende dyr. Følgelig klarer vores kulturafrøder sig ikke så godt som deres vilde slægtninge.

Som eksempel kan nævnes majsplanten, hvis forfader, teosinte, er en plante med en lille, undselig kolbe med bitter smag, meget forskellig fra de store, søde, saftige kolber på nutidens majsplanter, vi alle kender, og som ikke kun mennesker, men også insekter ynder at spise. Populært sagt er vores kulturafrøder 'demilitariserede', højtydende mutanter. Som Charles Darwin så præcist beskrev det i 1868: »Domesticeringsprocessen er en unaturlig udvælgelsesproces«.

Udviklingen af pesticider i 1960'erne blev en måde, hvorpå vi kunne hjælpe vores kulturafrøder, som ikke længere havde nok af deres egen naturlige modstandskraft. Mens pesticiderne i starten blev opfattet

som løsningen på landbrugets problemer med udbyttestab på grund af insektangreb og sygdomme, er vi i dag blevet klar over de negative følger ved brug af pesticider. Ud over forurening af jord og vand og akkumulering i økosystemet medfører pesticider en reduktion af antallet af insekter. Det har en negativ indvirkning på de planter, som er udviklet til at blive insektbestøvet.

Klassisk planteforædling til introduktion af mutationer

Historisk set har naturligt opståede mutationer i genomet fulgt op af udvælgelsen af de bedste mutanter været vejen frem til udviklingen af afgrøder med nye egenskaber. For ca. 100 år siden begyndte planteforædlere at bruge forskellige behandlinger af såsæden for at øge hyppigheden af mutationer i genomet og dermed fremskynde udviklingen af planter med nye egenskaber.

Udover kemisk behandling med EMS (se s. 82) har man benyttet bombardering med neutroner, som bevirker større 'huller' - dvs manglende sekvens - i DNA-strengene, og gammabestråling, som resulterer i ændringer af baseparrenes placeringer i genomet. Karakteristisk for denne form for forædling er, at mutationerne rammer tilfældigt ud over hele genomet. Afkommet bliver efterfølgende screenet for forekomsten af de ønskede egenskaber.

Udvikling af PCR-teknologien (polymerase chain reaction) i midten af 1980'erne kombineret med planteforskernes viden om, hvilke gener der bidrager til en given egenskab, var et stort fremskridt. Det muliggjorde, at forædlerne målrettet kunne selekttere for bestemte mutationer på DNA, der var isoleret fra frøspirer, og ikke først skulle vente på at analysere den voksne plantes egenskaber. Ulempen ved de klassiske metoder til induktion af mutationer i genomet er indlysende, for det er ligesom at skyde med spredehagl - og man får både ønskede og uønskede mutationer ud over hele genomet.

Den moderne majs (til højre) nedstammer fra planten teosinte (til venstre). Udviklingen af den moderne majs er sket ved en udvælgelsesproces, hvor der er selekteret for mutationer i gener, der har bevirket større frø, større kolber, fjernelse af den hårde skal, der beskyttede frøene mod at blive spist, øget antal frø og øget sukkerindhold. Alle disse ændringer er fremkommet ved tilfældige, naturlige mutationer - en proces, der har taget flere tusind år.



Crispr/Cas9-teknologien

Den allernyeste forskning har udviklet en ny genteknologi, der kaldes Crispr/Cas9-teknologien. Den muliggør præcis og specifik editering af de ønskede steder i genomet. Crispr/Cas9-teknologien er udviklet, efter at nogle forskere opdagede, hvordan bakterier forsvare sig mod viruspartikler, der har splejset sig ind i deres genomer. Det gør bakterierne nemlig ved specifikt at klippe i virussens DNA. Populært sagt er Cas9 et enzym, der fungerer som en DNA-saks. Cas9-enzymet bliver dirigeret af et såkaldt guide-RNA til præcis det sted i genomet, hvor DNA-strengen skal klippes over.

Siden opdagelsen af bakteriers immunsystem er det gået rivende hurtigt med at udvikle Crispr/Cas9-teknologien til at kunne klippe DNA fra planter og dyr over på specifikke steder. Cellen reparerer derpå selv den overklippede DNA-streng, men det sker, at der ved reparationen introduceres enten færre eller flere basepar end i den oprindelige DNA-sekvens, og en mutation er opstået. Således er det blevet muligt at introducere mutationer i et specifikt gen.

Når man har sikret sig, at de ønskede mutationer er opnået, kan Cas9-enzym og guide-RNA fjernes fra genomet ved simpel selektion. Den muterede plante, hvor enzym og guide-RNA er bortselekeret, adskiller sig ikke fra naturligt opståede mutanter, hverken genetisk eller på nogen anden måde.

Teknologien har været kritiseret for at kunne forårsage mutationer andre steder end i de(t) ønskede gen(er) – altså populært sagt, at der også bliver klippet ved siden af. Sådanne hændelser kan opdages ved at sekventere hele genomet af den organisme, som er blevet behandlet med Crispr/Cas9-teknologien. Det har

vist sig, at i planter forekommer mutationer uden for det specifikke gen, som var målet for genom-redigeringen, uhyre sjældent til forskel fra dyr. Det vides ikke med sikkerhed, hvorfor der er denne forskel mellem dyr og planter, men en af forklaringerne er muligvis, at dyr og planter bruger forskellige metoder til at reparere en overklippet DNA-streng.

Ved klassisk mutationsforædling introduceres mange mutationer i afgrøden ved hjælp af EMS eller stråling. For at reducere antallet af 'baggrundsmutationer' udfører forædlerne gentagne tilbagekrydsninger med ikke-muteret afgrøde. Følgelig er forædling i dag en meget langsommelig proces, som udføres over mange plantegenerationer. Crispr/Cas9-teknologien med dens præcise editering af genomet er en potentielt meget effektiv måde at introducere mutationer på. Det er dog ikke sådan, at Crispr/Cas9-teknologien bare virker 100% hver gang. Forskellige guide-RNA'er i kombination med Cas9-enzymet kan have meget forskellig klippeeffektivitet, og i mange tilfælde kommer der slet ingen mutationer ud af det. Det går imidlertid virkelig stærkt inden for dette forskningsfelt i både planter og dyr, og teknologien bliver hele tiden forfinet og videreudviklet.

Succeseksempler med Crispr/Cas9

På det molekylære plan har planteforskerne i dag en betydelig viden om og forståelse af funktionen af en plantes ca. 30.000 gener, herunder hvilke mutationer der har givet anledning til domesticeringen af vores kulturafrøder. I det følgende vil jeg præsentere to eksempler på, hvordan genom-redigering ved hjælp af Crispr/Cas9-teknologien på elegant vis har været udnyttet i plantebioteknologien til at udvikle mere robuste afgrøder.

Den kommercielle tomatplante har frugter, hvis modningstidspunkter er synkroniseret, og hvis næringsindhold er højere end hos den vilde tomatplante, som til gengæld er mere tolerant over for stress og resistent over for sygdomme. Planteforskere har identi-

Crispr/Cas9-teknologien har revolutioneret biologien, fordi den har gjort det muligt for forskerne at editere i bestemte gener. Billedet illustrerer, hvordan en DNA-streng bliver muteret lige præcis der, hvor mutationen ønskes. Ved traditionel planteforædling induceres mutationer – fx med kemikalier – uspecifikt i hele genomet. Efterfølgende udvælges mutanter med gode egenskaber, mens uønskede mutationer fjernes ved tilbagekrydsninger over flere generationer.



ficeret, at det drejer sig om seks gener, som er blevet muteret i løbet af domesticeringsprocessen for at opnå disse forbedringer. Disse gener er ansvarlige for, at frugterne er større, at tomaterne modnes samtidigt, og at næringsindholdet er øget.

Ved hjælp af Crispr/Cas9-teknologien er det lykkedes at tage en vild tomatplante og introducere mutationer i netop de seks gener. Processen tog ti måneder, og resultatet blev en tomatplante, som ligner den kommercielle tomatplante med hensyn til frugtmodning og næringsindhold, men som samtidig er stresstolerant og sygdomsresistent. Dette eksempel viser, at domesticeringsprocessens mutationer, som er opstået tilfældigt over tusindvis af år, hurtigt og effektivt kan introduceres i stresstolerante, vilde slægtninge ved hjælp af Crispr/Cas9-teknologien. Dette åbner op for muligheden for at udvikle ny afgrøder, der har de fødevarer-kvaliteter, som ønskes, samtidig med at de har bevaret planternes oprindelige stresstolerance.

Et andet eksempel på et godt resultat af Crispr/Cas9-teknologien er overførslen af sygdomsresistens mod meldugsvampen fra byg- til hvedeplanten. I byg er det velkendt, at en mutation i Mlo-genet giver robust resistens mod meldugsvampen. Denne viden om funktionen af et specifikt resistensgen fik planteforskere til at teste, om de ved hjælp af Crispr/Cas9-teknologien kunne indføre mutationer i de tilsvarende Mlo-

gener i hvedeplantens genom. Det viste sig, at introduktionen af mutationer i tre af hvedens Mlo-gener resulterede i en hvedeplante med resistens over for meldugsvampen.

Fremtiden

Der ligger store udfordringer med hensyn til at brødføde verdens befolkning. Planter er en vigtig del af løsningen. Det kræver samarbejde på tværs af landbrug, agronomi, planteforskning og økologi. For en planteforsker er det en særdeles spændende tid med masser af muligheder for at bidrage til bæredygtige løsninger for fremtidens landbrug. Crispr/Cas9-teknologien har været intet mindre end revolutionerende for planteforædlingen.

Det er mit håb, at forædling fremover vil være synonymt med plantebioteknologi. De nævnte eksempler viser, at Crispr/Cas9-teknologien kombineret med den øgede viden inden for plantevidenskaben åbner op for, at stresstolerante, vilde slægtninge til vores kulturafrøder kan domesticeres og dermed udvikles til nye klima- og sygdomsrobuste afgrøder. Og det vil ikke mindst accelerere den hastighed, hvormed den store viden på det molekylære plan, som planteforskere har opbygget og i fremtiden vil opbygge, kommer i spil.



Den vilde tomatplante (*Solanum chilense*) ligner slet ikke den stort-ydende drivhusplante, vi kender. Dens frugter er heller ikke særligt store eller lækre, men til gengæld kan den leve under nøjsomme betingelser.

Planteforskere har vist, at udvælgelsesprocessen fra vild til moderne tomatplante omfatter seks genmutationer. Da mennesket første gang forædlede den vilde tomatplante, tog processen 8000 år og bestod i at afvente og udvælge heldige, men tilfældige mutationer. For nylig har planteforskere vist, at det – ved hjælp af den såkaldte Crispr/Cas9-teknologi – er muligt at fremavle en moderne tomatplante ud fra dens vilde for-moder på kun 10 måneder.



Billedet viser en række kålplanter, der har været udsat for en oversvømmelse. Det er tydeligt, at de bestemt ikke har det lige så godt som de vilde ukrudtsplanter, de vokser sammen med. Planter skal være robuste for at kunne modstå pludselige ændringer i temperatur eller vandmængde, og de kulturafrøder, mennesket har fremavlet på grund af deres næringsindhold og smag, er typisk dårligt rustede hertil. Ved at identificere de genvariationer, der gør de vilde planter i stand til at klare sig bedre, kan planteforskerne gøre kulturafrøderne mere stresstolerante. Alternativt kan de genvarianter, som er blevet udvalgt i domesticeringsprocessen, bruges til at udvikle de stresstolerante vilde slægtninge til kulturafrøder.

Litteratur

- Arabidopsis Genome Initiative 2000: »Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*«, i: *Nature* 408, 796–815.
- Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., and Gao, C. 2019: »Crispr/cas genome editing and precision plant breeding in agriculture«, i: *Annual Review of Plant Biology* 70, 667–697.
- Darwin, C. 1868: *The Variation of Animals and Plants under Domestication*. Vol. 1. London: John Murray.
- Dinkova-Kostova, A.T., and Kostov, R.V. 2012: »Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease«, i: *Trends in Molecular Medicine* 18, 337–347.
- Fernie, A.R., and Yan, J. 2019: »De novo Domestication: An Alternative Route toward New Crops for the Future«, i: *Molecular Plant* 12, 615–631.
- Hacquard, S., Spaepen, S., Garrido-Oter, R., and Schulze-Lefert, P. 2017: »Interplay between innate immunity and the plant microbiota«, i: *Annual Review of Phytopathology* 55, 565–589.
- Li, T., Yang, X., Yu, Y., Si, X., Zhai, X., Zhang, H., Dong, W., Gao, C., and Xu, C. 2018: »Domestication of wild tomato is accelerated by genome editing«, i: *Nature Biotechnology* 36, 1160–1163.
- Nour-Eldin, H.H., Andersen, T.G., Burow, M., Madsen, S.R., Jørgensen, M.E., Olsen, C.E., Dreyer, I., Hedrich, R., Geiger, D., and Halkier, B.A. 2012: »NRT/PTR transporters are essential for translocation of glucosinolate defence compounds to seeds«, i: *Nature* 488, 531–534.
- Nour-Eldin, H.H., Madsen, S.R., Engelen, S., Jørgensen, M.E., Olsen, C.E., Andersen, J.S., Seynnaeve, D., Verhoye, T., Fulawka, R., Denolf, P., et al. 2017: »Reduction of antinutritional glucosinolates in Brassica oilseeds by mutation of genes encoding transporters«, i: *Nature Biotechnology* 35, 377–382.
- Peterson, B.A., Haak, D.C., Nishimura, M.T., Teixeira, P.J.P.L., James, S.R., Dangl, J.L., and Nimchuk, Z.L. 2016: »Genome-Wide Assessment of Efficiency and Specificity in CRISPR/Cas9 Mediated Multiple Site Targeting in Arabidopsis«, i: *PLoS One* 11, e0162169.
- Rahbek, C., Borregaard, M.K., Colwell, R.K., Dalsgaard, B., Holt, B.G., Morueta-Holme, N., Nogues-Bravo, D., Whittaker, R.J., and Fjeldså, J. 2019: »Humboldt’s enigma: What causes global patterns of mountain biodiversity?«, i: *Science* 365, 1108–1113.
- Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., and Qiu, J.-L. 2014: »Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew«, i: *Nature Biotechnology* 32, 947–951.
- Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E.R., Notini, M.M., Edel, K.H., Weigl, S., Freschi, L., Voytas, D.F., Kudla, J., and Peres, L.E.P. 2018: »De novo domestication of wild tomato using genome editing«, i: *Nature Biotechnology* 36, 1211–1216.