

ДОБИВАЊЕ СИНА БОЈА КАЈ РОЗИТЕ СО ПРИМЕНА НА ГЕНЕТСКО ИНЖЕНЕРСТВО

Надица Сандева

Факултет за земјоделски науки и храна, Скопје
е-пошта: nadica_56@yahoo.com

Апстракт

Една од главните цели на селекционерите на цвеќарски култури е создавањето на нови бои кај цветовите. Конвенционалните селекциски методи кои ги користат постоечките генетски ресурси од цвеќарските видови, се ограничени поради отсуството на клучните гени за биосинтеза на нови пигменти. Токму поради оваа причина по пат на класична селекција не можат да се создадат генотипови на роза со сина боја. Генетското инженерство е процес на бришење, модифицирање или додавање на гени во молекулот на ДНК, со цел промена на генетските информации што ги содржи. Цел на модерната растителна биотехнологија е подобрување на одредени својства кај растенијата, животните и микроорганизмите со внесување на одреден ген. Генетските модификации овозможуваат подобрување (промена) на употребните карактеристики кај цвеќарските видови. Розите се една од најважните култури за резан цвет кои нашироко се користат насекаде низ светот. Во овој труд е опишана постапката за добивање роза со сина боја со помош на генетски трансформации.

Клучни зборови: роза, сина боја, генетска трансформација.

GETTING BLUE ROSES USING GENETIC ENGINEERING

Nadica Sandeva

Faculty of Agricultural Sciences and Food, Skopje
department: Vegetable and Folwer Crop Production
e-mail: nadica_56@yahoo.com

Abstract

One of the main goals of floricultural breeders is creating new colors in flowers. Conventional breeding methods that use existing genetic resources of floricultural species are limited by the absence of key genes for biosynthesis of new pigments. For this reason by classical breeding methods can not be created blue rose genotypes. Genetic engineering is the process of deleting, modification or adding novel genes into the DNA molecule, in order to change the genetic information they contain. Goal of modern plant biotechnology is to improve certain traits in plants, animals and micro-organisms with the introduction of a certain gene. Genetic modifications allow improvement (change) of use-features in floricultural species. Roses are ones of the most important cut flower crops that are widely used throughout the world. In this paper is described the procedure for creation of blue rose via genetic transformation.

Key words: rose, blue color, genetic transformation.

Вовед

Важна движечка сила во цветно декоративната индустрија е создавањето на нови растенија и цвеќиња. Новите видови остваруваат маркетинг, можности за трговците и правилната селекција на цвеќиња и декоративни растенија што влијае врз зголемувањето на продуктивноста кај одгледувачите, како и врз подобрување на квалитетот на финалниот производ во корист на потрошувачите. Иако растителните истражувања и конвенционалните

селекциски програми на одгледување успешно ги остваруваат овие цели, генетските модификации нудат дополнителни правци во создавањето на нови видови цвеќиња и декоративни растенија. Тоа се постигнува со инкорпорација на гени од достапни генетски ресурси. Со користење на генетското инженерство и генетските модификации, можно е вметнувањето на одреден ген кој ја регулира биосинтезата на пигменти и овозможува создавање генотипови со нова боја на цветовите кај одредени цвеќарски

видови. На овој начин, со користење на биотехнологија се создадени цветови со две или повеќе бои, а има и примери каде што обојувањето е на одредени делови од цветот. Комерцијалната употреба на генетски модифицирани растенија бара придржување до специфични регулаторни режими и усогласување со правата за интелектуална сопственост. Овие дополнителни комплексности се значително поскапи и ја отежнат примената на генетската технологија од страна на одгледувачите на цветни култури. Друг фактор може да биде гледиштето дека јавноста и трговците не ги прифаќаат генетски модифицираните цветно-декоративни производи.

Генетски трансформации кај бојата на розите

Култивираната роза (*Rosa hybrida*) се одгледува со векови а видовите кои најчесто се користат во цвеќарската индустрија се добиени од осум вида на дива роза (Gudlin, 2000).

Немањето на сина/виолетова боја кај розите се објаснува со едноставната структура на антоцијаните во розата, кои главно произведуваат пеларгонидин или цијанидин 3,5-диглукозид во цветните листови, а немаат делфинидин што е базиран на антоцијани. Досега многу мало количество на ароматични киселински антоцијани се пронајдени, и тоа само кај видот *Rosa rugosa* (Mikanagi et al., 2000). Розите исто така немаат силни ко-пигменти како што се флавононите, а и вакуоларната рН им е слаба. Комбинацијата на сите овие ограничувања укажува дека сино/виолетовите бои на цветовите не можат да се постигнат со конвенционално селектирање.

Стратегијата на генетските модификации е да се користи и вклучи генот флавоноид

3',5'- хидроксилаза (flavonoid-3', 5'-hydroxylase - F3'5'H), со цел да се овозможи производството на делфинидин во цветовите. Првите експерименти со експресијата на генот F3'5'H од петунија, генцијана и други видови, регулирани со различни промотори не биле успешни за добивање трансгенетска роза со променета боја. Сепак подоцна со модификација на генот F3'5'H добиена е успешна трансформација кај розата каде што била забележана зголемена концентрација на делфинидин во венечните лифчиња (Слика 1) (Brugliera et al., 2004).

Според истражувањата направени во Јапонија и Австралија, делфинидинот учествува со повеќе од 90% од вкупните антоцијани во цветовите (Слика 1) (Tanaka, 2006). Покрај трансформациите со F3'5'H генот, добиени се успешни генетски трансформации каде што генот дихидрофлавонол редуктаза (dihydroflavonol reductase - DFR) од розата е потиснат со RNAi технологијата, со цел да се дерегулира (измени) процесот на биосинтеза на цијанидинот (Tanaka, 2006). Добиените трансгенетски рози имаат сини/виолетови цветни бои кои никогаш не би можеле да се добијат со конвенционално одгледување на розите. Кај трансгенетските рози, биосинтезата на делфинидинот е наследна и потомството содржи трансгени кои исто така произведуваат делфинидин во листовите. Многу гени кои се вклучени во ароматичната ацилација (acylation) на антоцијаните, копигментацијата и контролирањето на вакуоларната рН се клонирани (Tanaka and Brugliera, 2006), и се корисни во сегашните и понатамошните истражувања за напредок во промените кај бојата на розите во сини нијанси.



Слика 1. Добиена роза со класична селекција (лево); Трансгенетска роза (десно) Трансгенетските рози се во фаза на тестирање во Јапонија, Колумбија и САД.

Примена на постапката на CSIRO за добивање сина роза

Розите се познати по нивните прекрасни бои, црвена, розова, портокалова, па дури и бела. Овие различни бои на цвет кај розата се создадени со класична селекција, но не се добило роза со син цвет.

Добиени се бледовиолетови рози, како резултат на варијација на црвениот пигмент, но не со продукција на син пигмент.

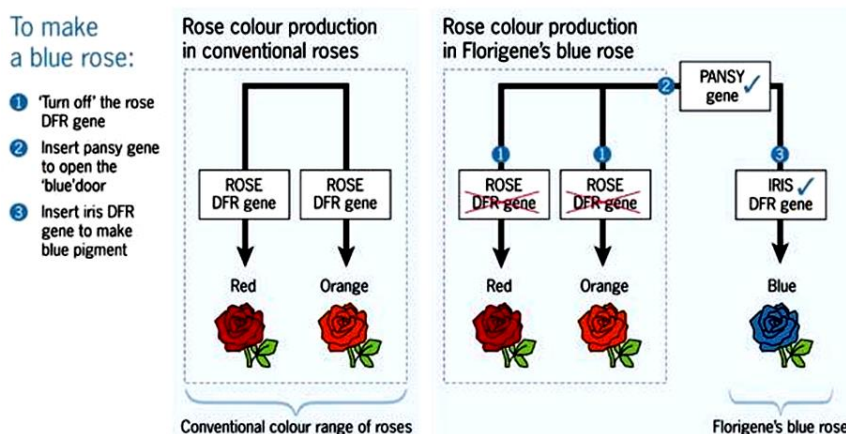
За да се добие сина роза со син пигмент потребни се три процеси:

1. Да се прекине (стопаира) продукцијата на црвен пигмент;

2. Овозможување продукција на син пигмент и

3. Продукција на сина боја

Генот дихидрофлавонол редуктаза (dihydroflavonol reductase - DFR) е вклучен во биосинтезата на бојата кај цвеќињата. DFR-генот го кодира ензимот дихидрофлавонол редуктаза кој во понатамошните биохемиско-физиолошки процеси во растението образува пигменти кои ги обојува цвеќињата.



Кај розите, DFR-генот е многу добар во продукцијата на црвен пигмент, а тоа е и спектарот на бои кој најчесто се среќава кај розите. Меѓутоа, DFR-генот кај розите не овозможува продукција на син пигмент, што ја отежнува селекцијата кај розата за добивање сина роза.

1. Прекин на продукција на црвен пигмент

CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization) од Австралија, за првпат ја развил техниката на потиснување на експресијата на РНК (gene silencing or RNAi) во 1997 година. RNAi техниката овозможува деградирање на информационата РНК која е одговорна за синтеза на соодветен протеин (и) и на тој

начин се потиснува или исклучува активноста на генот.

Потиснувањето на експресијата кај гените е употребено во бројни истражувачки апликации за детерминација на генетските функции и во развојот на експериментални растенија со поволни својства.

2. Овозможување продукција на сина боја
Вториот чекор во создавање на трансгенетска роза со сина боја е да се овозможи продукција на сината боја. Откако во првиот чекор е потисната експресијата за продукција на црвен пигмент, инсертиран е генот делфидин (*delphinidin gene*) кој е клониран од темјанушка кој овозможува продукција на син пигмент кај розите.

3. Продукција на сина боја

Откако во првиот чекор се потиснува експресијата за продукција на црвен пигмент со RNAi, а во вториот чекор се инсертира генот делфидин кој овозможува синтеза на син пигмент, третиот чекор е вметнување на DFR-ген, изолиран од ирис, кој продуцира сина боја. спектарот на бои кој најчесто се среќава кај розите. Меѓутоа, DFR-генот кај розите не овозможува продукција на син пигмент, што ја отежнува селекцијата кај розата за добивање сина роза.

Користејќи ја технологијата на CSIRO, австралиската компанија Florigene и јапонската компанија Suntory успеале да ја добијат првата сина роза, која била и комерцијализирана.

Фактори од кои зависи интензитетот на сината боја кај розите

Иако фенотипот на сината роза произведена од Florigene и Suntory всушност е со бледо виолетова боја, сепак тоа е првата роза каде што бојата доаѓа од син пигмент. Бојата на другите „сини рози“ кои се моментално на пазарот, се добиени со модификација од црвениот пигмент.

Можно е да се добијат и рози со поинтезивна сина боја, доколку се намали киселоста на лифчињата кај розата, која делува инхибиторно на синиот пигмент.

Истражувачите од Florigene и Suntory се во потрага по гени кои влијаат врз киселоста на листовите, или други гени кои на други начини влијаат врз бојата на лифчињата, за да се добие роза со интензивно сина роза.

Комерцијална достапност

Истражувачите од австралиската компанија Florigene и јапонската Suntory, користејќи ја технологијата на CSIRO, успеале да ја добијат првата сина роза, која била комерцијализирана.

Сините рози на Florigene и Suntory за прв пат биле пуштени во продажба во 2009 година во Јапонија под името „Blue Rose APPLAUSE“ а цената за една роза се движела од 2000-3000 јени или 22-35 американски долари. Брендот „Blue Rose APPLAUSE“ е комерцијализиран и во САД и Канада каде што цената е речиси десет пати повисока од онаа на добиените рози по пат на класична селекција. Компанијата Suntory за 2012 година планира да произведе и продаде 300 000 рози од брендот „Blue Rose APPLAUSE“ по цена од 50 долари на цвет.

Сината роза не е првиот производ на овие компании, Florigene веќе има успешно креирано син каранфил со примена на генетската технологија и тој е достапен во Австралија од 1996 година.

Заклучок

Една од главните цели на селекционерите на цвеќарски култури е создавањето на нови бои кај цветовите. Конвенционалните селекциски методи кои ги користат постоечките генетски ресурси од цвеќарските видови се ограничени поради отсуството на клучните гени за биосинтеза на нови пигменти. Токму поради оваа причина не може да се создадат генотипови на роза со сина боја. Со користење на генетско инженерство и генетски модификации можно е вметнувањето на одреден ген кој ја регулира биосинтезата на пигменти и овозможува создавање генотипови со нова боја на цветовите кај одредени цвеќарски видови. На овој начин, со користење на биотехнологија се создадени цветови со две или повеќе бои, а има и примери каде што обојувањето е на одредени делови од цветот.

Во текот на изминатите години, истражувачите во Suntory Ltd. и Florigene Pts.Ltd. се фокусирале на креирање нови бои кај цвеќињата преку генетско инженерство на културите за резан цвет. Модификацијата на биосинтезата на антоцијани се постигнува со експресија на хетерологни гени или/и со потиснување на експресијата на ендогените гени. Со модификација на

генот F3'5'H е добиена успешна трансформација кај розата, при што била забележана зголемена концентрација на делфинидин во венечните лифчиња. Покрај трансформациите со F3'5'H-генот, добиени се успешни генетски трансформации каде DFR -генот од розата е потиснат со RNAi технологијата, со цел да се измени процесот на биосинтеза на цијанидинот. Добиените трансгенетски рози имаат сини/виолетови цветни бои кои никогаш не би можеле да се добијат со конвенционално одгледување на розите. Кај трансгенетските рози, биосинтезата на делфинидинот е наследна и потомството содржи трансгени кои исто така произведуваат делфинидин во листовите.

Литература

- [1] Brugliera, F., Tanaka, Y., and Mason, J. 2004. Flavonoid 3', 5' hydroxylase gene sequences and uses therefor. Patent publication number WO 2004/020637.
- [2] Gudin, S. 2000. Rose: genetics and breeding. *Plant Breeding Res.* 17: 159–190
- [3] Mikanagi, Y., Saito, N., Yokoi, M., and Tatsuzawa, E. 2000. Anthocyanins in flowers of genus *Rosa*, sections *Cinnamomeae* (=Rosa), *Chinensis*, *Gallicanae* and some modern garden roses. *Biochem. Syst. Ecol.* 28: 887–902.
- [4] Tanaka, Y. 2006. Flower color and cytochromes P450. *Phytochemistry revs.* 5: 283–291.
- [5] Tanaka, Y., and Brugliera, F. 2006. Flower color. In: *Flowering and Its Manipulation*. PP. 201-239. Ainsworth, C., Ed., Blackwell, London.
- [6] <http://www.csiro.au/files/files/p29z.pdf>
- [7] <http://www.csiro.au/files/files/p29z.pdf>
- [8] <http://www.gmo-compass.org/eng/search/>
- [9] <http://www.flowercouncil.org/us/marketinformation/FactsFigures2004/>
- [10] http://www.huffingtonpost.com/2011/09/17/blue-roses-on-sale-us_n_966481
- [11] <http://www.japantoday.com/category/business/view/suntory-to-sell-blue-roses-in-north-america>
- [12] www.ers.usda.gov.