

R O L N I C T W O Z A G R A N I C A

MICHAŁ PŁOSZYŃSKI

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
w Puławach*

NOWOCZESNE BADANIA BIOTECHNOLOGICZNE NA PRZYKŁADZIE PROGRAMU WYDZIAŁU ROLNEGO UNIwersytetu Stanowego w Północnej Dakocie

Wydział Rolny Uniwersytetu Stanowego w Północnej Dakocie jako jeden z pierwszych (jeśli nie pierwszy) rozwinął na terenie USA w 1985 roku pełny program nauczania i badań w zakresie nowoczesnej biotechnologii. W dziedzinie tej szkoleni są studenci i nadawane są stopnie zawodowe i naukowe (B.S., M.S. i Ph.D.). Studenci prócz zdobywania wiedzy z podstawowych przedmiotów doskonalą się w takich technikach jak kultury roślinne komórkowe i tkankowe, mikropropagacja roślin, kultury komórkowe zwierzęce, metody rekombinacji DNA itd. Mimo że biotechnologia jako kierunek studiów jest kompleksowa i wymagająca, pociąga studentów szerokimi możliwościami wyboru pracy po studiach.

W sensie naukowym pojęcie — „biotechnologia” jest w bardzo różny sposób definiowane i interpretowane przez naukowców [43]. W powszechnej jednak opinii przypisuje się tej nauce dużą rolę i wielkie perspektywy w dalszym rozwoju działalności człowieka, szczególnie w wieku XXI.

T.R. Wilkinson, prodziekan Wydziału Rolnego, podstawowych korzyści w badaniach biotechnologicznych dopatruje się w następujących zagadnieniach [43]:

1. Wyeliminowanie barier genetycznych uniemożliwiających użytkowanie i przenoszenie pożądanych cech w roślinach i zwierzętach.
2. Przyspieszenie i rozwój zastosowań technologii na poziomie komórkowym i molekularnym.
3. Integracja podstawowych i stosowanych dyscyplin dla rozwiązywania problemów rolniczych.
4. Zwiększenie zrozumienia i poparcia społecznego dla badań i rozwoju tej dziedziny.
5. Ostatecznym celem prowadzonych badań ma być optymalne wykorzystanie funduszy sponsorów dla uzyskania korzyści dla producentów i konsumentów przez efektywne i wydajne wykorzystanie zasobów.

W 1987 roku powołano do życia Rolnicze Centrum Biotechnologiczne. Centrum koordynuje prace nad tworzeniem i realizacją programów badawczych jak i wielodyscyplinarne współdziałanie specjalistów z różnych zakładów Wydziału i Ekesperymentalnej Stacji Rolniczej. Po tym krótkim wstępie warto zwrócić obecnie uwagę na raczej szeroki program prac o charakterze zaliczanym przez wykonawców do badań biotechnologicznych i prowadzonych w różnych zakładach i specjalnościach Wydziału Rolnego.

Nauka o roślinach uprawnych i chwastach

W ostatnich 30 latach dokonano dużego postępu w hodowli zbóż na takie cechy jak: zdolność plonowania, odporność na wyleganie i choroby, ulepszona jakość i wcześniejsza dojrzałość. Biotechnologia i związane z nią metody genetyczne stworzyły nowe perspektywy. Do nowych odmian można wprowadzić cechy odporności na herbicydy, insekty, choroby, zasolenie itd. Najczęściej trzeba zidentyfikować, wyizolować, wbudować do komórki określone geny, regenerować zmodyfikowane rośliny i ocenić je. Jest to procedura długa, kosztowna i trudna.

Ważniejsze tematy prowadzone w Zakładzie z wykorzystaniem również kultur *in vitro* zestawiono poniżej:

1. Prowadzenie kultur komórkowych fasoli i badanie odporności zregenerowanych roślin na *Sclerotinia sclerotiorum*.

2. Poszukiwanie izoenzymów związanych z odpornością na zimno twardych pszenic ozimych jako wskaźników do laboratoryjnego testu odporności.

3. Badania w kulturach *in vitro*, przy zmiennych składach pożywek, stopnia i czasu wypełniania ziarna kukurydzy dla porównania z warunkami polowymi.

4. Z kalusa, otrzymanego z zarodka metodą kultur tkankowych, regeneruje się rośliny pszenicy. Wydajność regeneracji uzależniona jest od odmian. Nie stwierdzono zmian roślin podczas tego procesu. Wskazane są badania nad zwiększeniem wydajności regeneracji.

5. Regeneracja roślin metodą kultur komórkowych związana jest ze zmianą charakterystyki roślin. Różne techniki są oceniane dla uzyskania efektywnej regeneracji roślin zbożowych, lnu i rzepaku z pojedynczej komórki.

6. Typ zmian genetycznych i ich częstotliwość występowania w kulturach komórkowych zależą od składu i użytkowania pożywki i czasu stosowania kultury oraz zboża i jego odmiany. Sposoby stosowania pożywek są badane.

7. Wybrane warianty genetyczne roślin z kultur komórkowych selekcyonowane i oceniane będą na tolerancję w stosunku do herbicydów, suszy, niskich i wysokich temperatur, źródeł azotu i intensywności oświetlenia jak i z punktu widzenia ich jakości i produktywności.

8. Badania pszenic jarych dla uzyskania ulepszonej odporności na suszę. Ten punkt zostanie szerzej rozwinięty. Woda spełniająca ważne i rozliczne funkcje w życiu roślin jest tracona na drodze ewaporacji (z gleby) i transpiracji (z roślin). Rośliny [9, 36] mogą zwiększać swoją tolerancję na suszę przez lepsze dostosowanie się do warunków częściowej dehydratacji, zwiększenie absorpcji wody (system korzeniowy) lub ograniczenie transpiracji (zamykanie się szparek, zwijanie się liści i podwyższenie ciśnienia osmotycznego komórek). W klasycznej hodowli uzyskanie zboża o podwyższonej tolerancji na suszę wymaga skrzyżowania rodziców o odpowiednich cechach, wyselekcjonowania w chowie wsobnym przez kilka generacji tolerancyjnego na suszę potomstwa i przebadaniu uzyskanych linii homozygotycznych w warunkach polowych. W punkcie 1 i 2 jest to procedura kompleksowa. Zastosowanie biotechnologii w postaci transferu genów niosących odporność na suszę od dawcy do biorcy jest obecnie procedurą trudną. Aplikacja kultur komórkowych w odpowiednich pożywkach umożliwiających zmiany genetyczne w dzielących się i formujących kalus komórkach pozwala na otrzymanie w procesach regeneracyjnych wielu roślin z jednego kalusa i ujawnienie na pożywkach selekcyjnych ulepszonych cech osmotycznych komórek [10, 32]. Opierając się na tej procedurze prof. Deckard uzyskał kalusy ze skrawków niedojrzałych ziarniaków odmian pszenicy Angus i Chris. Ze skrawków tych kalusów w środowisku glikolu polietylenowego, symulującego stres wodny, zregenerował szereg roślin. Po szeregu zabiegach, z potomstwa tych roślin wysianych w polu w warunkach suszy panującej w 1988 roku w Dakocie, uzyskano kilka obiecujących linii do dalszych badań [9].

9. Zastosowanie kultur tkankowych dla zmiany cech fasoli jadalnej. W systemie wykorzystuje się zmienność genetyczną (somatoklonalną) uzyskiwaną podczas hodowli fragmentów tkanek i utrwalaną w procesie regeneracji roślin. Mechanizmy zjawiska nie są jeszcze znane [19]. Uzyskiwano w ten sposób rośliny odporne na herbicydy [41] lub toksyny [14]. Podczas procedury regeneracyjnej można przenieść geny ze środków biologicznych do roślin [38]. Taki system regeneracyjny opisano i zastosowano dla badania zmienności w fasoli [20]. W wyniku procedury regeneracyjnej uzyskano 250 linii potomstwa z odmian fasoli Othello i Olathe. Tylko jedna z linii Olathe ujawniła zmienność genetyczną w postaci wcześniejszego o 10 dni dojrzewania. W niektórych wypadkach stwierdzono zmianę koloru nasion. W wypadku badania potomstwa odmiany

Pindak część z roślin była w okresie dojrzałości istotnie krótsza o zmiennej powierzchni liści (w wypadku uprzednio opisanych odmian tego nie stwierdzono). Dalsze prace są w toku. Zainicjowano również badania nad transferem genów z różnych biotypów *Agrobacterium tumefaciens* do fragmentów tkanki odmiany Othello w procesach regeneracyjnych roślin. DNA bakterii, poddany zabiegom genetycznym ma gen odporności na selekcyjne środowisko pożywki i pozwala w ten sposób na stwierdzenie faktu insercji genów bakterii do DNA komórek roślinnych i ujawnienie tego procesu zwanego transformacją [19]. Rozwój tej metody może w najbliższej przyszłości pozwolić na wbudowywanie do roślin określonych cech agrotechnicznych.

Ogrodnictwo i leśnictwo

Opracowanie składu pożywek i parametrów hodowli roślin w kulturach tkankowych przyczyniło się do rozwoju ogrodnictwa. Można wskazać na zastosowanie kultur tkankowych do hodowli orchidei z nasion (słabo zaopatrzonych w rezerwy żywieniowe), rozwoju embrionów z nasion słabo żywotnych (np. po krzyżowaniu roślin), do szybkiego aseksualnego namnażania lub mikronamnażania roślin jak i uzyskiwania w określonych warunkach roślin wolnych od wirusów [43]. Kultury te stosowane są do badania mutacji i fuzji komórkowych. W Zakładzie Ogrodnictwa i Leśnictwa prowadzone są badania nad warunkami występowania zmienności genetycznej i spontanicznych mutacji w kulturach tkankowych. Ma to duże znaczenie dla hodowców roślin i rolników. Za pomocą kultur tkankowych i innych technik bada się możliwości genetycznego połączenia różnych korzystnych cech ziemniaków uprawnych i dzikich [43]. W wyniku stosowania fuzji protoplastów, regeneracji roślin w kulturach tkankowych oraz stosowania różnych krzyżówek (często wymagających przed krzyżowaniem podwojenia liczby chromosomów dla otrzymania form płodnych) otrzymano szereg hybrydów o ulepszonej odporności na różne choroby i poprawionej jakości. W hybrydach tych bada się zmienność genetyczną wynikającą z genotypu form dzikich (często nie produkujących bulwy) oraz o naturze somatoklonalnej, powstałą podczas regeneracji roślin. Konieczne w tych pracach było rozwinięcie metod badania szkodliwych glikoalkaloidów, których bogatym źródłem są formy dzikie, jak i elektroforezy do badania typów dziedzicznych białek. W przyszłości zwróci się też uwagę na selekcję gamet do prac hodowlanych [16]. Opisano też krótko procedurę stosowaną dla uzyskania certyfikowanych nasion ziemniaków [43].

Dakota jest stanem, w którym dużą uwagę przywiązuje się do budowy i ulepszania drzewnych pasów wiatrochronnych. W Zakładzie Ogrod-

nictwa i Leśnictwa rozwinęto techniki kultur tkankowych, ko-kultury i technologie rekombinacji DNA dla oceny stopnia szkodliwości różnych czynników patogennych i przyspieszenia oraz ulepszenia selekcji form odpornych drzew najczęściej stosowanych w tych pasach — *Pinus ponderosa*, *Ulmus pumila* i *Acer saccharinum* [37].

Patologia roślin

W Zakładzie za główne zadanie biotechnologii uważa się opracowanie metod skringingu badania odporności roślin i rozwijanie nowych źródeł odporności na choroby roślin. Przykładem tego może być zastosowanie w Zakładzie metody hypokotyła lnu w kulturach tkankowych dla testowania odporności na rdzę i uzyskanie, przez wykorzystanie somatoklonalnych zmienności, form lnu odpornych na rdzę [43]. We wszystkich tego typu kulturach zawsze wymagane są warunki sterylne i określone, odpowiednio zmieniane pożywki. Obecnie poszukuje się różnych genów jako źródeł odporności na choroby [33]. Nie wszystkie gatunki uprawne je mają. Często formy dzikie są ich źródłem lub nawet inne nie spokrewnione formy — np. kukurydza jest odporna na rdzę pszenicy [17]. Możliwy jest transfer genów z organizmu do organizmu i łączenie różnych typów odporności. Przeniesienie genów metodami niekonwencjonalnymi inżynierii genetycznej jest jeszcze na ogół trudne i drogie [18] i wymaga sprawdzenia metodami tradycyjnymi odporności zmodyfikowanej rośliny na dane patogeny. Przy identyfikacji genu przed transformacją należy też przebadać możliwości powstania odpornych mutantów patogena [17].

Identyfikacja genów odporności w tradycyjnym ujęciu wymaga posiadania szczepów o bardzo specyficznej patogenności lub skomplikowanego systemu skringingu, krzyżowań i ostatecznej segregacji w pokoleniu F_2 .

W Zakładzie opracowano program dla identyfikacji genów odpowiedzialnych za odporność lnu na rdzę. Porównując długość restrykcyjnych fragmentów polimorficznych „form odpornych i wrażliwych” (RFLP — metoda) można zidentyfikować region DNA zawierający geny odporności na rdzę. Po identyfikacji można będzie próbować przenieść gen ten z formy odpornej na wrażliwą. Znaczenie tego polega na tym, że zidentyfikowany obszar DNA odpowiedzialny za odporność na rdzę pozwoli na szybkie jego wykrywanie w różnych źródłach i ułatwi i przyspieszy na różnych drogach tworzenie odpornych odmian [43].

Prowadzone są także na dużą skalę prace nad regeneracją roślin ziemniaka z protoplastów (których można równolegle badać miliony) komórek

liści. Stwierdzono między klonami dużą zmienność somatoklonalną w zakresie morfologii roślin, plonowania i odporności na różne choroby (np. znaleziono formy o zwiększonej odporności na mokrą zgniliznę).

Bada się także możliwości stosowania kultur tkankowych do skriningu odporności roślin uprawnych na choroby i toksyny produkowane przez chorobotwórcze mikroorganizmy (np. odporność na mokrą zgniliznę, toksynę powodującą nekrozę pierścieniową, białą pleśń, faseolotoksynę, toksynę *Pomopsis* itd.). Próbuje się także badać mechanizm działania toksyn.

Zainicjowano także badania nad przenoszeniem genów za pomocą *Agrobacterium tumefaciens* jako wektora. Do wektora tego wbudowano geny produkujące białka niszczące szereg bakterii celem wprowadzenia ich do genomu ziemniaka.

Można również wymienić próby zastosowania małych fragmentów DNA plazmidów do wykrywania w nasionach ziemniaków małych ilości bakterii nie wykrywanych innymi metodami [43].

Botanika

W Zakładzie stosowano kultury komórkowe do oceny wpływu stresu wodnego na metabolizm azotowy komórek. Wykorzystano też kultury tkankowe i komórkowe do badania wrażliwości różnych biotypów wilczomleczu na herbicydy, do oceny wpływu fitohormonów na rozwój stożków wzrostu korzeni i łodyg i na zjawiska odporności na zimno podziemnych części tej rośliny. Skupiono też w dużym stopniu uwagę na wyjaśnienie na poziomie komórkowym i molekularnym struktury i funkcji aparatu fotosyntetycznego wyższych i niższych roślin. Między innymi badano genetyczne (cytoplazmatyczne i jądrowe) uwarunkowania i biogenezę pigmentów i kompleksów białkowo-pigmentowych oraz możliwości w kulturach roślinnych transferu cytoplazmatycznych genów z tkanki do tkanki dla zmodyfikowania ich ekspresji i regulacji aparatu fotosyntetycznego.

Entomologia

Postęp w entomologii zapewniła biotechnologia w postaci produkcji białkowych toksyn tzn. mikrobiologicznych pestycydów, działających na insekty. Przykładem tego może być wbudowanie do pomidorów genu produkującego toksynę, uzyskanego z *Bacillus thuringensis*, i otrzymaniu form odpornych pomidora na gąsienice [43]. Źródła jednak tych toksyn

i ich zakres działania na insekty są ograniczone. Należy więc szukać i głębiej badać naturalną odporność roślin na insekty, jej źródeł chemicznych i mechanizmów działania. Dla selekcji form odpornych stosuje się długotrwałe badania z kryteriami obserwacji uszkodzeń lub kryteria na zawartość środków obronnych jeśli te są już znane. Osobna strategia opiera się na inżynierii genów warunkujących syntezę środków toksycznych dla insektów.

W Zakładzie Entomologii w przedstawionym uprzednio aspekcie zajęto się słonecznikiem.

Stwierdzono, że infekcje grzybowe, chrząszcze słonecznikowe i owady przyłżeńcowate zwiększają w słoneczniku syntezę kumaryn ayapiny i skopoletyny, które są z kolei dla czynników powodujących ich syntezę szkodliwe. Na tej zasadzie z jednej strony są prowadzone prace nad wykorzystaniem somatoklonalnej zmienności i mutagenyzy dla otrzymania roślin o dużej wrażliwości na czynniki wywołujące syntezę kumaryn (oznaczanych za pomocą HPLC i chromatografii cienkowarstwowej). Z drugiej strony bada się jaka musi być wartość czynnika (sygnału) do indukcji syntezy, jak ona przebiega w różnych częściach rośliny, jak szybko ujawnia się po sygnale i wreszcie jak działają czynniki osobno i razem? Są to pytania ważne poznawczo i praktycznie. Badana jest również skuteczność i struktura różnych terpenoidów (np. laktonów sekwiterpenowych), które są szkodliwe dla insektów łuskoskrzydlatych uszkadzających kwiaty słonecznika. Istnieje duża różnorodność innych metabolitów wtórnych w słoneczniku (substancje acetylenowe, flawonoidy, które po rozfrakcjonowaniu i ocenie biologicznej i chemicznej mogą być wykorzystane w różnych procedurach łącznie z pracami transgenicznymi do poprawy własności obronnych słonecznika, uprawianego w Północnej Dakocie [43]).

Ostatnio uzyskano szereg nowych szczepów *Bacillus thuringiensis*, produkujących szereg endotoksyn toksycznych dla różnych szkodników. Są one testowane na szkodniki słonecznika. Wbudowanie ich genów do tej rośliny wymaga jeszcze szeregu badań (np. jak działają naturalne fenole, których słonecznik zawiera sporo, na aktywność endo- i egzotoksyn).

Mikrobiologia

Zastosowanie mikroorganizmów naturalnych w różnych dziedzinach przemysłu i rolnictwie jest ogromne. Rozwój biotechnologii i inżynierii genetycznej znacznie zakres tych zastosowań rozszerzył i stymulował rozwój nowych badań, których przykłady w rolnictwie podano poniżej [1, 34]:

a. Uzyskanie zmodyfikowanych genetycznie bakterii *Pseudomonas syringae* i *Erwina herbicola* zwiększających mrozoodporność roślin.

b. Zarejestrowanie kilkanaście mikrobiologicznych toksyn w Stanach Zjednoczonych służących do zwalczania określonych chwastów i insektów. Różne problemy związane z otrzymaniem tych toksyn, genetycznym ulepszeniem ich własności i przenoszeniem odpowiednich genów do roślin i mikroorganizmów są w toku intensywnych badań.

c. Wprowadzanie różnych genów kodujących cechy korzystne (np. odporność na określone herbicydy), do roślin uprawnych. Wykorzystanie *Agrobacterium tumefaciens* jako wektora.

d. Prace nad zwiększeniem wiązania azotu atmosferycznego przez rośliny. Próby przystosowania roślin nie mających aparatu do wiązania azotu będą z szeregu względów wymagać długich badań.

e. Genetyczne ulepszenia mikroorganizmów dla uzyskania lepszych produktów z materiału roślinnego i różnych odpadów.

f. Brak jest jeszcze ugruntowanej wiedzy o losach genetycznie zmodyfikowanych mikroorganizmów wprowadzonych do środowiska glebowego. Konieczna jest według Aleksandra [21, 22] odpowiedź na następujące pytania:

1. Czy wprowadzony mikroorganizm przeżyje i czy będzie się rozmnażał i rozszerzał poza obszar zastosowania?

2. Czy będzie przenosił materiał genetyczny do innych organizmów?

3. Czy dany organizm lub te z którymi oddziaływał mogą okazać się szkodliwe?

Na tle tych danych rozpatrzona zostanie tematyka Zakładu Mikrobiologii.

Proces wiązania azotu atmosferycznego przez rośliny jest bardzo kompleksowy [27], a procesy nodulacji i wiązania azotu często są sterowane przez geny zlokalizowane w plazmidach [6]. Za pomocą określonych technik [5, 24, 39] izolowano plazmidy z nodulowanych korzeni fasoli i rozdzielano je. Stwierdzono, że dla każdego z 46 izolowanych szczepów *Rhizobium* zestaw plazmidów jest charakterystyczny i może służyć jako „fingerprint” w celach identyfikacyjnych. Za pomocą prób hybrydyzacji ze standardowym DNA zawierającym geny zaangażowane w procesach fiksacji [31] stwierdzono, że 45 szczepów zawiera plazmidy z genami wiązania azotu, a tylko 1 szczep miał aparat wiązania zakodowany tylko chromosomalnie. Autorzy przypisują tym badaniom znaczenie w możliwościach tworzenia nowych preparatów inokulacyjnych dla wiązania azotu, tym bardziej, że dotychczasowe badania polowe sugerują, że nie ma szczepów miejscowych, które hamowałyby konkurencyjnie działanie komercyjnego preparatu [40].

Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem map restrykcyjnych mitochondrialnego DNA roślin do oceny genotypów, fenotypów i ich powiązań między różnymi roślinami. Uważa się, że dotychczas podane badania mają duże znaczenie naukowe i praktyczne.

Wykonuje się także prace nad różnorodnością występowania mikroorganizmów glebowych w różnych systemach uprawy. Z jednej strony jest to istotne dla oceny środowiska glebowego przy wprowadzaniu do niego zmodyfikowanych mikroorganizmów a z drugiej wskazane dla oceny żyzności gleb, podatności roślin na choroby, zwłaszcza w systemie uprawy bezorkowej stosowanej jeszcze dla obniżenia erozji i kosztów produkcji. Badania są także prowadzone nad optymalnym zagospodarowaniem łąk, reakcjami w układzie soja — *Rhizobia* i nad metodami odzyskiwania z gleby rekombinowanych mikroorganizmów.

Ze względu na możliwości szkodliwego wpływu na zdrowie i środowisko produktów inżynierii genetycznej i metod rekombinacji DNA zalecono, aby Narodowy Instytut Zdrowia (NIH) dawał wskazówki do bezpiecznego prowadzenia tych badań i decydował o możliwościach ich prowadzenia. W miarę braku doniesień o szkodliwości genetycznie modyfikowanych organizmów kompetencje te przekazywano władzom lokalnym — instytucjonalnym komitetom do spraw bezpieczeństwa (IBC). W 1983 roku utworzono placówkę IBC przy Uniwersytecie Stanowym w Północnej Dakocie, która składa się z 10 specjalistów z różnych dziedzin [41]. W bardziej wątpliwych sytuacjach komitet zaleca stosowanie procedury B4-1 (poziom pierwszy bezpieczeństwa) minimalizującej ryzyko. W przyszłości przy wprowadzaniu zmodyfikowanych organizmów do środowiska IBC będzie musiał zwiększyć aktywność, mimo że dotychczasowe próby nie ujawniły zagrożeń [4].

Odrębne badania są skupione nad mechanizmami transportu cukrów i ich metabolizmu przez bakterie celulolityczne w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy. Mechanizm tego transportu winien ułatwić zrozumienie funkcji czynników kontrolujących produkcję i aktywność enzymów celulolitycznych, co w połączeniu z poznaniem genetyki bakterii celulolitycznych może pozwolić na takie zastosowanie inżynierii genetycznej, która wytworzy szczepy o zwiększonej zdolności digestii celulozy. Prowadzone są też badania nad znalezieniem bezpiecznej i efektywnej szczepionki przeciw toksoplazmozie.

Biochemia

W Zakładzie podjęto interdyscyplinarne i kompleksowe badania nad wykrywaniem *Clavibacter michiganense sepedonicum*, patogena powodującego u ziemniaka groźną chorobę — nekrozę pierścieniową naczyń bulw

i innych części roślin. W nasionach dopuszcza się zerową tolerancję dla tego patogena. Studia zainicjowano do wykorzystania plazmidu tej bakterii dla opracowania super czułego testu hybrydyzacyjnego (metodą dot-blot DNA hybridization) do wykrywania i nawet wyróżniania szczepów tej bakterii.

Inny zespół bada mechanizm kontroli ekspresji genu kodującego enzym dekarboksylazę ornityny, który reguluje biosyntezę poliamin putesceny, spermidyny i sperminy niezbędnych dla regulacji syntezy RNA i DNA i podziałów oraz wzrostu komórek podczas rozwoju insektów. Zrozumienie tych mechanizmów może ułatwić zwalczanie określonych insektów. Bada się również ekspresję tego genu w lnieniu. Prowadzone są prace nad identyfikacją i izolacją genów kodujących odporność lnienia na rdzę celem ich transformacji do form wrażliwych.

Wiadomo, że hormonalna i neuronowa regulacja metabolizmu (i tym samym produkcji) zwierząt opiera się na włączaniu i wyłączaniu kluczowych enzymów za pomocą ich fosforylacji i defosforylacji regulowanej przez kinazy i fosfatazy białkowe. W tym aspekcie prowadzone są prace nad wyodrębnieniem i charakterystyką kinaz i fosfataz białkowych. Obecnie prace koncentrują się na metabolizmie glikogenu mięśni świń. Metabolizm ten jest związany z jakością wieprzowiny i złączony z cechą „wrażliwości”, lub „odporności” świń na stresy [43]. Zidentyfikowanie genów tej cechy mogłoby za pomocą inżynierii genetycznej znaleźć swój wyraz w ulepszeniach produkcji zwierzęcej. Rozpoznanie w dalszych badaniach bardziej kompleksowo regulacji metabolizmu może za pomocą technik rekombinacji DNA lub przeciwciał monoklonalnych zmienić kontrolę metabolizmu i np. przez ograniczenie odkładania tłuszczu i degradacji białek doprowadzić do poprawy jakości i wydajności surowca zwierzęcego. Na koniec należy dodać, że rozwijane są badania metodyczne nad opracowaniem szybkich testów immunologicznych do oznaczeń pestycydów w laboratorium jak i w polu.

Wiedza o zwierzętach i weterynaria

Długoterminowe cele biotechnologii w tej dyscyplinie dotyczą [43]: mniejszego użycia środków chemicznych w produkcji zwierząt i roślin, uzyskania nowych odmian roślin korzystnych dla przemysłu zwierzęcego, lepszej wydajności produkcji żywności zwierzęcej, lepszego życia rolników i wyjścia naprzeciw wymaganiom dotyczącym żywności dla ludzi.

Jeden z ciekawszych tematów dotyczy tzw. wzrostu kompensacyjnego czyli szybszego niż normalny, który występuje gdy niektóre gatunki niedożywione przenosi się na dietę o wyższym poziomie żywienia. Wzrost

kompensacyjny ma głęboki wpływ na wzrost zwierząt, potomstwo, mamogenezę i laktację. Badania koncentrują się na modelu, który zakłada, że wzrost kompensacyjny wpływa na wydzielanie hormonów i aktywność enzymów, które z kolei modyfikują ekspresję genów ssaków i wielkość replikacji, transkrypcji i translacji w komórkach. W efekcie powinny zostać zmodyfikowane procesy rozwoju, zróżnicowania i ekspresji genów w gruczołach ssaków. Autorzy spodziewają się, że badania te pozwolą na zwiększenie wzrostu zwierząt domowych i ujawnią działanie na długość laktacji i jakość mleka, zdolności reprodukcyjne i przeżywalność potomstwa.

W Zakładzie Weterynarii zainicjowano badania nad otrzymaniem antyidiotypowej szczepionki przeciw brucelozie, bezpiecznej — nie zawierającej żywych organizmów. Prowadzi się też badania nad uzyskaniem toksycznych T-komórek specyficznych dla wirusa opryszczki, nad odwracaniem immunologicznych funkcji poprzez działanie rekombinacyjnego somatotropowego hormonu oraz nad otrzymaniem immunomodulacyjnych substancji dla bydła. Prace są wykonywane nad wirusem biegunki bydłowej (BVDV) i patogenezą indukowanej przez tego wirusa choroby [3].

Warto też zwrócić uwagę na badania nad poprawieniem reprodukcji inwentarza przez lepsze zrozumienie procesów reprodukcyjnych [29]. Wydajność produkcji mięsa w dużym stopniu zależy od efektywności procesów reprodukcyjnych [13]. Takie techniki jak superowulacja i transfer embrionów nie zawsze dawały ulepszone wyniki gdyż nie rozpoznawano wystarczająco mechanizmu modyfikowanych procesów. Dla przykładu można wskazać, że zrozumienie molekularnych podstaw działania prostaglandyn na procesy w jajnikach pozwoliło na uzyskanie odpowiednich związków i właściwą synchronizację procesów estrowych u owiec i bydła [29]. Badania podstawowe zgodnie z intencjami Autorów, szczególnie prowadzone metodami biotechnologii, winny owocować w efektach aplikacyjnych.

Ważnym czynnikiem i nie w pełni wyjaśnionym w funkcjonowaniu jajników, w fazie pęcherzykowej cyklu, owulacji i transporcie komórki jajowej są hormony follitropina i lutropina. W pracach swoich Autorzy [29] skupili się na eksperymentalnym zbadaniu własnej hipotezy, że związane receptorowo oba te hormony wydzielają angiogeniczny czynnik stymulujący rozwój i wzrost komórek naczyń krwionośnych zaopatrujących reprodukcyjne tkanki w krew i odpowiednie składniki. Efekt stymulacyjny obu hormonów i tkanki lutealnej z krwi na rozwój systemu krwionośnego potwierdzono w doświadczeniach założonych na błonie rozwijającego się jaja kurzego i w kulturach komórek naczyń krwionośnych, w których jednocześnie stwierdzono, że tkanka lutealna z póź-

niejszych faz cyklu estrowego silniej faworyzowała rozwój naczyń krwionośnych [28]. Wykazano, że typ i stan zdrowia komórek follilularnych wpływa na sekrecję czynnika (czynników) angiogenicznego [35]. Dalsze badania nad strukturą tego czynnika, genetycznymi uwarunkowaniami i procesami rozwoju w jajnikach są w toku [29].

W kosztach produkcji zwierzęcej pozycja utrzymania samic w wieku reprodukcyjnym ma duże znaczenie [12]. Odpowiednia ilość i dobra jakość potomstwa, które to wartości można poprawić za pomocą transferu embrionów [42] i wbudowania korzystnych genów do embrionu [25] mogą pozycję kosztów utrzymania samic obniżyć. U bydła, owiec i świń tylko 60 do 75% zapłodnionych jaj rozwija się w potomstwo. Reszta ginie, szczególnie w początkowym okresie ciąży. Za ważny czynnik śmiertelności uważa się uzyskiwanie zbyt małej wagi płodu [15]. Istotną rolę w odżywianiu płodu spełnia łożysko, o którego funkcjach odżywczych w dużym stopniu może decydować jego ukrwienie [30]. Rozpoczęto więc badania nad czynnikami powodującymi angiogenezę i nad ekspresją genów wpływających na budowę i funkcje łożyska.

Duża śmiertelność zarodków różnych zwierząt [7, 8] może być też związana ze złożoną równowagą endokrynologiczną, sekrecją aktywnych białek przez macicę, wzrostem łożyska i innymi procesami, które w dużym stopniu są regulowane przez wydzielany z żółtych ciał progesteron i produkowane przez embriony estrogeny [11, 26, 29]. Niektóre substancje mogą stymulować wydzielanie tych hormonów i kształtować ich zmodyfikowaną równowagę [29]. W tym aspekcie prowadzone są badania nad wpływem ludzkiej gonadotropiny łożyskowej (hCG) na kształtowanie równowagi endokrynologicznej, procesy rozwoju embrionów i zwiększenie stopnia ich przeżywalności.

W dziedzinie neuroendokrynologii wykazano ostatnio wpływ różnych peptydów z mózgu na wydzielanie hormonów z przysadki mózgowej [29]. Stwierdzono również, że niektóre endogenne peptydy (EOP) jak i ich antagoniści (naloxone — NAL) modulują sekrecję gonadotropin i prolaktyny u samic. Istotnie opisano ostatnio stymulacyjny wpływ NAL na sekrecję LH i prolaktyny w fazie ciała żółtego cyklu estrowego macior [2]. W innych badaniach potwierdzono ten efekt tylko w odniesieniu do prolaktyny i tylko w późnej fazie pęcherzykowej cyklu estrowego [23].

Wszystkie te badania nad zrozumieniem różnych zjawisk cyklu reprodukcyjnego winny zaowocować w zwiększonej efektywności tego procesu i ulepszonej produkcji zwierzęcej.

Dokonany w artykule przegląd na przykładzie tematyki badawczej Uniwersytetu Stanowego w Dakocie wskazuje na wzrastającą rolę biotechnologii w programach badawczych (także naukach podstawowych), która winna ostatecznie znaleźć swój wyraz w działalności praktycznej.

Jak wskazała dr Richards, recenzent programu naukowego Uniwersytetu — „rozwój biotechnologii w Północnej Dakocie jest istotny dla ulepszenia ochrony roślin, hodowli dużych zwierząt oraz doskonalenia plonów i ich jakości”.

LITERATURA

1. Allen C.E.: *Jour. Minn. Acad. Sci.* 53, 43—44, 1987/88.
2. Barb C.R. i in.: *Anim. Endocrinol.* 2, 93—98 1985.
3. Berry E.S.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 37—39, 1988.
4. Berryhill D.L.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 15, 1988.
5. Berryhill D.L., Schroeder M.B., Obermiller T.L.: *N.D. Res. Rep.* nr 105, 1985.
6. Berryhill D.L. i in.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 33—31, 1988.
7. Bolet G.: Timing and extent of embryonic mortality in pigs, sheep and goats. In *Embryonic Mortality in Farm Animals*. Martinus Nihoff Publ. Dordrecht, the Netherlands, 1986.
8. Boyd J. i in.: *Brit. Vet. J.* 125, 87—97, 1969.
9. Deckard E.L.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 16—19, 1988.
10. Deckard E.L., Biewer K.A., Simonson R.S.: *Farm Res.* 44 (4), 16—18, 1987.
11. Dickmann Z., Dey S.K., Sen Gupta J.: *Vitamins and Horm.* 34, 215—242, 1976.
12. Ferrel C.L., Jevkins T.G.: *J. Anim. Sci.* 61, 725—741, 1985.
13. Frenkle A., Wilham R.L.: *Science* 198, 1009—1015, 1977.
14. Gengenbach B.G., Green C.E., Donovan C.M.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 74, 5113—5117, 1977.
15. Huffman E.M., Kirk J.H., Pappaioanou M.: *Prerogonology* 24, 163—171, 1985.
16. Jansky S.: Ehlenfeld M. *Farm. Res. t.* 46, nr 3, 34—35, 1988.
17. Kieselring R.L.: *Farm Res.* 45, 2, 1988.
18. McCabe D.E. i in.: *Biotechnology* 6, 923—926, 1988.
19. McClean P.E., Grafton K., Held B.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 32—33, 1988.
20. McClean P.E., Medich C., Grafton K.: *Plant Sci.* 1989 w druku.
21. Milewski E.: *Recom. DNA Tech. Bull.* 6, 103—110, 1983.
22. Milewski E.: *Recom. DNA Techn. Bull.* 7, 189—203, 1984.
23. Okrasa S., Weigi R.M., Tilton J.E.: *J. Anim. Sci.* 66 (Suppl. 1), 396, 1988.
24. Paczkowski M.W., Berryhill D.L.: *Appl. Environ. Microbiol.* 29, 612—615, 1985.
25. Palmiter R.D. i in.: *Science* 222, 809—814, 1983.
26. Pope W.F., Mauer R.R., Stormshak F.: *Biol. Reprod.* 27, 575—581, 1981.
27. Prakash R.K., Atherly A.G.: *Int. Rev. Cytol.* 104, 1—24, 1986.
28. Redmer D.A. i in.: *J. Reprod. Fertil.* 82, 627—634, 1988.
29. Redmer D.A., Reynolds L.P., Tilton J.E.: *Farm. Res. t.* 46, nr 3, 20—26, 1988.
30. Reynolds L.P. i in.: *Agric. Sci.* 106, 437—444, 1986.
31. Ruvkun G.B., Ausubel F.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77, 191—195, 1980.

32. Sears R.G., Deckard E.L.: *Crop. Sci.* 22, 546—550, 1982.
33. Sequeira L.: *Plant Disease*. 70, 612, 1986.
34. Struble J.E., Funke B.R.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 27—29, 1988.
35. Taraska T., Reynolds L.P., Redmer D.A.: *Adv. Exp. Biol. Med.* (in press), 1989.
36. Turner N.C., Kramer P.J.: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. John Wiley and Sons. New York, 1980.
37. Tuskan G.A.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 36, 1988.
38. Vaeck M. i in.: *Nature* 328, 33—37, 1987.
39. Vincent J.M.: *A manual for the practical study of rootnodule bacteria*. IBP Handbock nr 15, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1970.
40. Weiser G.C., Grafton K., Berryhill D.L.: *Agron. J.* 77, 856—859, 1985.
41. Wershun, Kirch G.K., Gienapp R.: *Genetics* 74, 480—482, 1987.
42. Wilett F.L. i in.: *Science* 113, 247, 1951.
43. Wilkinson T.R.: *Farm Res. t.* 46, nr 3, 1—14, 1988.