

Pagrindinė

**Naujų genų
inžinerijos metodų
keiama ekologinė
rizika**

Bund für
Umwelt und
Naturschutz
Deutschland



Santrauka

Naujosios genų inžinerijos (pvz., CRISPR/Cas9) metodais išauginti augalai turėtų padėti spręsti įvairias žemės ūkio problemas, gauti didelį derlių sudėtingomis auginimo sąlygomis (pvz., dėl klimato kaitos), taip pat užtikrinti geresnį maistą ir ekonomikai pritaikytas žaliavas. Kadangi genetinės modifikacijos vietą galima nustatyti tiksliau nei taikant ankstesnę senąją genų inžineriją, naujųjų superaugalų naudojimas turėtų būti susijęs su mažesne rizika žmonėms ir aplinkai. Todėl, biotechnologijų pramonės atstovų teigimu, genomo redaguotiems augalams nėra būtinos konkrečios genų inžinerijos taisyklės, taikomos ES. Priešingai, Europos Teisingumo Teismas (ETT) 2018 m. liepos mėn. priėmė sprendimą, kad naujai genų inžinerijai, kaip ir ankstesnei, taip pat taikomi ES reglamentai.

Naujieji genų inžinerijos metodai, dar vadinami genomo redagavimu, iš esmės grindžiami specifinių nukleazijų, kurios tam tikrose vietose nukerpa DNR, naudojimu. Ląstelei pačiai taisant dvigubos grandinės pertrūkį, atsiranda pokyčių, dėl kurių gali būti "išstumti" (prarasta funkcija) genai arba, esant tam tikroms sąlygoms (pvz., esant homologinėms DNR sekoms), gali būti "pataisyta" DNR seka arba įterpti nauji genai. Tačiau tikslesnis genomo lokuso nukreipimas nebūtinai reiškia, kad atsiradusi genetinė modifikacija nekelia rizikos. Daug kartų aprašytas netikėtas poveikis tikslinėje modifikacijos vietoje (angl. on-target) ir kitose genomo vietose (angl. off-target). Dėl to gali susidaryti modifikuoti baltymai ir produktai, darantys įtaką augalų medžiagų apykaitai ir turintys naujų, nežinomų ir dažnai nepageidaujamų savybių.

Pasaulyje vykdoma daug naujų genų inžinerijos projektų, susijusių su įvairiomis augalų rūšimis. Be svarbiausių žemės ūkio inžinerijos augalų, tokių kaip soja, medvilnė, kukurūzai ir rapsai, taip pat kuriami kiti lauko augalai (pvz., ryžiai, kviečiai, bulvės), daržovės (ypač pomidorai) ir vis dažniau kiti augalai (pvz., kviečiai).

Daugiausia dėmesio skiriama vaismedžiams, dekoratyviniams augalams ir įvairių rūšių sumedėjusiems augalams. Pageidaujamos savybės - nuo atsparumo herbicidams, kuris iki šiol buvo labiausiai paplitęs genų inžinerijos srityje, iki derliaus didinimo, atsparumo ar tolerancijos biotiniams (patogenams) ir abiotiniams (karščiui, sausrui ir kt.) streso veiksniams, aukštesnės maisto kokybės ir pakitusios žiedų spalvos. Tačiau daugiausia dėmesio skiriama dideliuose plotuose auginamiems prekiniais augalams, pasižymintiems agronomiškai ir pramoniniu požiūriu pritaikomomis savybėmis.

Su naujaisiais GMO ir jų naujomis savybėmis susijusi ekologinė rizika yra daugialypė - bent jau panaši į ankstesnių GMO riziką. Nauja yra tai, kad vienu metu gali būti pakeistos kelios savybės (multipleksavimas), o tai gerokai apsunkina rizikos vertinimą. Neigiamas herbicidams atsparių augalų auginimo poveikis žinomas jau seniai, tačiau dažnai trūksta duomenų apie galimą stresui atsparių augalų arba augalų su naujomis sudedamosiomis dalimis poveikį aplinkai. Jei dėl naujų savybių padidėja augalų tinkamumas, padidėja nepageidaujamo plitimo tikimybė. Patirtis, įgyta su ankstesniais GMO, parodė, kad genų pernešimo neįmanoma patikimai išvengti lauke. Kuo daugiau augalų rūšių tampa prieinamos genetinei modifikacijai, įskaitant tas, kurios yra ilgaamžės, turi daug giminaičių tarp laukinių rūšių ir gali kryžmintis bei plisti dideliais atstumais, tuo didesnė netikėto ir nepageidaujamo poveikio aplinkai rizika. Todėl atsargumo principas ir toliau turi būti taikomas visa apimtimi. Tai ypač taikytina genų varomiesiems organizmams, dėl kurių ketinama išnaikinti populiacijas arba pakeisti natūralias populiacijas genetiškai modifikuotomis. Todėl jų negalima leisti išleisti į aplinką net gamtos apsaugos tikslais.

Dažnai teigiama, kad taikant naujuosius metodus gaunami identiški gamtos rezultatams rezultatai, kuriuos būtų galima pasiekti ir įprastiniu veisimu, tačiau tai kainuotų gerokai daugiau lėšų. Tačiau naujoji genų inžinerija yra genų inžinerija

ir neatitinka įprastinės selekcijos: įprastinė selekcija naudoja veislių genetinę įvairovę, kad kryžminant ir vėliau atrenkant palikuonis būtų išvestos naujos augalų veislės, pasižyminčios pageidaujamomis savybėmis, o naujosios genų inžinerijos tikslas - pakeisti atskirus genus taikant techninį procesą. Kiti skirtumai yra tai, kad CRISPR/Cas n Co gali būti naudojamas kelioms geno kopijoms vienu metu pakeisti ir gali būti nutrauktos glaudžiai besiribojančių genų giminytės grupės. Taigi, taikant naująją genų inžineriją, galima sukurti organizmus, turinčius naujus požymių derinius, kurie anksčiau buvo neįmanomi. Todėl būtų labai klaidinantis supaprastinimas teigti, kad CRISPR/Cas sukelti genomo pokyčiai ar alelių deriniai paprastai priylgsta natūraliai vykstantiems pokyčiams. Siekiant užtikrinti genomo redagavimo būdu pagamintų augalų ir produktų ženklinimą, atsekamumą ir stebėseną, turi būti sukurti ir ES valstybėms narėms bei rinkos dalyviams prieinami tinkami aptikimo metodai.

2018 m. liepos mėn. ESTT sprendimas turi būti įgyvendintas; nauji genų inžinerijos metodai ir iš jų gauti organizmai bei produktai turi būti vertinami ir ženklinami bent jau pagal tokias pačias taisykles kaip ir esama genų inžinerija. Išimtis prieštarautų atsargumo principui, kuriam įgyvendinti skirta ES direktyva. Tai ypač aktualu ekologiniu požiūriu, nes naujieji metodai leidžia gaminti genetiškai modifikuotas veisles "daug greičiau ir daug didesniu mastu nei taikant įprastinius mutagenezės metodus"¹ ir sukeltų ekosistemoms dar didesnę neapskaičiuojamą riziką.

¹ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111en.pdf>

Įvadas

Dabartiniai genetinio organizmų modifikavimo metodai grindžiami DNR sekų perkėlimu iš skirtingų organizmų. Perkeltas sekas įtraukus į recipiento genomą, gaunami genetiškai modifikuoti organizmai (GMO), kuriems suteikiamos naujos savybės. Geriausiai žinomi pasaulyje auginamų genetiškai modifikuotų augalų pavyzdžiai yra herbicidams ir vabzdžiams atsparūs sojų, kukurūzų ir medvilnės augalai. Jiems buvo perduotos bakterijų DNR sekos, kurios dažnai yra susijusios su žymėjimo genais, tarnaujančiais modifikuotoms (transformuotoms) ląstelėms atrinkti. Reguliavimo elementai, kilę iš augalų virusų ar kitų organizmų, skirti užtikrinti teisingą svetimų genų skaitymą ir stiprią naujų savybių raišką. Tokiu būdu sukurti augalai dar vadinami transgeniniais, nes į juos buvo perkelti kitos rūšies genai.

Komercinis genų inžinerijos naudojimas žemės ūkyje prasidėjo praėjusio amžiaus dešimtajame dešimtmetyje ir dabar ypač svarbus Amerikoje. Europos Sąjungoje GMO beveik neauginami, nes vienintelis GMO, kuriam išduotas leidimas auginti (vabzdžiams atsparūs kukurūzai MON810), sodinamas Ispanijoje ir Portugalijoje, tačiau daugelyje kitų ES šalių, įskaitant Vokietiją, jo auginimas uždraustas. Nuo dešimtojo dešimtmečio vidurio, kai JAV rinkoje pirmą kartą pasirodė herbicidams atspari soja ir vabzdžiams atspari medvilnė, genetiškai modifikuotų savybių spektras iš esmės nepasikeitė: ISAAA (Tarptautinė agrobiotechnologijų taikymo įsigijimo tarnyba, pramonės remiama organizacija) duomenimis, beveik 100 % genetiškai modifikuotų augalų (daugiausia sojos, kukurūzų, medvilnės ir rapsų), auginamų maždaug 190 mln. hektarų visame pasaulyje, vis dar yra atsparūs herbicidams ir (arba) vabzdžiams².

Tačiau sukūrus naujus genų inžinerijos metodus, dažnai vadinamus genomo redagavimu arba "tiksline" mutageneze, daugelis verslo, politikos ir mokslo veikėjų puoselėja viltį, kad naujoji genų inžinerija padės pasiekti seniai žadėtų naujų, pritaikytų augalų (ir gyvūnų) savybių. Ir tiksliau bei saugiau nei taikant senąją genų inžineriją, todėl daugelio galiojančių teisinių reglamentų genų inžinerijos srityje nebereikia. Siekiant kovoti su klimato kaita, gauti didesnę derlių, išauginti ligoms atsparius augalus ir geresnį maistą, reikia masiškai skatinti naująją genų inžineriją ir kartu didinti visuomenės pritarimą genų inžinerijai.

Genų inžinerijos naudojimas gamtosaugoje siekiant tam tikrų gamtosauogos tikslų, pavyzdžiui, kovoti su invazinėmis rūšimis, keičiant ištaisus laukines populiacijas, yra visiškai nauja idėja. Be toli siekiančių iššūkių rizikos aplinkai vertinimo srityje, tai paliestų ir tokius konceptualius klausimus kaip gamtos ir technologijų santykis (Schell et al. 2019). Tokio pobūdžio metodai (dar vadinami genų varomaisiais mechanizmais) ir jų keliami ekologinė rizika šiame tekste gali būti nagrinėjami tik ribotai; šia tema paskelbta išsamių apžvalgų (CSS - ENSSER - VDW 2019).

Pagal 2018 m. liepos 25 d. ESTT sprendimą organizmai, kurie buvo modifikuoti taikant naujus mutagenezės metodus, taip pat yra genetiškai modifikuoti organizmai (GMO), todėl jiems taikoma ES genų inžinerijos teisė (Direktyva 2001/18/EB ir Reglamentas (EB) 2003/1829 dėl genetiškai modifikuoto maisto ir pašarų bei Reglamentas (EB) 2003/1830 dėl GMO ir iš jų pagamintų maisto produktų ir pašarų atsekamumo ir ženklinimo).³ Šį sprendimą palankiai įvertino aplinkosaugos ir vartotojų organizacijos bei pilietinė visuomenė, tačiau jį kritikavo naujųjų GMO šalininkai.

² <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/default.asp>

³ <https://curia.europa.eu/jcms/jkelti/docs/application/pdf/2018-07/cp180111en.pdf>

technologija buvo smarkiai kritikuojama versle, politikoje, moksle ir žiniasklaidoje.

2021 m. balandžio 29 d. ES Komisija paskelbė valstybių narių užsakymu parengtą ataskaitą dėl naujų genominių metodų statuso pagal ES teisę.⁴ Komisija daro išvadą, kad naujoji genų inžinerija gali prisidėti prie tvaresnių maisto sistemų ir būti naudinga daugeliui visuomenės sričių, o susirūpinimą keliantys naujosios genų inžinerijos produktai buvo išnagrinėti. Yra aiškių požymių, kad dabartiniai GMO teisės aktai netinka kai kuriems naujiems genų inžinerijos metodams ir juos reikia pritaikyti prie mokslo ir technikos pažangos. Pavyzdžiui, trūksta mechanizmų, kurie skatintų kurti produktus, atitinkančius Europos žaliojo susitarimo ir ES strategijos "nuo ūkio iki stalo" bei biologinės įvairovės strategijos tvarumo tikslus. Pirmasis viešųjų konsultacijų etapas vyko 2021 m. rudenį, kuriame dalyvavo daugiau nei Pirmosiose konsultacijose dalyvavo 70 000 piliečių ir organizacijų, o 2022 m. vasarą buvo surengtos antrosios konsultacijos.⁵ Komisija paskelbė, kad pasiūlymą dėl reglamento pateiks 2023 m. antrąjį ketvirtį. Taigi diskusijos dėl būsimo naujos genų inžinerijos reguliavimo ES prasidėjo.

⁴ https://ec.europa.eu/food/plants/genetiskai-modifikuoti-organizmai/naujos-technologijos-biotechnologijos/ec-study-new-genomic-techniques_en

⁵ https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/13119-Legislation-for-plants-produced-by-certain-new-genomic-techniques_en

Kas yra naujoji genų inžinerija?

Naujoji genų inžinerija žada, kad genetinę seką galima tiksliai perrašyti - "redaguoti" - kaip tekstą, todėl ji dažnai vadinama genomo redagavimu. Vartotojai teigia, kad, kadangi yra žinoma pakeitimo vieta, genomo redagavimas siejamas su didesniu tikslumu ir todėl mažesniu pavojumi nei ankstesnis atsitiktinis svetimoms DNR įterpimas.

Nauji genų inžinerijos metodai pirmiausia apima endonukleazių (DNR skaidančių fermentų), kurios nukerpa DNR tam tikrose atpažinimo sekose (į vietą nukreiptos nukleazės), naudojimą (Hilscher et al. 2016). Visų šių metodų būtina sąlyga yra ta, kad būtų žinomos atitinkamos DNR sekos. Atsiradusius dvigubos grandinės DNR lūžius "gydo" pačios ląstelės taisymo sistemos, dėl to dažnai atsiranda klaidų (mutacijų). Vyraujantis taisymo procesas vadinamas nehomologiniu galų sujungimu (NHEJ). Šis taisymas, kurio eksperimentatoriai negali kontroliuoti, gali lemti DNR sekos pokyčius (mutacijas), pavyzdžiui, įterpiančias klaidingas bazes, įterpiančias mažesnes sekas arba net jas prarandant (indeliai: įterpimai, išbraukimai). Tai gali - kiekvienu konkrečiu atveju skirtingai - pakeisti paveiktų genų skaitymo rėmus, todėl gali būti išjungta geno funkcija (knock-out), taip pat gali pasikeisti geno produktas. Retais atvejais veikia kita taisymo sistema, kuri naudoja ląstelėje esančias DNR sekas kaip šabloną ir yra vadinama HDR (į homologiją nukreiptas taisymas). Kadangi HDR vyksta tik tam tikroje ląstelės ciklo fazėje, didžioji dalis DNR pažeidimų taisoma nehomologiniu galų sujungimu (NHEJ), kuris lemia atsitiktinius pokyčius.

Senesniais metodais TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) ir ZNF (Zinc-Finger Nuclease) naudojami baltymai, kurie atpažįsta abi

tam tikrų DNR sekų, taip pat turinčių nukleazinę funkciją (Townsend et al. 2009). Baltymai veikia kaip dimerai, t. y. turi būti du TALEN arba ZFN baltymai, kad jie prisijungtų prie DNR ir sukeltų dvigubos grandinės lūžį. MN procese (meganukleazė) naudojamos nukleazės su ilgesnėmis atpažinimo sekomis, kurios statistiškai genome turėtų būti tik vieną kartą - todėl reikiamas sekos ilgis priklauso nuo genomo dydžio, o "būti tik vieną kartą" atrodo tik teoriškai pasiekiamas. Kadangi baltymų su specifinėmis atpažinimo sekomis projektavimas ar konstravimas reikalauja specialios patirties ir atitinkamai užima daug laiko, šie metodai nėra plačiai naudojami, nors jie žinomi jau kurį laiką. Kitas metodas yra ODM (į oligonukleotidus nukreipta mutagenėzė) - šiuo atveju į ląsteles įvedami trumpi, sintetiniu būdu pagaminti vienos grandinės DNR segmentai (oligonukleotidai), kurie, išskyrus nedidelius nukrypimus, yra komplementarūs konkrečioms DNR sekoms. Taip siekiama tikslingai sukelti mutacijas, nors ląsteliniai procesai, kuriais tai pasiekama, nėra išsamiai išaiškinti. Teigiama, kad Cibus išauginti herbicidams atsparūs rapsai buvo sukurti šiuo būdu.

Tačiau jau kelerius metus moksliniuose tyrimuose ir plėtroje taikomi nauji metodai: CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas (CRISPR-associated)). Šios sistemos yra kilusios iš bakterijų, kur jos naudojamos imuninei gynybai nuo įsiveržusių virusų. Virusų genetinės medžiagos fragmentai (taisyklingo pasikartojančių ir atvirkštinių sekų modelio pavidalo) integruojami į bakterijų genetinę medžiagą ir tada paverčiami RNR fragmentais. Pasikartojančios infekcijos atveju bakterijos gali naudoti CRISPR/Cas sistemą viruso genomui atpažinti ir supjaustyti. Panašios gynybos sistemos, kurių kiekviena turi savitų struktūrinių ir fermentinių savybių, aptinkamos daugelyje bakterijų genčių (Nishimasu ir Nureki 2017). Dažniausiai naudojamos

CRISPR/Cas sistema yra CRISPR/Cas9 iš bakterijos *Streptococcus pyogenes*. "Išradėjai" Doudna ir Charpentier (2014 m.) pripažino, kad ji taip pat gali būti naudojama kaip molekulinės biologijos metodas ir taikoma įvairiems organizmams. Už tai 2020 m. abiem mokslininkams buvo paskirta Nobelio chemijos premija. Daugybė pastarųjų metų publikacijų parodė, kad sistemą galima palyginti lengvai pritaikyti naujiems taikiniams ir organizmams. Toks lankstumas lėmė precedento neturintį jos taikymo išplėtimą. ES Komisijos užsakymu atliktas tyrimas Ataskaitoje "State-of-the-Art" išvardyti augalų, gyvūnų ir mikroorganizmų modifikavimo metodai ir tikslai (Broothaerts et al. 2021).

Kaip veikia CRISPR/Cas9

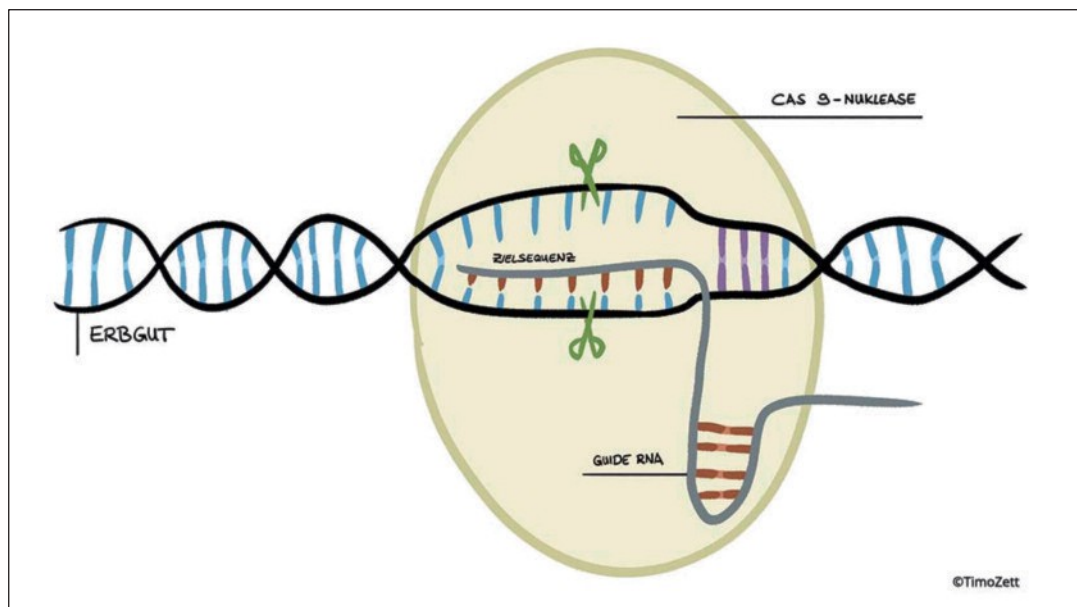
CRISPR/Cas9 sistemas sudaro RNR ir baltymų kompleksai, kuriuose yra komponentas, atpažįstantis konkrečias DNR sekas, naudojant sintetinę RNR (kreipiančiąją RNR) ir - su Cas9 fermentu - nukleazę. Cas baltymas per kreipiančiąją RNR nukreipiamas į norimą DNR seką ir nustatomas joje. Ten nukleazė nukerpa dvigubą DNR grandinę, jei genome yra tam tikra trumpa PAM seka (angl. Protospacer Adjacent Motif), esanti tiesiai šalia jos. Ši PAM seka būdinga kiekvienam Cas fermentui ir yra būtina dvigubai grandinei atverti. Jei prieš srovę esanti DNR seka sutampa su kreipiančiąja RNR, Cas9 tampa aktyvus ir nukerpa dvigubą grandinę. Tuomet aktyvios ląstelės taisymo sistemos vėl sujungia DNR. Šis atsitiktinis procesas (vadinamas į vietą nukreipta nukleazė 1, SDN 1) yra linkęs į klaidas.

Kadangi RNR, atitinkančią tikslią DNR seką, susintetinti daug lengviau nei baltymą pritaikyti prie konkrečios DNR sekos, genetinio modifikavimo metodas naudojant CRISPR/Cas greitai prigijo daugelyje laboratorijų ir buvo pritaikytas daugeliui organizmų, pavyzdžiui, mikroorganizmams, gyvūnų ir žmogaus ląstelėms, o vis dažniau ir augalams. Tai rodo sparčiai augantis mokslinių publikacijų, kuriose aprašomas CRISPR/Cas naudojimas vien augaluose, skaičius, kuris greitai daug kartų viršijo pranešimų apie senesnius metodus ZFN ir TALEN skaičių (Modrzejewski et al. 2019).

Palyginti retai kaip DNR taisymo modelis gali būti naudojamos ir DNR sekos, kurios yra homologiškos tikslinės DNR srities atžvilgiu, išskyrus pageidaujamą pokytį (HDR į homologiją nukreiptas taisymas). Jei šios sekos įvedamos į ląstelę kartu su CRISPR/Cas ir vėliau yra

Jei DNR atpažįsta kaip šabloną pačios ląstelės atstatymo sistemos, DNR atstatymas po dvigubos grandinės pertrūkio gali būti tikslingesnis. Šis atvejis vadinamas į vietą nukreipta nukleazė 2 (SDN 2). SDN 3 (angl. Site-Directed Nuclease 3) atveju, kuris taip pat grindžiamas HDR, aprašomi metodai, kai naudojant CRISPR/Cas į ląstelę įvedamas daug didesnis DNR šablonas. Tai turėtų leisti įvesti ištikus (taip pat ir svetimus) genų segmentus. Diploidiniuose organizmuose atitinkamas pakeitimas gali būti atliktas vienoje iš chromosomų (heterozigotinis) arba abiejose chromosomose (homozigotinis) (Zhu et al. 2017).

Naudojant skirtingas kreipiančiąsias RNR, galima valdyti kelias skirtingas DNR taikinių sekas ir taip vienu metu pakeisti arba išjungti kelis genus - vadinamasis multipleksavimas (Cong et al. 2013, Li et al. 2017). Naudojant dvi kreipiančiąsias RNR, taip pat turėtų būti įmanoma sukurti nustatyto dydžio delecijas tarp tikslinių sekų (Wada et al. 2020). Kitos Cas sistemos gali būti naudojamos įterpimams kurti (Pickar-Oliver ir Gersbach 2019). Augaluose, turinčiuose daugiau nei du chromosomų rinkinius, pavyzdžiui, kviečiuose ar bulvėse, vienu metu galima modifikuoti kelis genus (pavyzdžiui, gliadino genus). Sanchez-Leon ir kiti (2018) praneša, kad tokiu būdu pavyko gerokai sumažinti gliadino kiekį kviečiuose. Naudojant CRISPR/Cas9, turėtų būti įmanoma netgi tarpusavyje pakeisti ištikus chromosomų regionus: Arabidopsis thaliana aprašytos milijono bazių porų paveldimos translokacijos tarp 1 ir 2 arba 1 ir 5 chromosomų (Beying et al. 2020). Taip būtų galima nutraukti genų susiejimą (genetinį susiejimą) gretimose genomo srityse ir įgalinti "chromosomų inžineriją" (Rönsper et al. 2021). Inversijos (atvirkštine tvarka integruotos DNR sekos), neleidžiančios homologinėms chromosomoms susiporuoti ir genetiškai keistis, taip pat galėtų būti panaikintos, kaip buvo parodyta Arabidopsis thaliana pavyzdžiu (Schmidt et al. 2020).



1 paveikslas. CRISPR/Cas veikimo schema: CRISPR/Cas nukreipiama specifine vedančiąja RNR į tikslinę seką tikslinio organizmo genome ir joje sukuria dvigubos grandinės lūžį. PAM (protospacer adjacent motif) seka pavaizduota violetine spalva. Ji veikia kaip pradinė genų žirklių atpažinimo seka. Jei ankstesnė seka sutampa su vedančiąja RNR, "Cas9" tampa aktyvus ir ją nukerpa. (https://fachstelle-gentechnik-umwelt.de/wp-content/uploads/Hinter-grundpapier_CRISPRCas_Erklaerung_der_Technik.pdf)

Taip pat siekiama pakeisti atskiras bazes, vadinamąjį bazių redagavimą (BE). Šiuo atveju siekiama tikros taškinės mutacijos keičiant DNR bazes ir, pavyzdžiui, per tarpinius etapus iš G-C poros (guanino-citozino) sukurti A-T porą (adenino-timino) arba iš A-T poros sukurti G-C porą (Mishra et al. 2019). Rees ir Liu (2018) taip pat aprašo RNR bazių redagavimą.

Daugybė tolesnių CRISPR/Cas sistemos ir kitų mikroorganizmų sistemų patobulinimų turėtų supaprastinti ir palengvinti naujos genų inžinerijos taikymą augaluose arba sumažinti pjūvių skaičių nepageidaujamosiose vietose. Modifikuojant Cas baltymą arba prijungiant kitus komponentus, būtų galima sukurti DNR vienos grandinės pertrūkius arba modifikuoti RNR (RNR redagavimas). Cas baltymas, gautas iš bakterijų *Prevotella* ir *Francisella* (vadinamas Cpf arba Cas12a), turi kitokią PAM seką ir gali būti sujungtas su

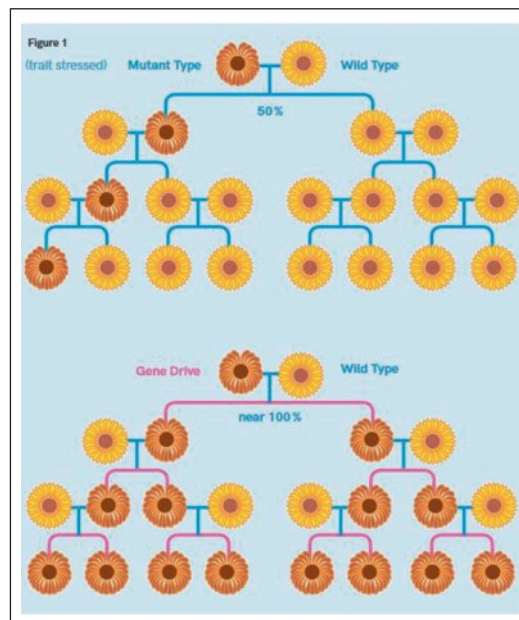
mažesnės kreipiančiosios RNR, ir ji atlieka ne lygius DNR pjūvius, o 4-5 nukleotidais pasislinkusius pjūvius, kurie turėtų būti palankūs HDR taisymui (Zetsche et al. 2015). Tačiau Murugan et al. (2020) nepatvirtino, kad Cas12a rečiau sukelia pjūvius nepageidaujamosiose vietose. Optimizuotos CRISPR/Cas9 sistemos turėtų sudaryti galimybę suformuoti daugiau Cas9 fermento ir įvesti daug skirtingų vedančiųjų RNR (Murovec et al. 2017, Wada et al. 2020). Taip pat siekiama vienu metu išjungti daugiau genų, pavyzdžiui, iki 12 genų dygliuotajame kere (Stuttman et al. 2021).

Genų pavaros

Vadinamieji genų diskai yra specialus CRISPR/Cas pritaikymas: Jų pagalba naujai įterpti transgenai, priešingai Mendelio dėsnams, turėtų plisti laukinėse populiacijose. Į chromosomą įterptos CRISPR/Cas DNR sekos (ir kiti genai, vadinamieji efektorių genai) turi užtikrinti, kad naujos sekos atsirastų ir homologinėje chromosomoje kiekvienoje kartoje. Jei abiejose poros chromosomose yra genetinis pokytis, jis gali būti perduotas visiems kryžminimo būdu gimusiems palikuonims. Priklausomai nuo efektorinių genų tipo, kraštutiniais atvejais genų varomoji technologija gali lemti populiacijų išnykimą arba natūralių populiacijų pakeitimą genetiškai modifikuotomis (CSS - ENSSER - VDW 2019). Genų varomosios sistemos propaguojamos kovai su maliarija (Gantz et al. 2015) arba siekiant išnaikinti invazines rūšis, pavyzdžiui, peles ir žiurkes salose arba pilkąsias voveres Jungtinėje Karalystėje, taip pat siekiant kovoti su augalų kenkėjais, pavyzdžiui, vyšnine acto musyte⁶, ir nepageidaujamomis piktžolėmis, pavyzdžiui, vėl padarant jautrias herbicidams atsparias laukines populiacijas (Neve 2018). Genų varomieji organizmai neabejotinai yra GMO - ir kaip tokiems jiems taikoma ES genų inžinerijos teisė.

Įterpiamos Cas nukleazės ir vedančiosios RNR, taip pat reguliavimo ir efektorinių genų sekos yra apsuptos sričių, kurios yra homologiškos adresuotai integravimo vietai (atpažinimo sekai) atitinkamame augalo ar gyvūno genome. Tai padidina tikimybę, kad kitaip retai pasitaikantis DNR bus pataisytas HDR (į homologiją nukreiptas taisymas) būdu (atitinka SDN 3 atvejį). Priklausomai nuo atitinkamos reguliavimo sistemos, integruotos CRISPR/Cas sekos aktyvuojamos ir susidaro Cas baltymas bei vedančioji RNR (Hammond et al. 2021). Atpažinimo seka homologinėje chromosomoje yra nukreipiama į atpažinimo seką ir perpaunama. Kai dvigubos grandinės pertrūkis pataisomas HDR būdu, tada CRISPR/Cas sekos

(įskaitant efektoriaus genų sekas) kaip šabloną. Tai turėtų būti kartojama kiekvienoje kartoje. Pasak Gantz et al. (2015), beveik 100 % Gene Drive *Anopheles stephensi* uodų kryžminimo su laukiniais tipais palikuonių taip pat pasižymėjo genetinėmis modifikacijomis. Šiuo atveju perduodami efektoriniai genai skirti stabdyti maliarijos sukėlėjų perdavimą. Remiantis Mendelio paveldėjimo taisyklėmis, tik apie 50 % kryžminamų palikuonių turėtų tokią modifikaciją.



2 paveikslas: Genų varomosios jėgos - palyginimas su Mendelio paveldėjimu (pagal CSS - ENSSER - VDW 2019, p. 23): Mutacija, kuri nesukelia tinkamumo pranašumo, greitai išnyks iš populiacijos pagal Mendelio taisyklę (paveldimumo rodiklis 50 %). Kita vertus, sintetinė genų varomoji sistema, kurios paveldimumo rodiklis yra beveik 100 %, užtikrina požymio plitimą, net jei su juo nėra susijusių aiškių fitneso trūkumų. Šiuo metu genų varomosios jėgos metodai daugiausia taikomi gyvūnams, ypač vabzdžiams.

⁶ <https://www.technologyreview.com/2017/12/12/147135/farmers-seek-to-deploy-powerful-gene-drive/>

Augalų rūšys modifikuotos naudojant naują genų inžineriją

Nuo pirmųjų pranešimų apie augalų genetinį modifikavimą naudojant CRISPR/Cas9 sistemą (Shan et al. 2013, Li et al. 2013, Nekrasov et al. 2013) vien iki 2018 m. paskelbta daugiau nei tūkstantis mokslinių tyrimų apie augalų genomo redagavimą (Liu et al. 2017, Modrzejewski et al. 2019). Iš pradžių daugiausia dėmesio buvo skiriama modeliniam augalui *Arabidopsis thaliana*, tačiau dabar genomo redagavimo objektai yra beveik visi svarbūs kultūriniai augalai.

Daugiausia tyrimų atlikta su ryžiais, po jų sekė *Arabidopsis thaliana*, kiek toliau - tabakas, pomidorai, kukurūzai, kviečiai ir soja. Taip pat buvo analizuojamos morkos, rapsai, miežiai, dobilai, medvilnė ir vaisių rūšys (obuoliai, citrusiniai vaisiai, vynas, bananai, kiviai, braškės ir melionai). Izoliuotuose darbuose buvo minimi kupranugariai, liucernos, agurkai, žemės riešutai, grybai, kopūstai, šalavijai, aguonos, salotos, linai, manijokai, cukranendrės, kakava, garstyčios ir morkos; taip pat buvo minimi laukiniai augalai, pavyzdžiui, tuopos, dumbliai, samanos ir bambukai. Erpen-Dalla Corte ir kt. apžvalgoje (2019) apie CRISPR/Cas9 naudojimą vaisiniuose, daržovių ir dekoratyviniuose augaluose iš esmės minimos tos pačios augalų rūšys, papildytos gėlėmis, pavyzdžiui, chrizantemomis, rytinėmis gėlėmis, lelijomis, petunijomis, orchidėjomis ir klumpaitėmis. Tačiau išleidimai su genomu redaguotais augalais buvo gana reti, daugiausia susiję su ryžiais Kinijoje (Metje-Sprink et al. 2020).

Jei dėmesys skiriamas ne tik koncepcijos įrodymui, bet ir orientavimuisi į rinką, pagrindiniai augalai yra ryžiai, pomidorai, kukurūzai, bulvės, kviečiai, soja ir rapsai. Pomidorams tenka svarbus vaidmuo iš dalies dėl jų ekonominės svarbos ir dėl to, kad juos lengva genetiškai modifikuoti. Japonijoje pomidorai su didesniu GABA (-aminosviesto rūgšties, kuri, kaip teigiama, mažina kraujospūdį) kiekiu buvo nemokamai platinami nuo 2021 m., o vėliau ir parduodami; atsakingos institucijos 2020 m. pabaigoje buvo davusios žalią šviesą (Waltz 2021).

Ypatingas potencialas priskiriamas naujai genų inžinerijai sodininkystei skirtuose augaluose (Li et al. 2020) ir vegetatyviniu būdu dauginamose rūšyse, pavyzdžiui, bulvėse, vynuogėse, obuoliuose, bananuose, cukranendrose ir braškėse, nes būtų galima išvengti ilgų kryžminimo procesų (Nadakuduti et al. 2018). Genomo redagavimas be DNR taip pat turėtų būti įmanomas vienmečiams ir daugiamečiams augalams (Metje-Sprink et al. 2019). CRISPR/Cas jau pradėta naudoti 45 augalų gentims (24 šeimų nariams) - ir tikriausiai ateityje bus pradėta naudoti dar daugiau, pavyzdžiui, poliploidinėms rūšims, turinčioms daugiau nei du chromosomų rinkinius (Shan et al. 2020), arba medžiams (Pak n Li 2022). "Piniginiai augalai" - rapsai, soja ir kukurūzai, bulvės ir kviečiai - yra pagrindiniai augalai, su kuriais dirbama siekiant juos komercializuoti (Gelinsky 2020). Svarbiausi žaidėjai čia yra JAV bendrovės "Cibus", "Calyxt", "Corteva" ir "Simplot".

Skirtingai nuo gyvūnų, modifikuotų naudojant naują genų inžineriją (Solomon 2020), "genomo redaguoti" augalai su nedideliais pokyčiais, kurie gali atsirasti gamtoje, JAV neregamentuojami. Jie laikomi "neregamentuojamais gamtiniais", kurių nereikia išsamiau tirti (Then 2019, Kawall et al. 2020). "Neregamentuojamos" yra prekinių kultūrų ar citrusinių augalų linijos, taip pat ir "nebrandusis" grybas. 2020 m. gegužę JAV taisyklės buvo dar labiau supaprastintos: dabar kūrėjai gali patys nuspręsti dėl "reglamentuotas" ar "neregamentuotas gaminy" ir ar jie apskritai informuoja kompetentingą instituciją USDA.

Naujų genetiškai modifikuotų augalų savybės (moksliniai tyrimai, rengimas, leidimas prekiauti)

Naujos genų inžinerijos siekiamų požymių sąrašas yra didelis ir nuolat didėja (Gelinsky 2020), o su jais siejami dideli lūkesčiai (Hüdig et al. 2022). Pasak Modrzejewski et al. (2019), dauguma projektų susiję su agronominėmis savybėmis ir modifikuota maisto bei pašarų kokybe. Taip pat buvo siekiama tolerancijos kenksmingiems organizmams ir streso veiksniams, atsparumo herbicidams ir pramonėje pritaikomų savybių. Naujausią informaciją galima rasti Jungtinio tyrimų centro (JTC) ir ES-SAGE interneto svetainėse⁷.

Agronominiu požiūriu svarbios šios savybės: didesnis derlius, greitesnis augimas, ankstyvesnis žydėjimas ir nokimas, pakitusi vaisių spalva ir augimo pobūdis arba geresnis sandėliavimas. Vaismedžiai, kurie turi daugiametę jauniklių fazę, turėtų anksčiau pražysti (Erpen-Dalla Corte et al. 2019); didesnis derlius turėtų būti gaunamas dėl didesnės sėklų ar vaisių masės, didesnio sėklų kiekio ir geresnės fotosintezės bei azoto fiksacijos. Pomidorų derliaus nuėmimas turėtų būti supaprastintas, palengvinant vaisių atskyrimą nuo stiebo (Gomez Roldan et al. 2017). Žiedų atveju pagrindinis tikslas - naudojant CRISPR/Cas9 pakeisti arba padidinti žiedų spalvą, ilgaamžiškumą ir išsivystymą (Erpen-Dalla Corte et al. 2019).

Maisto ir pašarų kokybės gerinimo projektais dažnai siekiama pakeisti riebalų rūgščių apykaitą. Siekiama padidinti mononesočiųjų oleino rūgščių kiekį ir sumažinti polinesočiųjų riebalų rūgščių (linolo ir linoleno rūgšties) kiekį sumažinant arba išjungiant svarbių fermentų aktyvumą, kad pagerėtų sojos aliejaus tinkamumo vartoti trukmė ir stabilumas (Demorest et al. 2016). JAV "Calyxt" surta "High oleic low linolenic (HOLL)" soja JAV rinkai buvo pateikta kaip genetiškai nemodifikuota⁸, ji laikoma "nereguliuojamu artefaktu"⁹.

tik 10 proc. polinesočiųjų riebalų rūgščių, aliejaus kietėjimas turėtų būti nereikalingas (Demorest et al. 2016). Tačiau dėl mažesnio derliaus ūkininkai, atrodo, rodo tik vidutinį susidomėjimą.¹⁰ Modifikuota riebalų rūgščių sudėtis taip pat ieškoma kupranugariams, rapsams, žemės riešutams ir ryžiams (Modrzejewski et al. 2019).

Sojų aliejuje paprastai yra 20 % mononesočiųjų oleino rūgščių ir daugiau kaip tris kartus daugiau polinesočiųjų riebalų rūgščių (55 % linolo rūgšties ir 8 % linolo rūgšties). Kadangi dėl didelio polinesočiųjų riebalų rūgščių kiekio sumažėja stabilumas ir galiojimo laikas (ypač kepant), sojų aliejus paprastai iš dalies hidrinamas, todėl susidaro vadinamieji transriebalai. Šie savo ruožtu laikomi kenksmingais sveikatai, nes gali prisidėti prie padidėjusio cholesterolio (ypač "blogojo" MTL mažo tankio lipoproteinų) kiekio kraujyje. JAV transriebalai turi būti ženklinti nuo 2003 m., o ES pagal Reglamentą 2019/649 nuo 2019 m. gruodžio 1 d. transriebalus¹¹ leidžiama naudoti maisto produktuose. 04. 2021 sudaro ne daugiau kaip 2 gramus 100 gramų riebalų.¹² Grybai (CRISPR/Cas9)¹³ ir bulvės (TALEN)¹⁴, kurie neturėtų taip greitai paruduoti arba paruduoti, taip pat laikomi "nereguliuojamaisiais artefalais" (Then 2019). Kuriami pomidorai be sėklų (Klap et al. 2017) ir ilgaamžiai pomidorai (Yu et al. 2017) arba pomidorai su tariama nauda sveikatai, pavyzdžiui, didesniu antioksidanto likopeno kiekiu (Li et al. 2018). GABA pomidoras (Nonaka et al. 2017) jau platinamas arba pradėtas tiesti rinkai Japonijoje.¹⁵ Tikimasi, kad netolimoje ateityje laukinės pomidorų rūšys išaugins likopeno turinčias veisles su daugiau ir didesniais vaisiais (Zsögön et al. 2018). Modrzejewski et al. (2019) ir Erpen-Dalla Corte et al. (2019) nurodo tokius projektus, kaip mažesnis sunkiųjų metalų kiekis ryžiuose, mažiau toksiškų alkaloidų bulvėse ar mažiau fitatų kukurūzuose (fosforo turinti sudedamoji dalis fitatas suriša svarbius

⁷ https://datam.jrc.ec.europa.eu/datam/mashup/NEW_GENOMIC_TECHNIQUES/index.html, <https://www.eu-sage.eu/genome-search>

⁸ <https://www.the-scientist.com/naujienos-opozicija/gene-edited-soja-oilas-padede-restauratoriumi-debiutuoti-65590>

⁹ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/20-066-01-air-response-signed.pdf

¹⁰ <https://www.gmwatch.org/en/naujienos/latest-news/19784>

¹¹ <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/small-entity-compliance-guide-trans-fatty-acids-nutrition-labelling-nutrient-content-claims-and>

¹² https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/fs_labelling-nutrition_transfats_factsheet-2019.pdf

¹³ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/15-321-01_air_inquiry.pdf

¹⁴ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/16-090-01_air_inquiry_cbidel.pdf

¹⁵ <http://www.5d.biglobe.ne.jp/~cbic/english/2021/journal2101.html>, <https://sanatech-seed.com/en/210427-2/>

mineralai) ir pakitęs vyno rūgšties kiekis vynuogėse.

Kviečiuose esantis glitimo kiekis turi būti sumažintas siekiant padėti celiakija (uždegiminė žarnyno liga, susijusi su pernelyg didele imuninės sistemos reakcija į glitimą, kuria serga apie 1 % gyventojų) sergantiems žmonėms. Siekiama vienu metu pakeisti kelis kviečių genome esančius gliuteno (glitimo baltymo sudedamosios dalies) genus, naudojant daugkartinį ksenavimą. Buvo pranešta apie stiprų glitimo kiekio sumažėjimą dėl nokauto (Sanchez-Leon et al. 2018), tačiau, kadangi net ir nedidelis glitimo kiekis gali sukelti ligos simptomus, tokios kviečių linijos nebūtų saugios sergantiesiems.

Atsparumas ir (arba) tolerancija biotiniams ir abiotiniams streso veiksniams dažnai minimas kaip naujos genų inžinerijos tikslas. Daugybė projektų susiję su kviečių, ryžių, kukurūzų, bulvių, pomidorų, citrusinių vaisių, vyno, obuolių ir kakavos atsparumu grybiniams (pvz., *miltligei*) ir bakteriniams (pvz., bakterinei dėmėligei) patogenams (Wang et al. 2014a, Borrelli et al. 2018, Modrzejewski et al. 2019, Hüdig et al. 2022). Atsparumo virusams ieškoma ryžiuose, agurkuose, tabake, bulvėse, manijokuose ir miežiuose (Zhao et al. 2020).

Augalų genetinis prisitaikymas prie klimato kaitos ir su ja susijusių abiotinių streso veiksnių, tokių kaip karštis, sausra, drėgmė ar didesnis druskų kiekis dirvožemyje¹⁶, jau seniai vykdomas, tačiau iki šiol jis buvo mažai sėkmingas. CRISPR/Cas9 siekia tai pakeisti. Visų pirma siekiama pasiekti, kad prekiniai augalai, pavyzdžiui, kukurūzai, ryžiai, soja ir kviečiai, būtų tolerantiški sausras ir (arba) dideliu dirvožemio druskingumui (Shi et al. 2017, Modrzejewski et al. 2019, Hüdig et al. 2022). Tačiau, kadangi atsparumas stresui grindžiamas sudėtinga daugelio genų sąveika reaguojant į aplinkos sąlygas ir yra reguliuojamas įvairiais lygmenimis (Haak et al. 2017), mažai tikėtina, kad atskirų genų modifikavimas turės reikšmingą poveikį atsparumui stresui.

iš tikrųjų veda į sėkmę (ENSSER 2021).

Pramonės reikmėms tinkamų nekilnojamojo turto objektų bus vis daugiau. Projektai apima, pavyzdžiui, modifikuotus aliejus pramoniniam naudojimui, sumažintą lignino kiekį liucernose, tuopose ar kituose augaluose (Modrzejewski et al. 2019) arba modifikuotą krakmolą kukurūzuose, ryžiuose ir bulvėse, pavyzdžiui, Pioneer vaškinius kukurūzus, kurių sudėtyje yra tik amilopektino, kaip žaliavą maisto ir popieriaus pramonei¹⁷. Įgyvendindama bioekonomikos strategiją, Vokietijos vyriausybė 2020-2024 m. į ateities technologijas investuoja iki 3,5 mlrd. eurų¹⁸, tačiau šiuo metu neaišku, kiek tai apima naująją genų inžineriją.

Atsparumas herbicidams (kartu su atsparumu vabzdžiams) jau daugelį metų yra dominuojanti genetiškai modifikuota savybė (88 % pasaulyje auginamų GMO, kai kurie iš jų kartu su atsparumu vabzdžiams, 12 % GMO turi "tik" atsparumą vabzdžiams).¹⁹ Šios "sėkmės" neigiama pusė - labai išaugęs naudojamų herbicidų kiekis, sumažėjusi biologinė įvairovė laukuose ir už jų ribų ir daugybė herbicidams atsparių piktžolių rūšių (Schütte et al. 2017). Todėl augalai vis dažniau aprūpinami keliais HR genais, taip pat ir taikant naują genų inžineriją. Pirmame plane yra sojų, kukurūzų, medvilnės ir rapsų rūšys, taip pat linai, morkos ir manijokai - ir vėl atsparumas glifosatui ir atsparumas ALS inhibitoriams (Modrzejewski et al. 2019).

¹⁶ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/17-219-01_air_inquiry.pdf

¹⁷ https://www.aphis.usda.gov/biotechnology/downloads/reg_loi/15-352-01_air_inquiry_cbidel.pdf

¹⁸ <https://bioekonomie.de/naujienos/federaline-vyriausybe-stato-ant-bioekonomikos>

¹⁹ <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/executivesummary/default.asp>

Naujosios genų inžinerijos pavojai

Su technologijomis susijusi rizika

Teigiama, kad naujoji genų inžinerija naudoja į vietą nukreiptas nukleazes, kad būtų atliekami tiksliniai pokyčiai, t. y. būtų daromas tikslesnis poveikis ir taip išvengiama atsitiktinio ankstesnės genų inžinerijos proceso. Tačiau galimybė tiksliau kreiptis į intervencijos vietą jokių būdu nereiškia, kad toks genetinis modifikavimas yra be rizikos (Eckert et al. 2019, Agapito-Tenfen et al. 2018). Pačios ląstelės taisymo mechanizmo, kuris suaktyvėja po DNR dvigubos grandinės pertrūkio, neįmanoma kontroliuoti - be to, jis nėra iki galo suprastas.²⁰ Pataisymas yra linkęs į klaidas, gali trukti skirtingą laiką ir skiriasi nuo taisymo po natūraliai įvykusio DNR dvigubos grandinės pertrūkio (Brinkman et al. 2018). Todėl kiekvienas taisymas yra individualus įvykis - ir jo poveikio negalima numatyti. Tai reiškia, kad nukleotidų praradimas (delecija) arba įterpimas (insercija, dažnai bendrai vadinami indeliais) gali lemti skaitymo rėmo pokyčius. Dėl pakitusio struktūrinio geno skaitymo rėmo dažnai išjungiami genai (knock-out), nes per anksti nutraukiama mRNR sintezė arba nepalaikomas funkcinio baltymo susidarymas. Tačiau ne visi numanomi nokautai užkerta kelią baltymų raiškai; gali susidaryti ir sutrumpinti baltymai (Smits et al. 2019).

Taip pat galimas netikėtas reguliacinių DNR sekų modifikavimas. Dėl to atitinkami baltymai / fermentai gali susidaryti netinkamoje vietoje (audinyje) ir (arba) netinkamu laiku / vystymosi etape netinkamu mastu, o tai savo ruožtu gali turėti didelės įtakos augalų medžiagų apykaitos ir vystymosi procesams bei gaunamiems produktams. Epigenetiniai kontrolės mechanizmai (genų veiklos reguliavimas nekeičiant DNR sekos, pvz., prisijungiant ir (arba) pašalinant metilo grupes) sukelia papildomų neaiškumų. Be to, daugelis augalų savybių yra genetiškai labai sudėtingos

ir yra pagrįsti (paprastai nevisiškai suprantama) kelių ar daugelio genų ir jų produktų sąveika.

Yra panašumų su ankstesne genų inžinerija, kai DNR sekos, paprastai įterpiamos naudojant *Agrobacterium tumefaciens* arba bombarduojant dalelėmis, atsitiktinai integruojasi į genomą. Neįmanoma kontroliuoti, kiek transgeno kasetės kopijų visiškai ar iš dalies integruojama, kur jos integruojamos ir kaip keičiasi integravimo vietos. Iš daugelio transformantų tolesniam vystymui atrenkami tie, kurie yra arčiausiai transformacijos tikslo. Todėl kiekvienas GMO yra unikalus (vadinamasis įvykis), turintis savo ypatingų savybių ir nenumatytų požymių (Wilsonas 2020 m. juos vadina nenumatytais požymiais). Tai išreiškiama atitinkamais genetiškai modifikuotų augalų linijų pavadinimais, pavyzdžiui, vabzdžiams atsparūs kukurūzai MON810, glifosatui atsparūs kukurūzai NK603 ir glifosatui atspari soja MON40-3-2.

Tikslinis poveikis

Iš pradžių mažai dėmesio buvo skiriama tiksliniam poveikiui, nes dažniausiai buvo siekiama išjungti geną (knock-out). Jei atitinkamas baltymas nebebuvo gaminamas ar aptinkamas, tai buvo laikoma pakankamu sėkmingo geno redagavimo įrodymu. Svarbių išvalgų apie taisymo proceso nenuspėjamumą pirmiausia buvo gauta naudojant gyvūnų ir žmonių ląstelių kultūras, kuriose atliekami intensyvesni bandymai, nes naudojant naujus genų inžinerijos metodus medicinoje reikia ypatingo atsargumo.

Netikslus DNR dvigubos grandinės pertrūkio taisymas nehomologiniu jungimu (NHEJ), kuris vyrauja SDN 1 (į vietą nukreipta nukleazė 1), yra nuolat susijęs su (mažomis) delecijomis arba įterpimais.

²⁰ Citata: "Nors iš pažiūros CRISPR-Cas9 yra paprastas geno redagavimo įrankis, jo veikimas priklauso nuo DNR taisymo, o šis procesas yra siaubingai sudėtingas." <https://www.the-scientist.com/news-opinion/crispr-can-create-unwanted-duplications-during-knock-ins-67126>

(indeliai). Bet koks atsiradęs DNR trigubo kodo skaitymo rėmo poslinkis (angl. frame shift) gali lemti mRNR sintezės nutraukimą ir taip užkirsti kelią funkcinio baltymo susidarymui (angl. knock-out). Tačiau vietoj išstūmimo rėmų poslinkis taip pat gali lemti baltymų, dalyvaujančių pateikiant baltymus, brandinimą (apdorojimą)²¹.

iš "redaguotos" DNR suformuota mRNA skiriasi z. pvz., prarandamos baltymų formavimuisi reikalingos sekos (egzonai), todėl susidaro naujos mRNA versijos, kurios savo ruožtu lemia naujų, galbūt sutrumpintų baltymų, kurių funkcija nežinoma, formavimąsi (Kapahnke et al. 2016, Lalonde et al. 2017, Mou et al. 2017, Smits et al. 2019).

Sharpe ir Cooper (2017) teigimu, egzonų praradimas (egzonų praleidimas) yra dažna genomo redagavimo CRISPR/Cas9 metodu pasekmė. Tuladhar et al. (2019) analizuotose maždaug 50 % komerciškai įsigytų žmogaus ląstelių linijų su tam tikrų genų nokautais aptikta netikėtų mRNA apdoravimo ir baltymų sintezės pokyčių, dėl kurių, autorių nuomone, atsirado pakitusių baltymų, kurie, autorių nuomone, atsirado dėl on-target poveikio. Negalima atmesti, kad DNR taisymo metu - laikantis skaitymo rėmelio - prarandamos didesnės geno sritys, todėl gali susidaryti baltymas, tačiau galbūt su pakitusia funkcija. Apdorojus žmogaus ląsteles CRISPR/Cas9, Park et al. (2022) nustatė labai didelių netyčinių išbraukimų (kelių kilobazelių). Kadangi tokias dideles delecijas nelengva aptikti, jos ilgą laiką galėjo būti neatpažintos. Kosicki et al. (2018) pastebėjo didelius ištyrimus (iki 9,5 kilobazės) ir sudėtingus tikslinių regionų pertvarkymus po pelių embrioninių kamieninių ląstelių ir žmogaus ląstelių linijų apdoravimo CRISPR/Cas9. Jie pabrėžia, kad plataus poveikio ant taikinio genetinės pasekmės nebūtinai apsiriboja tik taikinio regionu, nes praradus alelius u. svarbūs genai gali būti tik genome. gali būti.

Jei CRISPR/Cas sistema naudojama DNR seka (donorinei DNR), kuri yra homologiška taikinio DNR sričiai, išskyrus pageidaujamą pokytį, perkelti, po dvigubos grandinės pertrūkio gali vykti vadinamasis į homologiją nukreiptas taisymas (angl. homology-directed repair, HDR). Šis atvejis, vadinamas SDN 2 (į vietą nukreipta nukleazė 2), laikomas tikslesniu rezultatu nei SDN 1 - pavyzdžiui, jis yra pageidaujamas genų terapijos projektuose. Tačiau ir šiuo atveju gali atsirasti netikėtų ir nepageidaujamų padarinių, kaip parodė išsami nokautuotų pelių analizė, kurioje dažnai buvo aptinkama kelių donoro DNR kopijų integracija - šis rezultatas, autorių nuomone, svarbus visiems organizmams, nes dubliavimasis gali sukelti pavojingas karkaso poslinkio mutacijas ir deformuotus baltymus (Skrybin et al. 2020). Vargu ar jos būtų aptiktos taikant įprastinius PGR metodus. Žmogaus kamieninių ląstelių klonų atveju atlikus tikslesnes analizes taip pat buvo gauti didelių delecijų ir įterpimų (kilobazių intervale) įrodymai - nepriklausomai nuo to, kaip buvo įvestas CRISPR/Cas ir papildoma DNR seka, naudota HDR (Weisheit et al. 2020).

Kadangi ląsteliniai DNR taisymo po dvigubos grandinės lūžio procesai eukariotuose vyksta panašiai, galima daryti prielaidą, kad čia aprašytas tikslinis poveikis būdingas ne tik gyvūnų ir žmogaus ląstelėms, bet ir augalams, kai genomas redaguojamas CRISPR/Cas ar kitomis nukleazių sistemomis, taip pat pasireiškia įvairūs poveikis tikslinėje srityje. Pavyzdžiui, Biswas et al. (2020a) nustatė nepageidaujamų on-target ir off-target pokyčių ir didelių delecijų (iki daugiau nei 500 bazių porų) keliuose genomo redaguotose ryžių linijose. Be to, vektorinių konstrukty sekos gali būti įterptos skirtingose genomo vietose, kaip pastebėta CRISPR/Cas redaguotuose rapsuose (Braatz et al. 2017). Tai reiškia, kad nors intervencijos vieta tariamai yra tiksli

²¹ Aukštesnėse ląstelėse iš DNR transkribuota mRNR prieš paverčiant informaciją baltymais yra supjaustoma ir vėl surenkama. Nekoduojančios sekos (intronai) pašalinamos, o baltymų formavimuisi reikalingos sekos (egzonai) sujungiamos. Šio proceso, dar vadinamo splaisingu, metu egzonai gali būti sujungti įvairiais būdais, todėl gali susidaryti skirtingi baltymai.

Kai sprendžiama veislės problema, dažnai galima tikėtis netikėtų ir nepastebėtų pokyčių atitinkamame (-uose) regione (-uose). Tai gali sukelti nepageidaujamą poveikį adresuojamų genų, taip pat kaimyninių genų aktyvumui, o tam įtakos gali turėti ir veislės genetinis fonas (Biswas et al. 2020a).

Netikslinis poveikis

Jau kurį laiką diskutuojama apie genomo redagavimo netikslinį poveikį, nes paaiškėjo, kad CRISPR/Cas9 sistema ne taip tiksliai, kaip manyta, išpauna tik adresuotą DNR seką, bet turi tam tikrą klaidų toleranciją²² (Hahn ir Nekrasov 2019, Li et al. 2019). Be to, ypač augalai dažnai turi genų šeimas, kurių DNR sekos yra panašios. Kadangi dabartiniais atrankinės patikros metodais negalima patikimai aptikti dvigubos grandinės nutrūkimų kitose vietose nei nagrinėjama DNR seka, tikėtina, kad jų pasitaiko dažniau, nei aprašyta literatūroje. Tang et al. (2019) kalba apie "didesnę toleranciją" netiksliniam poveikiui augaluose (palyginti su gyvūnais), nes dėl to atsirandantys neigiami požymiai būtų eliminuojami vykstant fenotipinę atranką veisimo proceso metu.

Su lūkesčiais, kad kitas Cas fermentas (Cas12a, taip pat žinomas kaip Cpf1) rečiau atliks netikslinius pjūvius, nesutiko Murugan et al. (2020), kurie taip pat nustatė, kad Cpf1 yra linkęs atlikti vienos grandinės pjūvius arba vadinamuosius "įpjovimus" netiksliniuose pjūviuose. Tokie "įpjovimai" susidarė DNR vietose, kuriose buvo iki keturių kitų bazių porų, palyginti su taikinio seka. Be to, Cpf1 buvo pastebėti palyginti dideli išbraukimai (Mansor 2017).

Net ir naudojant bazinį redagavimą, kuris pagrįstas tuo, kad "amputuota" Cas9 nukleazė su

deaminazėmis, galimas netikslinis poveikis (Tang et al. 2019, Rees ir Liu 2018). Bazių redagavimas citozinui ryžiuose, priešingai nei bazių redagavimas adeninui, sukėlė daug neaptinkamų taškinių mutacijų (C->T), kurios pirmenybę teikė aktyviai transkribuojamoms (transkribuojamoms) genų sritims (Jin et al. 2019); teiginius apie tokio netikslinio poveikio pasireiškimą būtų galima daryti tik taikant išsamius aptikimo metodus, pavyzdžiui, viso genomo sekoskaitą (WGS). Bazių redagavimas gali lemti platų citozino pakeitimą uracilu transkribuojamoje RNR, kuris žmogaus ląstelėse paveikė tiek baltymus koduojančius, tiek nekoduojančius genų regionus ir buvo pastebėtas nepriklausomai nuo tikslinių DNR pokyčių (Grünwald et al. 2019). Galima tikėtis pakitusio baltymų susidarymo.

Tiek tikslinis, tiek netikslinis poveikis gali turėti įtakos įvairių genų aktyvumui ir funkcijoms, taigi ir augalų medžiagų apykaitai, lemti naujų toksinų ar alergenų susidarymą arba pakitusią GMO sąveiką su aplinka (Eckerstorfer et al. 2019). Be to, genomo redagavimas gali atskleisti paslėptas mutacijas, kurios turi netikėtą poveikį požymiams ir yra veiksmingos tik kartu su kitomis mutacijomis, todėl rezultatai nebūtinai atitinka lūkesčius (Soyk et al. 2019).²³

CRISPR/Cas sekų perkėlimas

Bakterija *Agrobacterium tumefaciens*, kuri taip pat plačiai naudota ankstesnėje genų inžinerijoje, dažniausiai naudojama CRISPR/Cas į augalus - pasak Liu ir kt. (2017), 88 % analizuotų atvejų arba 23 iš 24 CRISPR/Cas9 projektų vaisiniuose augaluose ir 29 iš 34 - daržovių augaluose (Erpen-Dalla Corte et al. 2019). Anksčiau genetiškai modifikuota bakterija naudoja savo T-

²² Cas9 nukleazės atsparumas gedimams gali būti naudingas bakterijoms, iš kurių kilusi gynybai nuo genetiškai greitai kintančių fagų naudojama sistema, nes "gedimams atspari" Cas9 nukleazė taip pat pjauna n a u j a s fagų sekas, kurios turi tam tikrą homologiją su jau žinomomis sekomis (Li et al. 2019).

²³ <https://www.sciencedaily.com/releases/2019/05/190506124059.htm>

Plazmidės, skirtos CRISPR/Cas sistemos DNR (Cas kodavimo seka ir RNR) perkelti į augalo ląsteles. Kitas iki šiol taikytas genų inžinerijos metodas - DNR perkėlimas bombarduojant dalelėmis - taip pat naudojamas, nors ir daug rečiau. Minėtiems transformacijos metodams bendra tai, kad DNR sekų integravimas į genomą yra atsitiktinis ir dažnai vyksta keliose vietose, o iš genetiškai modifikuotų (transgeninių) augalų ląstelių paprastai pirmiausia turi būti regeneruojami sveiki augalai. Žinoma, kad svetimų DNR sekų integracija dažnai lemia netikėtus genetinių sekų ir genų aktyvumo pokyčius, o integravimo vietose vyksta dideli pertvarkymai (Wilson et al. 2006, Mertens 2008, Jupe et al. 2019, Wilson et al. 2020 apžvalgos).

Ypač transformuojant su *Agrobacterium* dažnai įvyksta papildomas nepageidaujamas perkėlimas ir skirtingo ilgio bakterijų DNR sekų integravimas skirtingose genomo vietose (Jupe et al. 2019). Jos gali išlikti genomo redaguotuose augaluose (pvz., ryžiuose, Biswas et al. 2020a) ir negali būti lengvai pašalintos kryžminant, ypač kai yra integruotos skirtingose genomo vietose (Michno et al. 2020). Jei Cas9 genas perduodamas ir lieka aktyvus, jis gali sukelti tolesnius palikuonių pokyčius.

Kadangi taip išaugintiems genetiškai modifikuotiems augalams taikomi ne tik ES, bet ir kitų šalių genų inžinerijos reglamentai, o tai gali trukdyti naudoti genomo redagavimą, siūloma tolesnio veisimo metu iš palikuonių pašalinti perduotas DNR sekas. Tačiau tai (teoriškai) greičiausiai pavyktų padaryti, jei transgeninių DNR sekų integravimo vieta būtų viena, o palikuonyse nebeliktų chromosomos, kurioje yra integravimo vieta. Todėl He ir Zhao (2019) taip pat aptaria kitus metodus, pavyzdžiui, transgenai, veikiant CRISPR/Cas, eliminuojasi patys, atlikdami savižudybės funkcijas.

Genomo redagavimo be DNR tikslas - pirmiausia užkirsti kelią transgeninių augalų kūrimui (Tsanova et al. 2020). Pavyzdžiui, protoplastai (nuogos augalų ląstelės) apdorojami PEG (polietilenglikoliu), kad jie taptų imlūs CRISPR/Cas9 kompleksams (Metje-Sprink et al. 2019, Wada et al. 2020). Taip pat aprašytas CRISPR/Cas9 komplekso be DNR įvedimas į kukurūzų ląsteles bombarduojant dalelėmis (Svitashev et al. 2016), taip pat aprašyta CRISPR/Cas9 DNR arba m-RNA, įvestų į tetra- ir heksaploidinių kviečių rūšių ląsteles bombarduojant dalelėmis, laikina (pereinamoji) raiška (Zhang et al. 2016 - kai kuriais atvejais regeneruotuose kviečių augaluose transgenų sekų nebebuvo rasta). Tačiau šie metodai neužtikrina, kad nebus įterpta svetimos DNR, kaip parodė Anderssonas ir kiti (2018): 80 % bulvių ūglių su patvirtintomis mutacijomis dvigubos grandinės lūžio vietoje buvo netyčinių intarpų, kilusių iš Cas baltymo gamybos procese ne visiškai suardytos DNR ir genominės bulvių DNR.

Papildoma tiek senosios, tiek naujosios genų inžinerijos kliūtis yra būtinas modifikuotų ląstelių regeneravimas į augalus, kuris priklauso nuo augimo hormonų (pvz., auktino ir citokinino) naudojimo, tačiau jis nėra nustatytas visoms augalų rūšims ar veislėms. Yra žinoma, kad regeneracijos procesai dažnai lemia netikėtus genų aktyvumo ir fenotipo pokyčius, kurie vadinami somaklonine variacija (Arencibia et al. 2019, Skirvin et al. 1994). Sėkmingas regeneravimas dažnai laikomas sudėtingesniu nei pati genetinė modifikacija, todėl intensyviai ieškoma alternatyvų ląstelių ar audinių kultūroms (Altpeter et al. 2016), pavyzdžiui, genetines modifikacijas atliekant tiesiogiai augalų dalijimosi audinyje (meristemoje) (Maher et al. 2020).

Genų pavaros

Genų varomosios jėgos yra susijusios su įvairiais pavojais ekosistemoms (CSS - ENSSER - VDW 2019). Tai susiję su genetinio modifikavimo ir paties CRISPR/Cas naudojimo rizika, taip pat su tiesioginiu ir netiesioginiu genų varomųjų organizmų poveikiu ekosistemoms ir jų nekontroliuojamu plitimu. Pavyzdžiui, metodai, kuriais siekiama panaikinti (kenksmingų) vabzdžių atsparumą insekticidams (Kaduskar et al. 2022), būtų tinkami siekiant vėl padidinti insekticidų vartojimą.

Nors šiuo metu nėra žinoma apie išleistus genų varomuosius organizmus, ES ir ne tik tarptautiniu lygmeniu, pvz., Biologinės įvairovės konvencijoje, vis dažniau diskutuojama apie galimą genų varomųjų organizmų naudojimą ar reguliavimą (Devos et al. 2021). IUCN (Tarptautinė gamtos apsaugos sąjunga) nuo 2016 m. taip pat diskutuoja apie galimą genų varomųjų organizmų naudojimą gamtos apsaugos tikslais, pavyzdžiui, invazinėms rūšims naikinti. Daug asociacijų ir organizacijų narių, įskaitant Bavarijos BUND Naturschutz, kritikavo 2019 m. IUCN leidinį "Genetic Frontiers for Conservation"²⁴ kaip vienpusišką ir neatitinkantį ankstesnėje IUCN rezoliucijoje įtvirtinto atsargumo požiūrio.²⁵ Dėl to parengti "Sintetinės biologijos ir biologinės įvairovės išsaugojimo principai" buvo įtraukti į 2021 m. IUCN kongreso darbotvarkę, tačiau dėl prieštaringų diskusijų sprendimas buvo atidėtas. Dabar plataus masto darbo grupė turi parengti projektą iki 2024 m. IUCN kongreso²⁶.

Nors šiuo metu rengiami pasiūlymai, kaip apriboti nepageidaujamą genų varomųjų organizmų plitimą arba su jų naudojimu susijusį neigiamą poveikį (Hammond et al. 2021, Taxiarchi et al. 2021), išleisus tokius organizmus, jų visiškai atkurti nebus įmanoma. Ypač gyvūnai (pvz., uodai

arba graužikų) negalima kontroliuoti dėl jų didelio judrumo. Net vienkartinis (atsitiktinis) išleidimas iš laboratorijos gali lemti platų genų varomojo organizmo išplitimą (Simon et al. 2018). Kaip teigia v. Gleich ir Schröder (2020), "savaiame besidauginančių dirbtinių genetinių elementų" naudojimas yra kokybiškai naujas genų inžinerijos metodų raidos lygis - ankstesnės ekosistemų ir genotipų būklės atkurti neįmanoma.

"Senosios genų inžinerijos" tikslas buvo užtikrinti, kad transgeniniai augalai liktų žemėje ir kad būtų užkirstas kelias jų kryžminimui su genetiškai nemodifikuotais augalais ir plitimui į ne žemės ūkio sritis. Kita vertus, genų varomieji organizmai turi būti paleidžiami į aplinką, siekiant, kad jų poveikis pasireikštų per ilgą laiką ir vietovėse su įvairiomis ekosistemomis - aiškiai numatomas kryžminimasis ir plitimas. Laukinės populiacijos, kurios turi būti modifikuojamos naudojant genų varomasias jėgas, yra genetiškai daug įvairesnės nei kultūriniai augalai ir sąveikauja su daugybe kitų organizmų (kurių daugelis nežinomi), o tai reiškia, kad transgenų ir genetinio fono, taip pat GMO sąveika su skirtingomis aplinkomis yra labai sudėtinga ir nuspėjama (Simon et al. 2018). Modifikuojamų ar "išnaikinamų" rūšių reikšmė jų ekosistemoms tikriausiai beveik nežinoma arba bent jau nepakankamai iširta.

Genų varomosios jėgos nebūtinai turi suteikti selekcinį pranašumą, kad neribotai paplistų atitinkamos rūšies geografiniame regione, o tai gali turėti pražūtingų pasekmių atitinkamoms rūšims, ekosistemoms ir jų mitybos grandinėms (CSS - ENSSER - VDW 2019). Genų inžinerijai būdingos rizikos vertinimo procedūros jau dabar yra nepatenkinamos esamiems GMO, o kalbant apie genų varomuosius organizmus, jos yra dar netinkamesnės. Genų išleidimas

²⁴ <https://portals.iucn.org/library/mazgas/48408>

²⁵ http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/IUCN_let_16July2019.pdf

²⁶ <https://www.iucncongress2020.org/motion/075>

varomieji organizmai negali būti pateisinami dėl šių priežasčių, o Europos Parlamentas pritaria šiai pozicijai. Savo 2021 m. birželio mėn. pranešime dėl 2030 m. ES biologinės įvairovės strategijos²⁷ parlamentarai paragino, kad "vadovaujantis atsargumo principu neturėtų būti leidžiama išleisti į aplinką jokių genetiškai modifikuotų genų varomųjų organizmų, taip pat ir gamtos apsaugos tikslais".

GMO keliami ekologinė rizika

ES direktyva dėl apgalvoto išleidimo į aplinką (2001/18/EB) reikalaujama, kad leidimų išleisti į aplinką arba pateikti į rinką GMO išdavimo procedūros metu būtų atliktas rizikos aplinkai vertinimas. Tikslas - įvertinti tiesioginį, netiesioginį, neatidėliotiną ir uždelstą GMO išleidimo į aplinką poveikį žmonių sveikatai ir aplinkai. Tiesioginis poveikis - tai pačių GMO sukeltas poveikis, netiesioginis - poveikis, kurį sukelia priežastinė įvykių grandinė (sąveika su kitais organizmais, genų perdavimas ar pasikeitęs panaudojimas). Tiesioginis ar netiesioginis poveikis gali būti pastebimas iš karto, t. y. GMO išleidimo į aplinką ir (arba) auginimo laikotarpiu, arba vėliau. Be to, turi būti analizuojamas bendras ilgalaikis poveikis, susijęs su išleidimu į aplinką ir pateikimu į rinką (pvz., florai ir faunai, dirvožemio derlingumui, organinių medžiagų dirvožemyje irimui, maisto grandinei, biologinei įvairovei, gyvūnų ir žmonių sveikatai).

Tiesioginiam GMO poveikiui priskiriamas ne tik poveikis, kurį sukelia numatytos naujos savybės, bet ir poveikis, atsirandantis dėl genų inžinerijai būdingos rizikos ir neapibrėžtumo (tikslinis ir netikslinis poveikis). Abiem atvejais GMO sąveika su aplinka (pvz., mikroorganizmais, gyvūnais, kitais augalais) gali pasikeisti nenumatytais ir (arba) nepageidaujama būdais.

Genų inžinerijos istorija pateikia įvairių pavyzdžių (Latham et al. 2006, Mertens 2008), taip pat rodo, kad laboratorijoje ar šiltnamyje gautų rezultatų negalima tiesiogiai perkelti į lauką, nes GMO dažnai skirtingai elgiasi lauke ir streso sąlygomis (Zeller et al. 2010, Trtikova et al. 2015). Netiesioginis poveikis apima auginimo sistemų pokyčius, kurie atsiranda dėl GMO auginimo. Bene geriausiai žinomas pavyzdys - herbicidams atsparūs GMO, dėl kurių plataus paplitimo auginimo ne tik smarkiai padidėja herbicidų naudojimas ir palankios sąlygos monokultūroms, bet ir sparčiau vystosi piktžolių rūšių atsparumas, o tai savo ruožtu didina herbicidų suvartojimą (Schütte et al. 2017).

Pastaraisiais metais nemažai apžvalgų skirta galimai rizikai aplinkai (biologinei įvairovei, netiksliniams organizmams, dirvožemio florai ir faunai, vandens telkiniams ir t. t.), susijusiai su žemės ūkio genų inžinerijos naudojimu (pavyzdžiui, Schütte et al. 2017, Hilbeck ir Otto 2015, Venter n Bohn 2017, Bauer-Panskus et al. 2020). Vienas iš dėmesio centrų buvo skirtas herbicidams ir vabzdžiams atsparių augalų auginimo tyrimams ir genų perdavimo klausimams, nes GMO su šiomis savybėmis ar jų deriniais vyrauja, o genų perdavimo lauke išvengti neįmanoma. Mūsų platumose daugiausia dėmesio buvo skiriama kukurūzams ir rapsams. Patirtis auginant GMO su kitomis savybėmis yra ribota. Todėl ypač sunku įvertinti ekologinę riziką, susijusią su GMO, kurie gaminami taikant naują genų inžineriją ir ateityje turėtų pasižymėti įvairiomis naujomis, mažai iširtomis savybėmis. Juo labiau kad naujoji genų inžinerija leidžia per trumpą laiką atlikti daugybę pokyčių augaluose, todėl atsiranda visiškai nauji, dar neištirti savybių deriniai. Šiuo atveju reikia atlikti geresnę rizikos aplinkai analizę (Eckerstorfer et al. 2021), kaip jau buvo reikalaujama ankstesnės genų inžinerijos atveju (Hilbeck et al. 2020).

²⁷ <https://www.stop-genedrives.eu/european-parliament-demands-ban-on-release-of-gene-drive-organisms/>

Heinemann et al. (2021) taip pat nurodo, kad nereikėtų nuvertinti naujų GMO taikymo srities. Taip yra todėl, kad tuo atveju, jei nebus reguliavimo, genomo redagavimo metodų paprastumas gali viliooti žmones gaminti daug įvairių požymių, kurie nebuvo išbandyti atitinkamose augalų rūšyse, įvairiose augalų rūšyse ir tada šiuos GMO dideliais kiekiais ir per trumpą laiką įvesti į įvairias ekosistemas. Tačiau tokio laiko ir erdvės masto pokyčių patirties nėra sukaupta įvairiausių organizmuose, kurių tarpusavio sąveika apskritai nežinoma.

"su naujais procesais galima generuoti genų tiškai modifikuotų veislių daug greičiau ir didesniu mastu nei naudojant įprastinius mutagenėzės metodus", be kita ko, taip pat pasitaravo ESTT kaip 2018 m. liepos mėn. sprendimo pagrindimas²⁸.

Kadangi atsparumas vabzdžiams, šiuo metu naudojamas perkeliant vabzdžiams toksiškų baltymų, pavyzdžiui, Bt toksino (gauto iš bakterijos *Bacillus thuringiensis*), genus, neabejotinai yra įprastinė genų inžinerija ir paskelbta daug Bt augalų ekologinio poveikio tyrimų (pavyzdžiui, Hilbeck n Otto 2015, Trtikova et al. 2015, Venter n Bohn 2016, Lövei et al. 2020), kita vertus, atsparumo vabzdžiams būdai per genomo redagavimą iki šiol buvo gana reti. Hilbeck n Otto 2015, Trtikova et al. 2015, Venter n Bohn 2016, Lövei et al. 2020), tačiau požiūriai į atsparumą vabzdžiams per genomo redagavimą iki šiol buvo gana reti, atsparumas vabzdžiams čia konkrečiai nenagrinėjamas.

Atsparumas herbicidams

Šiuo metu svarbiausios GMO savybės yra atsparumas herbicidams ir vabzdžiams. Beveik 100 proc. visame pasaulyje apie 190 mln. hektarų plote auginamų GMO turi vieną ar kelis atitinkamus atsparumo požymius.²⁹ Taip yra todėl, kad GMO vis dažniau būna atsparūs ne tik vienam herbicidiniam veikliosios medžiagos požymiui, bet ir dviem, trimis ar net keturiems skirtingiems, o atsparumo vabzdžiams genai taip pat derinami, "kraunami".

bruožai" tapo labai paplitę. Nors atsparių herbicidams (HR) augalų problema gerai žinoma ir daugelis tyrimų parodė, kad jų auginimas daro didelį neigiamą poveikį biologinei įvairovei ir masiškai didina herbicidų naudojimą (Schütte et al. 2017), HR augalai ir toliau kuriami, dabar jau naudojant ir naujas genų inžinerijos priemones (Modrzejewski et al. 2019). Kadangi juos lengviau auginti, jie gali būti netgi pageidaujamas variantas.

Į GMO rizikos vertinimą neatsižvelgiama ir (arba) į jį neatsižvelgiama, tačiau, BUND nuomone, tai yra esminė su genų inžinerija susijusios rizikos dalis - poveikis, atsirandantis dėl GMO auginimo ir savybių naudojimo. Herbicidai, ypač glifosatas, kuris naudojamas auginant daugumą HR kultūrų, yra labai prieštarai vertinami dėl ekologinių ir sveikatos priežasčių, todėl jau seniai raginama jų atsisakyti, uždrausti arba bent jau labai sumažinti jų naudojimą. Tai, kad būtina skubiai tobulinti pesticidų, taigi ir herbicidų, rizikos analizę ir ES patvirtinimo taisykles, dar kartą parodė neseniai atliktas tyrimas (Robinson et al. 2020). Herbicidai yra toksiški ne tik augalams, bet ir įvairiems organizmams. Jie kenkia mikroorganizmams ir blogina dirvožemio gyvybę (van Bruggen et al. 2021, Ruus- kanen et al. 2022), naikina piktžoles ir atima iš laukinių gyvūnų maisto šaltinį, taip prisidedami prie dramatiško rūšių nykimo. Pavyzdžiui, masinis monarchų drugelių populiacijos mažėjimas JAV siejamas su plačiai paplitusiu pašarinio augalo *Asclepias syriaca* (pienės piktžolės) išnykimu dėl ŽR auginimo milijonuose hektarų (Saunders et al. 2017). Dėl HR augalų auginimo glifosatų suvartojimas pasaulyje išaugo daug kartų (Benbrook 2016), o tai sudarė palankias sąlygas atsirasti glifosatoms atsparioms piktžolėms. Tuo tarpu pasaulyje aprašytos 55 glifosatu atsparios piktžolių rūšys, taip pat 5 ir 41 rūšis, atsparios atitinkamai glufosinatu ir sintetiniams auksinams, ir net 169 rūšys, atsparios ALS inhibitoriams (acetolaktato sintezės inhibitoriams).

²⁸ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111en.pdf>

²⁹ <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/executivesummary/default.asp>

sintazė).³⁰ Nemažai jų yra atsparūs keliems herbicidams.

Tariamai akivaizdi išvada: GMO turėtų būti atsparūs didesniai kiekiui herbicidų, kad būtų galima naudoti herbicidų kokteilius. Tačiau tai didina toksinį veikliųjų medžiagų poveikį žmonėms ir aplinkai bei spartina biologinės įvairovės nykimą. Tai rodo JAV kelių milijonų hektarų plote auginamos dikamba atsparios medvilnės ir sojos atvejai: Dikamba, labai lakus sintetinis augalinio hormono auksino (indolo-3-actono rūgšties) analogas, kenkia dviskilčiams neatspariems augalams net per didelį atstumą ir praktiškai verčia kaimynus savo žemėje taip pat auginti dikamba atsparius augalus, kad sumažintų žalą.

Didžiulė žala ne tik sojoms ir medvilnei, bet ir neatsparioms kultūroms (pomidorams, vynuogėms, vaisiams ir t. t.), su kuria sutiko dikambos gamintojai BASF ir Monsanto, buvo teisinių ginčų objektas (Gillam 2020). Tačiau šiuose ginčiuose retai diskutuojama apie žalą laukiniams augalams agroekosistemoje, taigi ir jų biologinei įvairovei (Mortensen et al. 2012). Atsižvelgiant į tai, kad dikamba atsparūs GMO auginami dideliame plote, galima daryti prielaidą, kad žalos mastas yra milžiniškas. Apie tai byloja paveiktų JAV regionų vaisių augintojų ir bitininkų skundai dėl didžiulių derliaus nuostolių ir žalos bičių šeimoms, o bitininkai netgi buvo priversti atsakyti bitininkystės³¹.

atsparumas kitiems herbicidams, pvz., glufosinatu, ALS inhibitoriams arba 2,4-D (2,4-dichlorfenoksiato rūgščiai, sintetiniam auksinui), kuris taip pat yra genomo redagavimo (kartais kartu su įprastine genų inžinerija) tikslas (Modrzejewski et al. 2019), neskatina tvaraus žemės ūkio. Be to, dėl šių ŽS sistemų didėja herbicidų suvartojimas, taigi ir jų likučiai dirvožemyje ir vandenyje, taip pat maiste ir pašaruose, kyla pavojus daugeliui organizmų, mažėja biologinė įvairovė ir didėja pavojus žmonių ir gyvūnų sveikatai.

Taip pat reikia atsižvelgti į kitus atsparumo herbicidams padarinius. Glifosato poveikis pagrįstas 5-enolpirovilšikimato-3-fosfato sintazės (EPSPS), kuri atlieka pagrindinį vaidmenį aromatinių aminorūgščių (pvz., triptofano) ir kitų svarbių augalų sudedamųjų dalių (pvz., auksino) apykaitos kelyje, slopinimu. Atsparumas glifosatui paprastai grindžiamas tuo, kad augalai gamina bakterinės EPSPS perteklių, kurio glifosatas neslopina. Tačiau atsparūs augalai ne tik išgyvena purškimą lauke, bet ir turi selektyvų pranašumą, jei juos paveikia glifosato dreifas. Pavyzdžiui, genetiškai modifikuotų glifosatui atsparių rapsų augalų rasta už laukų ribų, laukų pakraščiuose arba pakelėse (Schulze et al. 2014).

Atsparumas glifosatui gali suteikti pranašumą, net jei herbicidas visai nenaudojamas. Pavyzdžiui, transgeninių glifosatui atsparių *Arabidopsis thaliana* augalų palikuonys pasižymėjo gerokai didesniu tinkamumu net ir neturėdami glifosato: jie užaugo aukštesni, suformavo didesnius lapus, daugiau biomasės ir sėklų, kurios geriau dygdavo net esant karščio ir sausros stresui (Fang et al. 2018). Taip pat reikšmingai padidėjo triptofano ir auksino koncentracija. Žinoma, kad augalų hormonas auksinas atlieka svarbų vaidmenį augalų augimui, vystymuisi ir galbūt atsparumui stresui ir susidaro iš triptofano vos per kelis metabolinius etapus (Zhao et al. 2012). Todėl didesnis auksino kiekis, susijęs su padidėjusia EPSPS gamyba (ir didesniu triptofano kiekiu), gali turėti įtakos augalų augimui ir vystymuisi.

atatsparumas kitiems herbicidams, pvz., glufosinatu, ALS inhibitoriams arba 2,4-D (2,4-dichlorfenoksiato rūgščiai, sintetiniam auksinui), kuris taip pat yra genomo redagavimo (kartais kartu su įprastine genų inžinerija) tikslas (Modrzejewski et al. 2019), neskatina tvaraus žemės ūkio. Be to, dėl šių ŽS sistemų didėja herbicidų suvartojimas, taigi ir jų likučiai dirvožemyje ir vandenyje, taip pat maiste ir pašaruose, kyla pavojus daugeliui organizmų, mažėja biologinė įvairovė ir didėja pavojus žmonių ir gyvūnų sveikatai.

³⁰ <http://www.weedscience.org/Puslapiai/SOASummary.aspx>

³¹ <https://www.revealnews.org/straipsnis/bees-face-yet-another-lethal-threat-in-dicamba-a-drift-prone-pesticide/>

³² <https://investigatemidwest.org/2020/10/29/epa-dokumentai-parodo-kad-dikambos-daroma-zala-yra-didesne-nei-manyta-anksčiau/>

Tai galėtų bent iš dalies paaiškinti didesnę glifosatu atsparių augalų tinkamumą. Pakitęs hormonų kiekis taip pat galėtų pakeisti sąveiką su vabzdžiais, kaip rodo eksperimentai su laukine medvilne, kurioje aptiktas EPSPS transgenas (Vazquez-Barrios et al. 2021).

Tačiau jei GMO yra tinkamesni ir išaugina daugiau sėklų nei genetiškai nemodifikuoti organizmai, ypač streso sąlygomis, didėja jų plitimo ir įsitvirtinimo ekosistemose bei asertyvių kryžmintojų palikuonių atsiradimo rizika. Pavyzdžiui, prieš kelerius metus buvo pranešta, kad glifosatu atsparių ryžių ir laukinių ryžių kryžminimo transgeniniai palikuonys pasižymi didesniu tinkamumu (turi daugiau daigų ir didesnę fotosintezės greitį), o tai sudarytų palankias sąlygas nepageidaujama atsparumo glifosatu plitimui laukinėse rūšyse (Wang et al. 2014b). Netikėtas poveikis išryškėjo ir atsparumo glifosinatu atveju: naujai susiformavęs fermentas BAR (atsparumas bialafosui) augaluose, kuris acetilinta glifosinatą ir taip paverčia jį neveiksmingu herbicidu, veikia ne taip specifiskai, kaip manyta, bet taip pat acetilinta endogenines aminorūgštis, pavyzdžiui, triptofaną (Christ et al. 2017).

Atsparumas patogenams

Atsparumo patogenams tikslas dažnai pasitelkiamas skatinant naują genų inžineriją, nes taip siekiama sutaupti fungicidų ir baktericidų arba insekticidų, kai kalbama apie kovą su vabzdžiais, kurie yra patogenų pernešėjai (Modrzejewski et al. 2019, Hüdig et al. 2022). Augalų apsaugos nuo patogenų mechanizmai yra labai įvairūs ir glaudžiai susiję su aplinkos sąlygomis (Andersen et al. 2018). Tai pasakytina ir apie patogenus bei jų dauginimąsi, taip pat toksinų susidarymą. Priklausomai nuo augalo rūšies ir patogeno, temperatūra, drėgmė, CO₂ koncentracija ir kiti aplinkos parametrai veikia teigiamai, nau-

tralinį arba neigiamą poveikį ligos paplitimui (Velásquez et al. 2018). Pavyzdžiui, dėl didesnio CO₂ kiekio ore gali ne tik padidėti augalų fotosintezės našumas ir derlius, bet ir jų jautrumas grybams. Kartu gali padidėti grybų patogeniškumas, kaip parodė tyrimai su *Fusarium* grybais ir kviečių veislėmis, pritaikytomis dideliame CO₂ kiekiui, kai net atsparios veislės prarado derlių (Váry et al. 2015). Todėl sunku prognozuoti, kiek stabilus bus patogenų atsparumas klimato kaitos sąlygomis, esant aukštesnei temperatūrai ir aukštesniam CO₂ kiekiui, ir kokį poveikį jis turės.

Kadangi atsparumas patogenams dažnai nėra gerai išaiškintas ir sąveikauja su kitais genais ir (arba) metaboliniais procesais, genų inžinerijos būdu sukurtas atsparumas gali turėti šalutinį poveikį (pleiotropinis poveikis). Pavyzdžiui, grybų atsparumas gali turėti įtakos augimo ir senėjimo procesams. Pavyzdžiui, aprašytas miežių, turinčių plačiai naudojamą atsparumą miltligei (kurį sukelia mlo geno funkcijos praradimas), ankstyvas senėjimas su ankstyvu chlorofilo irimu (Kusch n Panstruga 2017). Tai rodo, kad mlo genų šeima dalyvauja daugelyje svarbių fiziologinių procesų, kurių detalės nėra žinomos, todėl geno išstūmimas gali būti susijęs su augalo tinkamumo sąnaudomis. Taip pat pastebėta, kad dėl atsparumo mlo augalai tampa jautresni kitiems žalingiems grybams (McCann et al. 2014). Kadangi augalų gynybos sistema glaudžiai susijusi su augalų mikrobiomu (Hacquard et al. 2017), genų inžinerijos būdu sukurtas atsparumas grybams taip pat gali turėti įtakos natūraliai augalų ir dirvožemio mikroflorai bei naudingiems mikoriziniams grybams. Be to, negalima atmesti patogenų ir augalų kenkėjų sąveikos; ji gali būti antagonistinė (priešiška) arba sinergetinė (stiprinanti), jei augalai užkrėsti vienu metu (Heimes et al. 2015).

Be to, dėl kintančių ir nenuspėjamų aplinkos sąlygų, kaip rodo transgeninių genetiškai modifikuotų kviečių linijų pavyzdys, GMO dažnai elgiasi kitaip lauke nei šiltnamyje. Šiltnamyje pelėsiams atspariomis pripažintų linijų derlius lauke buvo iki 56 proc. mažesnis, o jautrumas toksiškam ergotos grybui - iki 40 kartų didesnis (Zeller et al. 2010). Autoriai pabrėžė, kad, priklausomai nuo įterpimo įvykio, transgenas gali turėti didelį poveikį augalo fenotipui ir kad šis poveikis gali būti atvirkštinis lauke, nors pagrindiniai mechanizmai nežinomi.

Taip pat kyla klausimas, kiek stabilus gali būti atsparumas patogenams, kai jie plačiai naudojami. Jei dėl atsparumo mechanizmų sudėtingumo iš pradžių rinkai pateikiamas atsparumas, grindžiamas pirmiausia paprastu genetiniu pagrindu, jį greitai gali įveikti mažiau jautrūs patogenų biotipai, jei jie bus auginami dideliu mastu³³.

Kol kas virusams atsparūs GMO nėra labai svarbūs komerciniu požiūriu, nes transgeniniai virusams atsparūs augalai (pvz., papajos Havajuose ir bulvės arba moliūgai ir cukinijos JAV)³⁴. Viena iš priešasčių gali būti ta, kad plačiai naudojamą RNR interferencijos metodą (trumpų RNR sekų sąveika su homologine mRNA, dėl kurios genai inaktyvuojami arba kuri padeda kovoti su įsiveržusiais virusais) virusai gali palyginti lengvai įveikti (Burgyan ir Havelda 2011). Naujoji genų inžinerija dabar turėtų suteikti priemonių, padedančių geriau kovoti su didele augalų patogeninių virusų (kurių genomai sudaryti iš RNR arba viengrandinės ar dvigrandinės DNR) įvairove. Tačiau viruso replikacijai svarbaus šeimininko veiksnio išstūmimas taip pat gali lemti sumažėjusį augimą arba užkirsti kelią žiedadulkių formavimuisi (Zhao et al. 2020).

Kadangi virusai pasižymi dideliu mutacijų skaičiumi, taip pat galima tikėtis, kad jie taip pat sugebės išvengti mutacijų, susijusių su naujais genais.

pasipriešinimas, kuriam tarpininkauja technologijos. Pranešama, kad atsparūs virusams augalai gali prisidėti prie naujų virusų atsiradimo (Mehta et al. 2019). Transgeniniuose manijokų augaluose, kurie konstituciškai (nuolat) gamina Cas fermentą ir antivirsinę kreipiančiąją RNR (todėl po infekcijos turėtų nukirpti viruso DNR), iki 48 % redaguotų virusų genomų buvo nustatyta mutacija, dėl kurios jie tapo atsparūs CRISPR/Cas skaldymui. Jau po 8 savaičių atsirado naujų virusų tipų, kurių nebeįveikė genetiškai modifikuotas atsparumas. Todėl, kaip pabrėžia autoriai, augalams, kuriuose konstituciškai ekspresuojama prieš virusus nukreipta CRISPR-Cas sistema, turi būti keliami ypatingi saugumo reikalavimai.

Naujos / pakeistos sudedamosios dalys

Daugelyje projektų, skirtų "maisto ar pašarų kokybei gerinti", siekiama pakeisti riebalų rūgščių apykaitą, pavyzdžiui, sumažinti arba padidinti polinesočiųjų riebalų rūgščių dalį. Iš pirmo žvilgsnio tai gali atrodyti neproblemiška GMO sąveikai su aplinka, tačiau, kaip rodo tyrimai, pažvelgus iš kitos pusės, tai įgauna prasmę.

Riebalų rūgštys yra ne tik svarbios ląstelių membranų sudedamosios dalys, bet ir energijos atsargos. Jos svarbios reaguojant į biotinį ir abiotinį stresą ir veikia kaip signalinės molekulės augalams vabzdžių atakos metu. Polinesočioji linoleno rūgštis (per oktadekanoidų apykaitos kelią) yra jasmono rūgštis, hormono, kuris, be kita ko, dalyvauja reaguojant į stresą ir augalų kenkėjus, pirmtakas (Waster-nack et al. 1998, Howe and Jander 2008). Pavyzdžiui, linoleno rūgštis išsiskiria po sužalojimų ir taip skatina jazmono rūgštis susidarymą. Ši sukelia gynybines reakcijas ir atlieka svarbų vaidmenį susidarant lakiosioms medžiagoms, kurias išskiria kenkėjų grobuonys.

³³ <https://www.topagrar.com/acker/news/gentechnik-die-gruene-loesung-fuer-unsere-aecker-12629126.html>

³⁴ <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/gmtrait/default.asp?TraitID=7nGMTrait=Atsparumas%20virusu%20ligoms>

lings (Heil 2008). Jazmono rūgštis taip pat sinergiškai ir antagonistiškai sąveikauja su kitais augalų hormonais, pvz., abscizo rūgštimi, etilenu ir salicilo rūgštimi, reaguodama į aplinkos stresą (Wang et al. 2020). Todėl sumažėjęs linoleno rūgšties kiekis, kaip Monsanto ar Calyxt produktuose Vistive-Gold soja arba HOLL/Calyno soja, gali turėti įtakos ne tik apsaugai nuo vabzdžių kenkėjų, bet ir genetiškai modifikuotų augalų atsparumui stresui. Pasitelkęs kupranugarių (*Camelina sativa*) pavyzdį, Kawall (2021a) nagrinėjo įvairių poveikį, kuris gali būti susijęs su CRISPR/Cas sukeltais riebalų rūgščių apykaitos pokyčiais: gali būti paveiktas ne tik antrinių metabolitų / hormonų susidarymas, bet ir augimas, atsparumas stresui ir augalų vaidmuo mitybos tinkle.

Jei polinesočiosios riebalų rūgštys, pavyzdžiui, omega-3 riebalų rūgštys (pvz., eikozapentaeno rūgštis ir dokozaheksaeno rūgštis), kurios laikomos ypač vertingomis sveikatai ir daugiausia gaunamos iš vandens organizmų, bus auginamos pasėliuose, tai gali sukelti netikėtą poveikį sausumos ekosistemoms. Šios riebalų rūgštys, kurios susidaro vandens sistemose iš dumblių ir patenka į mitybos grandinę, atlieka svarbų fiziologinį vaidmenį stuburiniams ir ne stuburiniams gyvūnams, tačiau jų nėra pasėlių augaluose. Todėl rapsų (*Brassica napus*) arba kupranugarių (*Camelina*) genetinė modifikacija, siekiant gauti omega-3 riebalų rūgščių (Napier et al. 2015), gali pakeisti šių GMO sąveiką su agroekosistemų organizmais.

Kopūstinio baltojo drugelio (*Pieris rapae*) lervos, maitinamos vis didesniu kiekiu omega-3 riebalų rūgščių (iki lygio, atitinkančio atitinkamus GMO), užaugo suaugėliais, kurie buvo vis didesni nei kontrolinės grupės, tačiau turėjo mažesnius ir dažnai deformuotus sparnus (Hixson et al. 2016). Negalima atmesti, kad toks poveikis pasireiškia ne tik žalingiems drugiams,

bet ir kitiems vabzdžiams, galbūt net naudingiems vabzdžiams. Pasak Colombo et al. (2018), į sausumos ekosistemas patekusios naujos riebiosios rūgštys gali iš esmės pakeisti sausumos organizmų fiziologiją ir dauginimąsi - ir negrįžtamai, nes kryžmažiedžiai rapsai ir kupranugariai lengvai kryžminasi su tos pačios ar giminingų rūšių genetiškai nemodifikuotais augalais. Jau seniai žinoma, kad rapsai duoda vaisingus palikuonis su laukinėmis rūšimis, kad jų sėklos lengvai plinta ir gali dygti daugelį metų (Joergensen et al. 2009). Todėl tikėtina, kad tokios genetinės modifikacijos turėtų neigiamą ir beveik negrįžtamą poveikį daugeliui aplinkos organizmų.

Sumažinti lignino kiekį liucernose (prekinis pavadinimas "HarvXtra³⁵") arba tuopose jau buvo senosios genų inžinerijos tikslas - tai ir naujosios genų inžinerijos tikslas. Pavyzdžiui, pašariniams augalams norima suteikti aukštesnę kokybę, o tuopos turi tapti žaliava efektyvesnei celiuliozės gamybai (Jouanin et al. 2000). Tačiau ligninai taip pat atlieka svarbias funkcijas augalų apsaugai nuo kenkėjų ir patogenų bei lėtina medienos irimą (Campbell n Sederoff 1996). Todėl ligninų kiekio ir sudėties pokyčiai gali turėti įtakos augalų, ypač medžių, gebėjimui apsisaugoti nuo kenksmingų organizmų sukeliama biotinio streso ir pagreitinti skilimo greitį (Greiter et al. 2015).

Sveikatingumą gerinančios savybės

leškoma superjmonės. Ateities augalai turėtų būti atsparūs ne tik patogenams, bet ir abiotiniam stresui dėl klimato kaitos, ypač sausras ir karščiui, taip pat dideliame druskingumui, potvyniams ir šalčiui. Jie taip pat turėtų augti greičiau ir duoti didesnę derlių. Tačiau apskritai atsparumą stresui ir augimo elgseną lemia daug veiksnių.

³⁵ <https://www.foragegenetics.com/Produktai-Technologijos/HarvXtra- Alfalfa-old>

Genai ir intensyvi augalų ir aplinkos sąveika kontroliuoja procesus, kurie reguliuojami įvairiais lygmenimis (pvz., mRNA formavimasis, baltymų sintezė, baltymų fosforilinimas ir t. t.) (Haak et al. 2017) ir kurių poveikį pakeitus geną sunku nuspėti.

Ankstesniuose genų inžinerijos metuose, siekiant atsparumo stresui, daugiausia dėmesio buvo skiriama transkripcijos veiksnių, reguliuojančių atsaką į stresą, genams ir įvairiems genams, darantiems įtaką medžiagų apykaitai (Liang et al. 2014, Hüdig et al. 2022). Šie genai paprastai pasižymi plačiu poveikio spektru ir paprastai daro įtaką atsakui ne tik į konkretų abiotinį stresorių, bet ir į kitus. Jie taip pat yra susiję su kitais medžiagų apykaitos keliais ir gali lemti nepalankią fizinę būklę. Taip pat egzistuoja sąveika tarp reakcijos į abiotinį stresą ir augalo gynybos nuo patogenų (Khan 2011). Šie sudėtingi mechanizmai gali lemti tai, kad genų inžinerija iki šiol nebuvo labai sėkminga auginant stresui atsparius augalus.³⁶ Priešingai, tradicinė selekcija neabejotinai leido sėkmingai sukurti sausras ar stresui atsparius augalus, kaip parodė miežių (Wiegmann et al. 2019) arba kukurūzų ir pupelių (Gilbert 2014, 2016) pavyzdžiai.

Tačiau taip pat tiesa, kad šios savybės, jei jos būtų pasiektos atskirais atvejais, galėtų padidinti augalų tinkamumą, padaryti juos gyvybingesnius ir ištvėringesnius, duoti daugiau palikuonių ir pagreitinti jų vegetatyvinį dauginimąsi. Galbūt būtų sudarytos palankios sąlygos jų plitimui, taip pat ir ne žemės ūkio paskirties plotuose bei natūraliose ekosistemose. Tai, kiek padidėjęs tinkamumas bus pastebimas, taip pat priklauso nuo atitinkamų abiotinio streso veiksnių atrankos ir priimančių ekosistemų sąlygų.

Didesnis kultūrinių augalų atsparumas šalčiui palengvina, pavyzdžiui, augalų dalių ir sėklų peržiemojimą, dėl kurio vėlesniais metais gali padidėti jų augimas, su kuriuo savo ruožtu dažnai kovojama herbicidais. Kryžminant su giminingomis rūšimis ir laukiniais augalais, palikuonys taip pat gali pasižymėti šiais tinkamumo privalumais. Jie gali išplisti į ekosistemas, kuriose atitinkamos augalų rūšys anksčiau nebuvo paplitusios - tai gali turėti neigiamą poveikį biologinei įvairovei. Kultūrinių augalų auginimo regionai taip pat gali būti išplėsti, todėl padidėja tikimybė, kad genai bus perduoti giminingoms rūšims arba laukinėms rūšims, kurios buvo izoliuotos nuo ankstesnių auginimo regionų.

Padidėjęs polinkis į savaiminį augimą ir dygimą yra laikomi svarbiais rizikos veiksniais, susijusiais su GMO, toleruojančiais abiotinio streso veiksnius (Khan 2011). Jei streso veiksniams tolerantiški ir (arba) didesniu augimo potencialu pasižymintys GMO bus nebe vienmečiai ar dvimečiai augalai, o daugiamečiai augalai ar net medžiai, kurių gyvavimo trukmė siekia dešimtmečius ar šimtmečius, įvertinti didesnio tinkamumo poveikį būtų dar sunkiau. Taip yra todėl, kad, kaip rodo introdukuotų rūšių patirtis, gali praeiti daug metų, kol nauja rūšis ekosistemoje padarys neigiamą poveikį jos biologinei įvairovei (Kowarik 2003).

Genų perdavimas: kryžminimas ir plitimas

GMO genų pernešimas, nesvarbu, ar jis vyksta platinant dauginamąją augalinę medžiagą, pavyzdžiui, sėklas ar gumbus, ar kryžminantis su tos pačios ar giminingos rūšies augalais, vaidina svarbų vaidmenį vertinant GMO keliamą riziką. Šalių, kuriose auginami GMO, patirtis rodo, kad negalima išvengti genų, suteikiančių naujas savybes, išorinio kryžminimo (pvz., Price ir Cotter 2014, Greene et al. 2015). Nepageidaujamas kryžminimasis

³⁶ <https://ensser.org/wp-content/uploads/2021/04/Greens-EFA-GMO-Study-1.pdf>

GMO plitimas už žemės ūkio paskirties teritorijų ribų buvo aprašytas ne kartą, pavyzdžiui, herbicidams atsparūs rapsai Šveicarijoje (Schulze et al. 2014) arba kitose šalyse (Kawata et al. 2013, Schafer et al. 2011).

Priklausomai nuo tręšimo sistemos ir giminingų rūšių kaimynystės, kultūriniai augalai dažnai kryžminasi su laukiniais augalais (Ellstrand 2003). Kai kurios iš šių kryžminamų laukinių rūšių laikomos nepageidaujamomis piktžolių rūšimis, pavyzdžiui, laukiniai ryžiai (Wang et al. 2014b). Pastaraisiais metais paskelbta įvairių apžvalginių straipsnių apie genų perkėlimą, kuriuose kalbama apie įvairias augalų rūšis (Ellstrand 2003, Mallory-Smith ir Zapiola 2008) arba konkrečiai apie rapsus (Joergensen et al. 2009).

Kultūrinių augalų kilmės regionuose paprastai yra giminingų laukinių rūšių, su kuriomis atitinkamas kultūrinis augalas gali kryžmintis. Tai pasakytina, pavyzdžiui, apie Centrinėje Amerikoje auginamus kukurūzus ir teosinte veisles (*Zea mays* ssp. *mexicana* arba *Euchlaena mexicana*) kaip giminaičius, o Europoje - apie rapsus (*Brassica napus*), kurie giminingi ne tik kultūrinėms rūšims, pavyzdžiui, kopūstams (*Brassica oleracea*) ir rapsams (*Brassica rapa*), bet ir laukinėms rūšims (Jørgensen et al. 2009), pavyzdžiui, *Hederich* (*Raphanus raphanistrum*), kuri savo ruožtu kryžminasi su ridikėlių rūšimis (Snow et al. 2001). Todėl transgenai ir modifikuoti genai per tokias "tiltines" rūšis gali būti perduodami net į tolimesnes laukines rūšis. Priklausomai nuo naujų genų perduodamų požymių, laukinės rūšys tokiu būdu gali padidinti savo tinkamumą ir gaminti naujas atitinkamoms ekosistemoms medžiagas. Galima tikėtis poveikio mikrobiomui, dirvožemio gyvybei ir sąveikai su vabzdžiais bei kitais gyvūnais. Iš Meksikos pranešta, kad sukryžminus EPSPS transgeną su laukinių medžių vilna gali pasikeisti reakcija į aplinkos sąlygas dėl susijusių augalų hormonų pokyčių.

Jei ateityje CRISPR/Cas, kaip plačiai skelbiama (Shan et al. 2020), bus pradėta naudoti daugelyje kitų

augalų rūšių, išskyla daugiau klausimų dėl kryžminio apsidulkinimo ir išlikimo. Viena vertus, daugelio tikslinių rūšių (rečiau auginamų augalų, dekoratyvinių augalų, daugiamečių augalų, medžių) tręšimo sąlygos ir kryžminimosi atstumai tikriausiai nėra taip gerai iširti kaip iki šiol genetiškai modifikuotų augalų, kita vertus, galimų kryžminimosi partnerių spektras labai plečiasi. Atsižvelgiant į tai, genetiškai modifikuoti daugiamečiai augalai, ypač sumedėję ir turintys invazinių rūšių savybių, laikomi ypač problemiškais.

Sumedėję augalai beveik nėra prijaukinti, dažnai turi giminingų laukinių rūšių ir jų populiacijose vyksta ryškūs genetiniai mainai dideliais atstumais. Įvairių medžių rūšių genų kryžminimasis gerokai didesniais nei 10 km atstumais yra įrodytas. Tai pasakytina ne tik apie vėjovartas (Kremer et al. 2012), kur stebimi atstumai nuo 40 iki daugiau kaip 100 km, bet ir apie vabzdžių apdulkinamus medžius, pavyzdžiui, šermukšnijį (*Sorbus domestica*), kur žiedadulkių perdavimas nustatytas dar 12-16 km atstumu (Kamm et al. 2009). Topoliuose pastebėti pertręšimo šokiai gerokai viršijo tikėtinas vertes (Slavov et al. 2009). Be to, medžiai subrandina didelius kiekius sėklų, kurios taip pat paskleidžiamos kelių kilometrų atstumu, pirmiausia vėjo ir gyvūnų (Kremer et al. 2012).

Sumedėję augalai sąveikauja su įvairiais organizmais, pavyzdžiui, skaidytojais, patogeniniais ir simbiotiniais grybais, vabzdžiais, paukščiais, žinduoliais ir kt., ir atlieka svarbų vaidmenį biogeocheminiuose procesuose, kurių metu vyksta cheminių elementų mainai tarp organizmų ir aplinkos (uolinių, dirvožemio, oro, vandens) (Greiter et al. 2015). Be to, kadangi medžiai gyvena ilgai ir paprastai palikuonių susilaukia tik po daugelio metų, vertinant galimą genų perdavimo poveikį ekosistemoms reikia atsižvelgti ne tik į labai didelius erdvinius, bet ir laiko atstumus.

atsižvelgti. Klimato kaitos laikotarpiu sunku ar net neįmanoma numatyti, kaip keisis aplinkos sąlygos (temperatūra, sausra, krituliai, audros, patogenai ir kt.), kurios daro įtaką genų perdavimui per kryžminį apdulkinimą ir sėklų sklaidą, taip pat lemia sąveiką su aplinka.

Be dauginamosios augalinės medžiagos plitimo per vėją, vandenį ir gyvūnus, labai svarbus vaidmuo tenka ir žmonių vykdomam plitimui. Žmogaus veikla lemia daugumą tyčinių ir netyčinių svetimų invazinių rūšių introdukcijų, dažnai dideliais atstumais. Globalizacijos laikais prekyba, transportas, kelionės ir turizmas gerokai paspartino rūšių plitimą (Shine et al. 2000). Tyčia ar netyčia šie 4 "T" taip pat pagreitins GMO plitimą ar introdukciją į daugelį ekosistemų. Pavyzdžiui, Šveicarijoje transgeninių glifosatui atsparių rapsų augalų aptikta ypač palei geležinkelio linijas - nors šalyje nebuvo atliekami nei genetiškai modifikuotų rapsų auginimo, nei išleidimo į aplinką bandymai (Schulze et al. 2014, EPA-Network 2019). Yra žinoma, kad vadinamieji antriniai patekimai pervežant dirvožemį, augalines atliekas, sėklas, medelynų medžiagą ar sodinukus taip pat atlieka nemažą vaidmenį invazinėms rūšims įsitvirtinti (Kowarik 2003).

Wolfenbarger ir Phifer (2000) atkreipė dėmesį, kad net kai perduodamos nedidelės DNR sekos, dėl naujų tikėtinų (ir dažnai netikėtų) savybių fenotipas, atsiradęs dėl genetinės modifikacijos, ekologinių sąveikų tinkle gali būti naujas organizmas. Iš to jie padarė išvadą, kad transgeniniai augalai gali turėti didelį ir negrįžtamą poveikį ekosistemoms, pavyzdžiui, lengviau plisdami arba pasižymėdami tinkamumo pranašumais dėl atrankos spaudimo. Tai taikoma

Iš esmės tai taikoma ir naujai genų inžinerijai. Naujosios genų inžinerijos priemonėmis išaugintų augalų rizika gali net padidėti, nes dėl naujų galimybių vienu metu arba netrukus po to, kai atsiranda keletas pokyčių, taigi ir naujų savybių, augaluose labai padidėja jų poveikio ekosistemoms tikimybė.

Jei nauji GMO būtų kuriami net gamtosaugos tikslais ir naudojami ne žemės ūkio paskirties teritorijose, kaip kai kurie siūlė, tai sąmoningai atvertų kelią nekontroliuojamam plitimui. Tačiau dėl biologinės įvairovės sudėtingumo - nuo molekulinio iki ekosistemų lygmens - genų inžinerijos intervencijų į laukinius organizmus poveikio šiuo metu turimais metodais tinkamai įvertinti neįmanoma, kaip neseniai pareiškė Federalinė gamtos apsaugos agentūra (BfN)³⁷.

³⁷ <https://www.bfn.de/publications/position-paper/technology-nature-protection-and-biodiversity>

Naujų genų inžinerijos metodų produktų atskiriamumas nuo natūralių kryžminimo metodų

Didysis naujosios genų inžinerijos naratyvas yra tas, kad pavienius genus galima sėkmingai modifikuoti be neigiamų padarinių, todėl organizmus galima keisti pagal žmogaus sumanymus ir pritaikyti prie asmeninių norų. Tai, kas anksčiau priklausė nuo atsitiktinių genetinio modifikavimo ir prisitaikymo prie aplinkos sąlygų procesų, dabar bus pasiekta tikslingai ir atskirų genų lygmeniu taikant naujosios genų inžinerijos metodus. Ir vis dėlto naujoji genų inžinerija turėtų duoti rezultatus, kurie galėtų atsirasti ir natūraliai, pavyzdžiui, dėl savaiminių mutacijų arba dėl cheminės ar fizinės mutagenezės. Teigiama, kad nors nedidelius sekos pokyčius (pvz., taškines mutacijas) galima aptikti šiuolaikiniais metodais, šis įrodymas nieko nesako apie jų kilmę. Todėl teisinis naujos genų inžinerijos reguliavimas neturi prasmės ir stabdo pažangą.

Tačiau, kaip ir ankstesnė genų inžinerija, naujoji genų inžinerija skiriasi nuo ankstesnių veisimo metodų. Tradicinėje selekcijoje naudojama veislių (ir susijusių laukinių rūšių) genetinė įvairovė, siekiant sukurti naujas augalų veisles, pasižyminčias didesniu derliumi ir (arba) pageidaujamomis savybėmis, kryžminant ir vėliau atrenkant palikuonis. Siekiant padidinti mutacijų dažnį, praėjusio amžiaus viduryje pradėti taikyti vadinamosios indukuotos mutagenezės metodai, naudojant radiacinį apdorojimą arba chemines medžiagas (etilo metanasulfatą EMS). Nors pagal ES teisę tokie augalai laikomi genetiškai modifikuotais, jiems netaikomi konkretūs GMO reglamentai (visų pirma patvirtinimo procedūros ir ženklavimas), nes, kaip 2018 m. sprendime nurodė ESTT³⁸, „jie tradiciškai naudojami įvairiose srityse ir jau seniai laikomi saugiais“.

Atsitiktinių (natūralių ir indukuotų) mutacijų atveju suaktyvėja ląstelių taisymo procesai, kurie palaiko genetinį vientisumą ir galbūt apsaugo tam tikras geno sritis nuo pokyčių (Kawall 2019).

Atrodo, kad natūralios mutacijos kaupiasi tam tikrose genų srityse (pradžioje ir pabaigoje), o centrinės genų sritys yra apsaugotos epigenetinio žymėjimo ir tiesioginio taisymo, t. y. genų sritys, kurių mutacijos, kaip manoma, būtų žalingesnės. Monroe et al. (2022) neseniai parodė, kad *Arabidopsis thaliana* genų viduje esančios mutacijos pasitaiko perpus rečiau nei srityse tarp genų, o esminiuose genuose - dar rečiau (sumažėja dviem trečdaliais). Tačiau naujieji genų inžinerijos metodai, kurių nukleazės kreipiasi į atskiras DNR sekas, gali apeiti šiuos apsauginius mechanizmus ir taip padidinti genetinių pokyčių tikimybę. Taip atsiveria geno sritys, kurios anksčiau buvo neprieinamos modifikavimui (Kawall 2019, Kawall 2021b). Brinkmanas ir kiti (2018) parodė, kad taisymo procesai po CRISPR/Cas atliktų dvigubos grandinės pertrūkių nebūtinai atitinka tuos, kurie vyksta po natūralių dvigubos grandinės pertrūkių.

Kitas skirtumas yra tas, kad CRISPR/Cas gali būti naudojama vienu metu modifikuoti kelias geno kopijas, nepriklausomai nuo to, ar jos priklauso genų šeimoms, ar yra kitose chromosomose. CRISPR-Cas sistema gali sukelti DNR dvigubos grandinės lūžius ir visų komplementarių sekų pokyčius, nepriklausomai nuo to, kiek yra genų kopijų, todėl kiekvienu atveju gali atsirasti skirtingas tikslinis poveikis. Tokių pokyčių neįmanoma pasiekti naudojant natūralias ir indukuotas mutacijas, nes jos pagrįstos atsitiktiniais procesais. Vienu metu arba paeiliui modifikuoti skirtingus genus taikant multipleksavimą, kuris įmanomas naudojant CRISPR-Cas, taip pat neįmanoma taikant įprastus veisimo metodus.

CRISPR/Cas taip pat leidžia nutraukti genetinius ryšius. Pirma: arti vienas kito esantys genai paprastai paveldimi kartu, o toliau viena nuo kitos nutolusios genų sekos atskiriamos dėl homologinių chromosomų kryžminimo³⁹ mejozės metu.

³⁸ <https://curia.europa.eu/jcms/upload/docs/application/pdf/2018-07/cp180111en.pdf>

³⁹ Kryžminis perdavimas: abipusis Atitinkamų homologinių chromosomų atkarpų apsikeitimas lytinių ląstelių brendimo metu, dėl kurio vyksta genetinės informacijos rekombinacija. Kryžminimo atsiradimas priklauso nuo įvairių veiksnių, pavyzdžiui, atstumo, tam tikrų DNR sekų ir kitų.

galima atskirti. Jei pageidaujama požymių genai yra sujungti su mažiau pageidaujama požymių genais, tai kelia sunkumų veisimui, nes sunku atskirti tokias geno sritis. Kita vertus, CRISPR/Cas galima naudoti atskiriems genams adresuoti ir modifikuoti. Kawall (2019, 2021b) taip pat pabrėžia, kad geno redagavimas gali lemti organizmų su naujais požymių deriniais, kurie anksčiau nebuvo įmanomi, ir kad teiginys, jog CRISPR/Cas sukelti geno pokyčiai ar alelių deriniai apskritai gali būti prilyginti natūraliai vykstantiems pokyčiams, yra klaidinantis supaprastinimas.

Diskusijos dėl aptikimo metodų

GMO pašaruose ir maisto produktuose paprastai aptinkami naudojant polimerazės grandininę reakciją (PGR) ir nustatant DNR modifikaciją pagal konkretų atvejį. Pareiškėjai, norintys pateikti į rinką GMO, turi pateikti GMO aptikimo ir identifikavimo metodus bei medžiagų mėginius. Tai iš esmės taikoma ir naujiems GMO. Tačiau konkrečių GMO aptikimas yra iššūkis GMO, pagamintiems naudojant naują genų inžineriją, nes, ENGL (Europos GMO laboratorijų tinklo) duomenimis, iš karto nėra metodų, kuriais būtų galima identifikuoti konkretų jų atvejį.⁴⁰ Šiuo pateisinimu dažnai remiamasi raginant visiškai atsisakyti naujų GMO aptikimo ir jų ženklinimo, kuris, jei įmanoma, turėtų apimti ir rizikos vertinimą prieš išduodant leidimą. Tokiu atveju nebūtų atliekami saugos bandymai ir ūkininkams, perdirbėjams bei vartotojams nebūtų suteikta pasirinkimo laisvė.

Kita vertus, aptikimo metodų ekspertai parengė pasiūlymą, kaip naujus GMO aptikti taikant vadinamąjį matricinį metodą. Pavyzdžiui, Bertheau (2019) pasiūlė

siūlo, kad vertinant naujas genų inžinerijos priemones, be nustatytų pakeistų sekų nustatymo metodų (ir fenotipo stebėjimo), reikėtų atsižvelgti ir į būdingus geno aspektus ar pėdsakus. Tai galėtų būti, pavyzdžiui, PAM sekos, esančios šalia aptiktų sekos pokyčių, vienu metu pakitę aleliai arba transgeno integracijos liekanos. Jei CRISPR/Cas sistema į augalus įvedama kaip RNR ir baltymo kompleksas, siekiant išvengti nepageidaujamos transgeno integracijos, reikėtų patikrinti, ar tokiais atvejais taip pat nebuvo integruota Cas baltymo gamybos proceso DNR, kuri nebuvo visiškai suardyta (Andersson et al. 2018) ir kurių būtų galima aptikti. Labai informatyvus gali būti ir viso geno sekvenavimas. Biswas et al. (2020b) aprašo multipleksinį metodą, skirtą vienu metu aptikti tikslių sekų mutacijas (on-target ir off-target), kurias taip pat galima atskirti nuo natūralios variacijos atitinkamose geno srityse. Tačiau tokiu būdu negalima atpažinti nežinomo netikslinio poveikio ir pokyčių už tikslios sritys ribų. Metabolomikos metodai (branduolinis magnetinis rezonansas ir dujų arba skysčių masės spektrometrija) ir tolesnis jų tobulinimas taip pat rekomenduojami siekiant nustatyti genomu redaguotų augalų metabolizmo pokyčius (Fraser et al. 2020). Tačiau kol kas šie metodai yra labai brangūs ir netinka įprastinėms procedūroms.

Chhalliyill et al. (2020) sukūrė specifinį vieno iš pirmųjų augalų, sukurtų naudojant naują genų inžineriją (ODM) ir pateiktą Kanados ir JAV rinkai, - herbicidams atsparių Cibus rapsų, - aptikimo metodą; juos rėmė maisto grandinės be GMO asociacijos ir aplinkosaugos organizacijos. Federalinės vartotojų apsaugos tarnybos (BVL) teigimu, PGR testas iš esmės galėtų būti tinkamas taškinei geno mutacijai nustatyti, o metodo jautrumas atitinka ENGL reikalavimus. Tačiau metodas nėra nei pakankamai specifinis, nei pakankamai patikimas, todėl būtini tolesni tyrimai⁴¹.

⁴⁰ <https://gmo-cr1.jrc.ec.europa.eu/doc/JRC116289-GE-report-ENGL.pdf>

⁴¹ https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/Results_Report_Overview-%C3%BCfung-und-Beurteilung-Nachweismethode-fuer-herbizidtolerant-Raps.pdf?__blob=publicationFile&env=4

Jei pareiškėjai pateiktų ES paraišką dėl naujų GMO pateikimo į rinką, jie, kaip ir visi pareiškėjai dėl GMO, privalėtų pateikti konkrečiam įvykiui būdingus aptikimo metodus ir atitinkamą mėginių medžiagą. Reglamente 1830/2003/EB dėl produktų, sudarytų iš GMO arba kurių sudėtyje yra GMO, ir iš GMO pagamintų maisto produktų ir pašarų atsekamumo ir ženklavimo nurodyta, kad visi šie produktai turi būti ženklinami, tačiau nesvarbu, ar šią paraišką galima aptikti galutiniame produkte. Atsekamumo principas taikomas tikėtinam patikrinimui, t. y. kiekvienam GMO turi būti sukurtos tinkamos "atsekamumo sistemos". Šios taisyklės taip pat taikomos naujiems GMO ir iš jų pagamintiems produktams, t. y. ženklavimo prievolė nepriklauso tik nuo įrodymo.

Vis dėlto ES Komisija ir valstybės narės raginamos parengti tinkamas aptikimo procedūras. Taip pat turi būti sudarytos sąlygos, kad valstybinės ir privačios laboratorijos, atsakingos už GMO aptikimą, galėtų naudoti sertifikuotus naujos genų inžinerijos būdu sukurtų augalų aptikimo metodus. Ypač daug problemų kelia užteršimas neleistiniais GMO, pavyzdžiui, importuotose sėklose. Kadangi teisinis reglamentavimas pasaulyje labai skiriasi, o duomenų apie naujus GMO atskleidimas (šiuo metu) paprastai nėra privalomas, Ribarits et al. (2021) siūlo tarptautiniu mastu koordinuoti veiksmus ir naudoti viešai prieinamus duomenis apie mokslinių tyrimų ir plėtros projektus. Tai apima, pavyzdžiui, JT biologinės saugos protokolo⁴² platformą "Biosafety Clearing House", Euginius duomenų bazę⁴³, mokslinius straipsnius ir patentus. Be to, ES turi pasisakyti už tarptautinį, viešai prieinamą visų naujų GMO, kuriuos ketinama išbandyti išleidžiant į aplinką ir pateikti rinkai, registrą. Pasiūlymų dėl aptikimo procedūrų plėtojimo taip pat galima rasti Federalinės gamtos apsaugos agentūros tyrime (Ribarits et al. 2022).

⁴² <https://bch.cbd.int/en/registries>

⁴³ <https://euginius.eu/euginius/pages/home.jsf>

Išvada

Atsižvelgiant į numatomus genomo redagavimo pokyčius ir pastarųjų 25 metų GMO auginimo patirtį, galima išskirti įvairius pavojus:

- Rizika, kylanti dėl technologijų ir jų nepastebimųjų
- Rizika, kylanti dėl nepageidaujamų pokyčių / savybių, taip pat rizika, susijusi su
- nepageidaujamas poveikis atsiranda nepaisant pageidaujamų savybių, pavyzdžiui, keičiasi augalų sąveika su kitais organizmais ir mitybos grandinėmis. Ir galiausiai, yra
- Rizika, kylanti dėl žemės ūkio sistemų pokyčių, kaip dabar pastebima atsparumo herbicidams atveju. Be to,
- genetiškai modifikuoti organizmai, pasižymintys daugybe naujų savybių, patenka į ekosistemas tokiu mastu, kokio iki šiol erdvėje ir laike nebuvo.

Todėl jokia būdu nėra tikslinga mažinti teisinį reguliavimą. Naujajai genų inžinerijai ir iš jos gaunamiems organizmams bei produktams turi būti taikomos bent jau tokios pat taisyklės kaip ir senajai genų inžinerijai.

Reikalavimai politinių sprendimų priėmėjams

Nauji genų inžinerijos metodai turi būti ir toliau teisiškai reglamentuojami pagal Direktyvą dėl apgalvoto išleidimo į aplinką. Atsargumo principas taip pat turi būti besąlygiškai taikomas augalams, kurių genomai buvo modifikuoti naujais genų inžinerijos metodais. Turi būti išlaikytos direktyvos dėl apgalvoto išleidimo į aplinką nuostatos dėl reikalavimo gauti leidimą ir išsamaus rizikos vertinimo, GMO ir iš jų pagamintų maisto produktų bei pašarų atsekamumo ir ženklinimo, taip pat registravimo viešai prieinamame registre. Taip pat įgyvendinamas 2018 m. vasarą priimtas ESTT sprendimas.

Leidimų suteikimo tyrimų ir GMO rizikos vertinimo apskritai tobulinimas. Vietoj to, kad būtų sušvelninta genų inžinerijos reguliavimo sistema, reikia gerokai išplėsti senų ir naujų GMO rizikos vertinimą. Pastaraisiais metais tik 1,6 % ES mokslinių tyrimų išlaidų buvo skirta naujų GMO aptikimo metodams, rizikos vertinimui ir stebėsenai ^{plėtoti}⁴⁴. Naujoji genų inžinerija taip pat kelia specifinę riziką, be kita ko, leidžia atlikti platesnius ir greitesnius pokyčius nei ankstesnė genų inžinerija.

Ženklinimo ir atsekamumo užtikrinimas, aptikimo metodų kūrimas. Naujų GMO ir iš jų pagamintų maisto produktų bei pašarų aptikimo metodų kūrimas buvo nusikalstamai apleistas, nors nemažai valstybės lėšų buvo skirta naujų GMO taikymo tyrimams.⁴⁵ Federalinė vyriausybė ir ES Komisija raginamos skubiai imtis taisomųjų veiksmų šioje srityje ir užtikrinti, kad įrodymams būtų teikiama panaši svarba.

Tobulinti GMO pašarų ir maisto produktų (įskaitant gyvūninius produktus) ženklinimo taisykles, netoleruoti neleistinų GMO maiste ir sėklose. Produktai iš gyvūnų, kurie

šeriami genetiškai modifikuotais pašariniais augalais, turi būti ženklinti. Tam reikia pakeisti ES teisės aktus. Šiuo tikslu Vokietija turi aktyviai kreiptis į ES Komisiją ir ieškoti sąjungininkų tarp valstybių narių. Nulinė tolerancija neleistiniams GMO komponentams maisto produktuose ir sėklų grynumui neturi būti keičiama. GMO gamintojų pastangos įvesti neleistinų GMO ribines vertes turi būti sustabdytos.

Genų varomųjų organizmų neišleidimas. Vokietija turi tarptautiniu mastu agituoti už taisyklės, draudžiančias genų varomųjų organizmų išleidimą.

Ekologinių inovacijų skatinimas. Genų inžinerija nėra atsakas į opias žemės ūkio tvarumo problemas. Vietoj to reikia masiškai remti žemės ūkio pertvarką ir ekologines inovacijas (agroekologijos stiprinimas, pesticidų uždraudimas, ekologinio ūkininkavimo plėtra, ekologinė sėklininkystė, biologinės įvairovės apsauga ir t. t., žr.) Tai taikytina ir Vokietijos bei Europos mokslinių tyrimų ir finansavimo programoms.

44 n 45 <https://martin-haeusling.eu/press-media/press-releases/2814-new-genetic-engineering-investuoti-daugiau-tyrimus-riziku-ir-aptikimo-proceduru.html>

Literatūra

- Agapito-Tenzen, S.Z., Okoli, A.S., Bernstein, M.J., Wikmark, O.G., Myhr, A.I. (2018) Peržiūrėti genetiškai modifikuotų augalų rizikos valdymą: reikia atsivėlgti į naujus ir atsirandancius genų redagavimo metodus. *Front Plant Sci* 9:1874, doi: 10.3389/fpls.2018.01874
- Altpeter, F., Springer, N.M., Bartley, L.E., Blechl, A.E., Brutnell, T.P. et al. (2016) "Augalų transformacijos tobulinimas genomo redagavimo eroje". *Plant Cell* 28:1510-1520, doi: 10.1105/tpc.16.00196
- Andersen, E.J., Ali, S., Byamukama, E., Yen, Y., Nepal, M.P. (2018) Disease resistance mechanisms in plants. *Genes* 9:339, doi: 10.3390/genes9070339
- Andersson, M., Turesson, H., Olsson, N., Fält, A.S., Ohlsson, P., Gonzalez, M.N. ir kt. (2018) Genomo redagavimas bulvėse naudojant CRISPR-Cas9 ribonukleoproteinų pristatymą. *Physiol Plant* 164:378-384, doi: 10.1111/ppl.12731
- Arencibia, A.D., D'Afonseca, V., Charavarthi, M., Castiglione, S. (2019) Learning from transgenesis: Advanced gene editing technologies should also bridge the gap with traditional genetic selection. *J Biotechnol* 41:22-29
- Bauer-Panskus, A., Miyazaki, J., Kawall, K., Then, C. (2020) Genetiškai modifikuotų augalų, kurie gali išlikti ir daugintis aplinkoje, rizikos vertinimas. *Environ Sci Eur* 32:32, doi: 10.1186/s12302-020-00301-0
- Benbrook, C.M. (2016) Glifosato herbicidų naudojimo tendencijos Jungtinėse Valstijose ir pasaulyje. *Environ Sci Eur* 28:3, doi: 10.1186/s12302-016-0070-0
- Bertheau, Y. (2019) New breeding techniques: detection and identification of the techniques and derived products (Nauji veisimo metodai: metodų ir išvestinių produktų nustatymas ir identifikavimas). In: *Encyclopedia in food chemistry. Reference Module in Food Science*, leidėjas: Elsevier, doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21834-9
- Beying, N., Schmidt, C., Pacher, M., Houben, A., Puchta, H. (2020) CRISPR-Cas9 tarpininkaujamas paveldimų chromosomų translokacijų sukėlimas Arabidopsis. *Nature Plants* doi: 10.1038/s41477-020-0663-x
- Biswas, S., Tian, J., Li, R., Chen, X., Luo, Z., Chen, M. ir kt. (2020a) CRISPR/Cas9 indukuotų SD1 ryžių mutantų tyrimas išryškina molekulinio apibūdinimo svarbą augalų molekulinėje selekcijoje. *J Genetics Genomics*, doi: 10.1016/j.jgg.2020.04.00
- Biswas, S., Li, R., Hong, J., Zhao, X., Yuan, Z., Zhang, D., Shi, J. (2020b) Veiksmingas CRISPR/Cas9 sukeltų ir natūraliai atsiradusių mutacijų ryžiuose identifikavimas naudojant daugkartiniu nuo ligacijos priklausomo zondo amplifikavimo metodą. *Theor Appl Genetics*, doi: 10.1007/s00122-020-03600-5
- Borrelli, V.M.G., Brambilla, V., Rogowsky, P., Marocco, A., Lanubile, A. (2018) The enhancement of plant disease resistance using CRISPR/Cas9 technology. *Front Plant Sci*, doi: 10.3389/fpls.2018.01245
- Braatz, J., Harloff, H. J., Mascher, M., Stein, N., Himmelbach, A., Jung, C. (2017) CRISPR-Cas9 tikslinė mutagenėzė vienu metu modifikuoja skirtingas homoeologinių genų kopijas poliploidiniuose rapsuose (*Brassica napus*). *Plant Physiol* 174: 935-942, doi: 10.1104/pp.17.00426
- Brinkman, D.K., Chen, T., de Haas, M., Holland, H.A., Akhtar, W., van Steensel, B. (2018) Cas9 sukeltų dvigubos grandinės DNR lūžių taisymo kinetika ir tikslumas. *Mol Cell* 70:801-813, doi: 10.1016/j.molcel.2018.04.016
- Broothaerts, W., Jacchia, S., Angers, A., Petrillo, M., Querci, M. ir kt. (2021) New Genomic Techniques: State-of-the-Art Review. doi:10.2760/710056, JRC121847.
- Burgyan, J., Havelda, Z. (2011) Virusiniai RNR slopintuvai. *Trends Plant Sci* 16:265-272
- Campbell, M.M., Sederoff, R.R. (1996) Lignino kiekio ir sudėties kitimas. *Plant Physiol* 110:3-13
- Chhalliyil P., Ilves H., Kazakov S.A., Howard S.J., Johnston B.H., Fagan J. (2020) Realu laiko kiekybinės PGR metodas, skirtas pirmojo komercializuoto redaguoto genomo augalo aptikimui ir kiekybiniam įvertinimui. *Foods* 9(9):1245, doi: 10.3390/foods9091245
- Christ, B., Hochstrasser, R., Guyer, L., Francisco, R., Aubry, S., Hörtensteiner, S., Weng, J.K. (2017) Nonspecific activities of the major herbicide-resistance gene BAR. *Nat Plants* 3:937-945, doi:10.1038/s41477-017-0061-1
- Colombo, S.M., Campbell, L.G., Murphy, E.J., Martin, S.L., Arts, M.T. (2018) Naujos omega-3 ilgos grandinės riebalų rūgščių gamybos, naudojant genetiškai modifikuotus aliejinus augalus, potencialas keisti sausumos ekosistemų dinamiką. *Agri Syst* 164:31-37
- Cong, L., Ran, F.A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N. ir kt. (2013) Multiplex genomo inžinerija naudojant CRISPR/Cas sistemas. *Science* 339:819-823
- Corte, L.E.D., Mahmoud, L.M., Moraes, T.S., Mou, Z., Grosser, J.W., Dutt, M. (2019) Development of improved fruit, vegetable, and ornamental crops using the CRISPR/Cas9 genome editing technique. *Plants* 8:601; doi:10.3390/plants8120601
- CSS - ENSSER - VDW (2019) Genų pavaros. A report on their science, applications, social aspects, ethics and regulations. <https://ensser.org/publications/2019-publications/gene-drives-a-report-on-their-science-applications-social-aspects-ethics-and-regulations/>
- Demorest, Z.L., Coffman, A., Balthes, N.J., Stoddard, T.J., Clasen, B.M. ir kt. (2016) Tiesioginis sekos specifinių nukleazės sukeltų mutacijų sudėjimas, siekiant gauti daug oleino ir mažai linolo turinčio sojų pupelių aliejaus. *BMC Plant Biology* 16:225. doi: 10.1186/s12870-016-0906-1
- Devos, Y., Mumford, J.D., Bonsall, M.B., Camargo, A.M., Firbank, L.G., Glandorf, D.C.M., Nogué, F., Paraskevopoulos, K., Wimmer, E.A. (2021) Potencialus modifikuotų genų varomųjų įrenginių naudojimas prieš ligų pernešėjus, žemės ūkio kenkėjus ir invazines rūšis kelia naujus rizikos vertinimo iššūkius. *Critic Rev Biotech* doi: 10.1080/07388551.2021.1933891
- Doudna, J.A., Charpentier, E. (2014). Genomo redagavimas. Nauja genomo inžinerijos su CRISPR-Cas9 riba. *Science*, 346(6213), 1258096. doi: 10.1126/science.1258096
- Eckerstorfer, M.F., Heissenberger, A., Reichenbecher, W., Steinbrecher, R.A., Waßmann, F. (2019). ES požiūris į biologinės saugos aspektus, susijusius su augalais, sukurtais genomo redagavimo ir kitais naujais genetinio modifikavimo metodais (nGM). *Front Bioeng Biotechnol* 7:31 doi: 10.3389/fbioe.2019.00031
- Eckerstorfer, M.F., Grabowski, M., Lener, M., Engelhard, M., Simon, S., Dolezel, M., Heissenberger, A., Lüthi, C. (2021) Biosafety of genome editing applications in plant breeding: Consideration for a focused case-specific risk assessment in the EU. *biotech* 10, <https://doi.org/10.3390/biotech10030010>
- Ellstrand, N.C. (2003) Pavojingi ryšiai? Kai kultūriniai augalai poruojasi su laukiniais giminačiais. The Johns Hopkins University Press.
- ENSSER ir CSS (2021 m.) Mokslinė Leopoldinos ir EASAC pareiškimo dėl genomo redaguotų augalų ES kritika. <https://ensser.org/wp-content/uploads/2021/04/Greens-EFA-GMO-Study-1.pdf>
- EPA-Network (2019) Monitoring of Spontaneous Populations of Genetically Modified Plant Species in the Environment (Genetiškai modifikuotų augalų rūšių savaiminių populiacijų stebėsena aplinkoje). <https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/biotechnologie/fac-hinformatioenen/ig-gmo.html>
- Erpen-Dalla Corte, L., Mahmoud, L.M., Moraes, T.S., Mou, Z., Grosser, J.W., Dutt, M. (2019). Patobulintų vaisių, daržovių ir dekoratyvinių augalų kūrimas naudojant CRISPR/Cas9 genomo redagavimo metodą. *Plants* 8:601 doi: 10.3390/plants8120601
- Fang, J., Peng, N., Gu, Z., Ge, X., Feng, Y.Q., Lu, B.R. (2018). Egzogeninių 5-enolpironilšikimato-3-fosfato sintazės (EPSPS) genų perekspressija padidina transgeninių arabidopsis augalų

- Fraser, P.D., Aharoni, A., Hall, R.D., Huang, S., Giovannoni, J.J., Sonnewald, U., Fernie, A.R. (2020) Metabolomika turėtų būti naudojama nustatant ir apibūdinant genų redaguotus pasėlius. *Plant J* doi: 10.1111/tj.14679
- Gantz, V.M., Jasinskienė, N., Tatarenkova, O., Fazekas, A., Macias, V.M., Bier, E., James, A.A. (2015) Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. <https://www.pnas.org/content/112/49/E6736>
- Gelinsky, E. (2020) Nauji genų inžinerijos metodai: <File:///C:/Users/marth/Desktop/papers3/Gelinsky%20%20Commercialisation%20pipeline%20in%20the%20field%20of%20new%20genetic%20engineering.%20final%20report-seminar.pdf>
- Gilbert, N. (2014) Cross-bred crops get fit faster. *Nature* 513:292
- Gilbert, N. (2016) "Taupus ūkininkavimas - lenktynės kuriant superkultūras". *Nature* 533:308-310
- Gillam, C. (2020) Revealed: Monsanto prognozavo, kad pasėlių sistema pakenks JAV ūkiams. <https://www.theguardian.com/us-news/2020/mar/30/monsanto-crop-system-damage-us-farms-documents>.
- Gomez Roldan, M.V., Périlleux, C., Morin, H., Fernandez, S.H., David Latrasse ir kt. (2017) Natūralios ir indukuotos SIMBP21 MADS-box geno funkcijos praradimo mutacijos lėmė pomidorų bešepetėlinį-2 fenotipą. *Scient Rep* 7:4402, doi: 10.1038/s41598-017-04556-1
- Greene, S.L., Kesoju, S.R., Martin, R.C., Kramer, M. (2015). Transgeninių laukinių liucernų (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.) paplitimas JAV liucernų sėklininkystės plotuose. *Plos One* | doi: 10.1371/journal.pone.0143296
- Greiter, A., Heinze, B., Eckerstorfer, M., Reinisch, C., Mengl, M. ir kiti (2015) Transgeniniai medžiai - specialūs rizikos aplinkai vertinimo reikalavimai ir galimas poveikis Austrijos miškams jų poveikio ir funkcijų požiūriu. <https://www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/REP0506.pdf>
- Grünewald, J., Zhou, R., Garcia, S. P., Iyer, S., Lareau, C. A., Aryee, M. J., Jung, J. K. (2019) Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors. *Nature*, 569:433-437, doi: 10.1038/s41586-019-1161-z
- Haak, D.C., Fukao, T., Grene, R., Hua, Z., Ivanov, R., Perrella, G., Li, S. (2017) Multilevel Regulation of Abiotic Stress Responses in Plants. *Front Plant Sci*, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01564>
- Hacquard, S., Spaepen, S., Garrido-Oter, R., Schulze-Lefert, P. (2017) Įgimto imuniteto ir augalų mikrobiotos sąveika. *Annu Rev Phytopathol* 55:565-89
- Hahn, F., Nekrasov, V. (2019) CRISPR/Cas preciziškumas: ar reikia nerimauti dėl netikslinio nukreipimo augaluose? *Plant Cell Rep* 38:437-441
- Hammond, A., Karlsson, X., Morianou, I., Kyrrou, K., Beaghton, A., Gribble, M., Kranjc, N. ir kt. (2021) Genų išraiškos reguliavimas yra raktas į jų invazinio potencialo didinimą ir atsparumo mažinimą. *PLOS Genetics* <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009321>
- He, Y., Zhao, Y. (2019) Technologiniai laimėjimai kuriant be transgenų ir genetiškai stabilius CRISPR redaguotus augalus. *aBIOTECH* doi: 10.1007/s42994-019-00013-x
- Heil, M. (2008) Netiesioginė gynyba per tritrofinę sąveiką. *New Phytol* 178:41-61. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02330.x.
- Heimes, C., Thiele, J., van Mólken, T., Hauser, T.P. (2015) Interaktyvus žolėdžio ir patogeno poveikis dviem *Barbarea vulgaris* (Brassicaceae) atsparumo tipams. *Oecologia* 177:441-452 doi: 10.1007/s00442-014-3113-5
- Heinemann, J.A., Paull, D.J., Walker, S., Kurenbach, B. (2021) Differentiated impacts of human interventions on nature: Scaling the conversation on regulation of gene technologies. *Elem Sci Anth* 9:1, <https://doi.org/10.1525/elementa.2021.00086>
- Hilbeck, A., Otto, M. (2015) *Bacillus Thuringiensis* Cry toksinų specifiškumas ir kombininis poveikis vertinant GMO riziką aplinkai. *Front Environ Sci*, doi: [org/10.3389/fenvs.2015.00071](https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00071)
- Hilbeck, A., Meyer, H., Wynne, B., Millstone, E. (2020). GMO reglamentai ir jų aiškinimas: kaip EFSA rekomendacijos dėl GMO rizikos vertinimo pasmerkto nesėkmei. *Environ Sci Eur* 32:54, doi: 10.1186/s12302-020-00325-6
- Hilscher, J., Bürstmayr, H., Stoger, E. (2016) Targeted modification of plant genomes for precision crop breeding. *Biotechnol J* 11. Doi: 10.1002/biot.201600173
- Hixson, S.M., Shukla, K., Campbell, L.G., Hallett, R.H., Smith, S.M., Packer, L., Arts, M.T. (2016) Ilgos grandinės omega-3 polinesočiosios riebalų rūgštys daro poveikį pasėlių kenkėjų - kopūstinių baltųjų drugelių *Pieris rapae* - vystymuisi. *PLOS ONE* doi: 10.1371/journal.pone.0152264
- Howe, G. A., Jander, G. (2008) Augalų imunitetas vabzdžiams žolėdžiams. *Annu Rev Plant Biol* 59:41-66. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825.
- Hüdig, M., Laibach, N., Hein, A.C. (2022) Genomo redagavimas augalų moksliniuose tyrimuose - lūkesčių ir dabartinių pokyčių derinimas. *Augalai* 11:212 <https://doi.org/10.3390/plants11020212>
- Jin, S., Zong, Y., Gao, Q., Zhu, Z., Wang, Y., Qin, P. ir kiti (2019). Citozino, bet ne adenino bazių redaktoriai sukelia ryžių genomo netikslines mutacijas. *Science* 364:292-295, doi: 10.1126/science.aaw71166
- Joergensen, R.B., Hauser, T., D'Hertefeldt, T., Andersen, N.S., Hoofman, D. (2009) The variability of processes involved in transgene dispersal - case studies from Brassica and related genera. *Environ Sci Pollut Res* 16:389-395
- Jouanin, L., Goujon, T., de Nadal, V., Martin, M.T., Mila, I. et al. (2000) Lignification in transgenic poplars with extremely reduced caffeic acid O-methyltransferase activity. *Plant Physiol* 123:1363-1373
- Jupe, F., Rivkin, A.C., Michael, T.P., Zander, M., Motley, T., Sandoval, J.P. et al. (2019) The complex architecture and epigenomic impact of plant T-DNA insertions. *PLOS Gen* doi: 10.1371/journal.pgen.1007819
- Kaduskar, B. Kushwah, R.B.S., Auradkar, A., Guichard, A., Li, M. ir kt. (2022) Atsparumo insekticidams mažinimas naudojant *Drosophila melanogaster* alelinę varomąją jėgą. *Nature Comm* <https://www.nature.com/articles/s41467-021-27654-1>
- Kamm, U., Rotach, P., Gugerli, F., Siroky, M., Edwards, P., Holderegger, R. (2009) Dažnas reto vidutinio klimato miškų medžio (*Sorbus domestica*) genų judėjimas dideliais atstumais kraštovaizdžio mastu. *Heredity* 103:476-482
- Kapahnke, M., Banning, A., Tikkanen, R. (2016) Atsitiktinis kelių egzonų suskaidymas dėl vienos bazės pokyčio CRISPR/Cas9 tarpininkaujamo genų išstūmimo tiksliniame egzone. *Cells* 5:45 doi: 10.3390/cells5040045
- Kawall, K. (2019) Naujos galimybės horizonte: genomo redagavimas leidžia keisti visą genomą. *Front Plant Sci*. 10:525 doi: 10.3389/fpls.2019.00525
- Kawall, K., Miyazaki, J., Bauer-Panskus, A., Then, C. (2020). Genomo redagavimo programų, naudojančių SDN-1 ir SDN-2, apžvalga atsižvelgiant į ES reguliavimo klausimus. <https://www.testbiotech.org/publikationen>
- Kawall, K. (2021a) Genomo redagavimas *Camelina sativa* su unikaliu riebalų rūgščių kiekiu ir galimas poveikis ekosistemoms. *Environ Sci Eur* 33:38, <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00482-2>

- Kawall, K. (2021b) "Bendroji rizika ir SDN-1 taikymo potencialas augalams". *Augalai* 10:2259, <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/11/2259>
- Kawata, M., Murakami, K., Ishikawa, T. (2009) Genetiškai modifikuotų rapsų plitimas ir išlikimas aplink Japonijos uostus. *Environ Sci Pollut Res* 16:120-126
- Khan, M.S. (2011) Ateities iššūkiai vertinant transgeninių augalų, atsparių abiotiniam stresui, riziką aplinkai. *Biotech Mol Biol Rev* 6:199-213, <https://academicjournals.org/journal/BMBR/article-full-text-pdf/03E700211872>
- Klap, C., Yeshayahu, E., Bolger, A.M., Arazi, T., Gupta, S.K., et al. (2017) Pomidorų fakultatyvinė partenokarpija dėl SIAGAMOUS- LIKE 6 funkcijos praradimo. *Plant Biotechnol J* 15:634-647
- Kosicki, M., Tomberg, K., Bradley, A. (2018) CRISPR-Cas9 sukeltų dvigubos grandinės pertrūkių taisymas lemia dideles delecijas ir sudėtingas pertvarkas. *Nat Biotech* 36:765-771, doi: 10.1038/nbt.4192
- Kowarik, I. (2003). Biologinės invazijos: Neofitai ir neozoonai Vidurio Europoje. Ulmer, Štutgartas
- Kremer, A., Ronce, O., Robledo-Amuncio, J.J., Guillaume, F., Bohrer, G., Nathan, R., Bridle, J.R. et al. (2012) Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecology Letters* 15:378-392
- Kurenbach, B., Marjoshi, D., Amabile-Cuevas, C.F., Ferguson, G.C., Godsoe, W., Gibson, P., Heinemann, J.A. (2015). Subletalus herbicidų dikambos, 2,4- dichlorfenoksiacto rūgšties ir glifosato komercinių preparatų poveikis sukelia *Escherichia coli* ir *Salmonella enterica* serovar Typhimurium jautrumo antibiotikams pokyčius. *mBio* 6(2):e00009-15. doi: 10.1128/mBio.00009-15.
- Kusch, S., Panstruga, R. 2017, mlo pagrindu sukurtas atsparumas: akivaizdžiai universalus "ginklas", padedantis įveikti mitligę. *MPMI* 30:179-189
- Lalonde, S., Stone, O.A., Lessard S., Lavertu, A., Desjardins, J. et al. (2017) Frameshift indels introduced by genome editing can lead to in-frame exon skipping. *PLoS One* 12:e0178700
- Latham, J. R., Wilson, A. K., Steinbrecher, R. A. (2006) Augalų transformacijos mutacijų pasekmės. *J Biomed Biotechnol* 25376, doi: 10.1155/JBB/2006/25376
- Li, J.F., Novrille, J.E., Aach, J., McCormack, M., Zhang, D., Bush, J., Church, G.M., Sheen, J. (2013) Daugkartinis ir homologinės rekombinacijos tarpininkaujamas genomo redagavimas *Arabidopsis* ir *Nicotiana benthamiana* naudojant vedančiąją RNR ir Cas9. *Nat Biotechnol* 31:688-691
- Li, R., Li, R., Li, X., Fu, D., Zhu, B., Tian, H., Luo, Y., Zhu, H. (2017) Daugkartinė CRISPR/Cas9 tarpininkaujama metabolinė inžinerija - aminosviesto rūgšties kiekiui *Solanum lycopersicum*. *Plant Biotechnol J* doi: [org/10.1111/pbi.12781](https://doi.org/10.1111/pbi.12781)
- Li, X., Wang, Y., Chen, S., Tian, H., Fu, D., Zhu, B., Luo, Y., Zhu, H. (2018) Lycopene Is Enriched in Tomato Fruit by CRISPR/Cas9-Mediated Multiplex Genome Editing. *Front Plant Sci* 9:559. doi: 10.3389/fpls.2018.00559
- Li, D., Zhou, H., Zeng, X. (2019) Battling CRISPR-Cas9 off-target genome editing. *Cell Biol Toxicol* doi: 10.1007/s10565-019-09485-5
- Li, Q., Sapkota, M., van der Knaap, E. (2020) CRISPR/Cas tarpininkaujamas cis-inžinerijos perspektyvos sodininkystėje: išlaisvinti apleistą potencialą pasėliams gerinti. *Horticult Res* 7:36, doi: 10.1038/s41438-020-0258-8
- Liang, C., Prins, T.W., van de Weil, C.C.M., Kok, E.J. (2014) Saugos aspektai, susiję su genetiškai modifikuotų augalų atsparumu abiotiniam stresui. *Trend Food Sci Technol* 40:115-122
- Liu, X., Wu, S., Xu, J., Suin, C., Wei, J. (2017) CRISPR/Cas9 taikymas augalų biologijoje. *Acta Pharma Sinica* 7:292-302
- Lövei, G.L., Lang, A., Ferrante, M., Bacle, V. (2020) Ar transgeninių kukurūzų auginimas gali kelti grėsmę Europoje saugomiems drugiams (Lepidoptera)? *Insect Sci* 0:1-10, doi 10.1111/1744-7917.12849
- Maher, M.F., Nasti, R.A., Vollbrecht, M., Starker, C.G., Clark, MD, Voytas, D.F. (2020). Augalų genų redagavimas per de novo meristemų indukciją. *Nat Biotechnol* 38:84-89
- Mallory-Smith, C., Zapiola, M. (2008) Genų srautas iš glifosatui atsparių augalų. *Pest Manag Sci* 64:428-440
- Mansor, S. (2017) CRISPR-Cpf1: nauja augalų genomo redagavimo priemonė. *Trends Plant Sci* 22:550-552
- McGrann, G.R.D., Stavrinides, A., Russell, J., Corbett, M.M., Allan Booth, A. et al. (2014) A trade off between mlo resistance to powdery mildew and increased imluisibility of barley to a new important disease, Ramularia leaf spot. *J Exp Bot* 65:1025-1037
- Mehta, D., Stürchler, A., Anjanappa, R.B., Zaidi, S.S., Hirsch-Hoffmann, M., Gruissem, W., Vanderschuren, H. (2019) Linking CRISPR-Cas9 interference in cassava to the evolution of editing-resistant gemini viruses. *Genome Biol* 20:80, <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1678-3>
- Mertens, M. (2008) Genetiškai modifikuotų augalų poveikio aplinkai vertinimas. BfN - Skripten 217 <https://www.bfn.de/fileadmin/BfN/service/Dokumente/skripten/skript 217.pdf>
- Metje-Sprink, J., Menz, J., Modrzejewski, D., Sprink, T. (2019) Genomo redagavimas be DNR: praėjus, dabartis ir ateitis. *Front Plant Sci* 9, doi: 10.3389/fpls.2018.01957
- Metje-Sprink, J., Sprink, T., Hartung, F. (2020) Genomo redagavimas lauke. *Curr Opin Biotechnol* 61:1-6
- Michno, J.M., Virdi, K., Stec, A.O., Liu, J., Wang, X., Xiong, Y., Stupar, R.M. (2020) Mutacijų ir transgenų integracijai, gausumas ir perdavimas CRISPR/Cas9 sojų pupelių linijose. *BMC Biotechnol* 20:10, doi: [org/10.1186/s12896-020-00604-3](https://doi.org/10.1186/s12896-020-00604-3)
- Mishra, R., Joshi, R.K., Zhao, K. (2019) Base editing in crops: current advances, limitations and future implications. *Plant Biotechnol J* doi: [org/10.1111/pbi.13225](https://doi.org/10.1111/pbi.13225)
- Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Krause, D., Kohl, C., Wilhelm, R. (2019) Kokie yra turimi įrodymai apie genomo redagavimo, kaip naujos augalų požymių modifikavimo priemonės, taikymo sritis ir galimą susijusį netikslinį poveikį: sisteminis žemėlapis. *Environ Evid* 8:27 <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0171-5>
- Modrzejewski, D., Hartung, F., Sprink, T., Menz, J. et al. (2020) Naudingų ir dekoratyvinių augalų, išaugintų naudojant naujus molekulinis-biologinius metodus maisto, žemės ūkio ir sodininkystės sektoriuose, apžvalgos 2-asis atnaujinimas - į rinką orientuoti taikymai. https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/Landwirtschaft/Gruene-Gentechnik/NMT_Uebersicht-Zier-Nutzpflanzen.html
- Monroe, J.G., Srikant, T., Carbonell-Bejerano, P., Becker, C., Lensink, M., Exposito-Alonso, M. ir kt. (2022) Mutation bias reflects natural selection in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* <https://www.nature.com/articles/s41586-021-04269-6>
- Mortensen, D.A., Egan, J.F., Maxwell, B.D., Ryan, M.R., Smith, R.G. (2012) Navigating a Critical Juncture for Sustainable Weed Management. *BioScience* 62:75-84
- Mou, H., Smith, J.L., Peng, L., Yin, H., Moore, J., Zhang, X.O. Song, C.Q., Sheel, A. ir kt. (2017) CRISPR/Cas9 tarpininkaujamas genomo redagavimas sukelia egzonų praleidimą alternatyviuoliu splaisingu arba egzono išbraukimu. *Genome Biol* 18:108, doi: 10.1186/s13059-017-1237-8
- Morovec, J., Pirc, Z., Yang, B. (2017) Nauji CRISPR RNR valdomų genomo redagavimo fermentų variantai. *Plant Biotechnol J* doi: 10.1111/PBI.12736

- Murugan, K., Seetharam, A.S., Severin, A.J., Sashital, D.G. (2020) CRISPR-Cas12a pasižymi plačiai paplitusiu netiksliniu poveikiu ir dsDNA nukirpimo poveikiu. JBC doi: 10.1074/jbc.RA120.012933
- Nadakuduti, S.S., Buell, R., Voytas, D.F., Starker, C.G., Douches, D.S. (2018) Genomo redagavimas pasėliams gerinti - pritaikymas kloniniu būdu padauginiems poliploidams, daugiausia dėmesio skiriant bulvėms (*Solanum tuberosum* L.). *Front Plant Sci* 9:1607 doi: 10.3389/fpls.2018.01607
- Napier, J.A., Usher, S., Haslam, R.P., Ruiz-Lopez, N., Sayanova, O. (2015) Transgeniniai augalai kaip tvarus sausumos žuvų taukų šaltinis. *Eur J Lipid Sci Technol* 117:1317-1324
- Nekrasov, V., Staskawicz, B., Weigel, D., Jones, J.D.G., Kamoun, S. (2013) Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nat Biotechnol* 31:691-693
- Neve, P. (2018) Genų varomosios sistemos: ar joms vieta žemės ūkio piktžolių valdyme? *Pest Manag Sci*, doi: 10.1002/ps.5137
- Nishimasu, H., Nureki, O. (2017) CRISPR RNR valdomų efektorinių nukleazų struktūros ir mechanizmai. *Curr Opin Structural Biol* 43:68-78
- Nonaka, S., Arai, C., Takayama, M., Matsukura, C., Ezura, H. (2017) Efektyvus γ -aminosviesto rūgšties (GABA) kiekio padidinimas pomidorų vaisiuose taikant tikslinę mutagenę. *Sci Rep* 7:7057, doi:10.1038/s41598-017-06400-y
- Pak, S., Li, C. (2022) Pažanga ir iššūkiai taikant CRISPR/Cas metodus medžių genomo redagavimui. *For Res* 2:6 <https://doi.org/10.48130/FR-2022-0006>
- Park, S.H., Cao, M., Pan, Y., Davis, T.H. ir kt. (2022) Išsami CRISPR-Cas9 genų redagavimo metu sukeltų nenumatytų didelių genų modifikacijų analizė ir tikslus kiekybinis įvertinimas. *Sci Adv* 8, <https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/sciadv.abe7676>
- Pickar-Oliver, A., Gersbach, C.A. (2019) The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. *Nature Rev Mol Cell Biol* 20:490-507
- Price, B., Cotter, H. (2014) The GM Contamination Register: a review of registered contamination incidents related with genetically modified organisms (GMOs), 1997-2013. *J Food Contam* 1:5 doi: 10.1186/s40550-014-0005-8
- Rees, H.A., Liu, D.R. (2018) Bazių redagavimas: tiksloji chemija gyvų ląstelių genome ir transkriptome. *Nat Rev Genet* 19:770-788, doi: 10.1038/s41576-018-0059-1
- Ribarits, A., Eckerstorfer, M., Simon, S., Stepanek, W. (2021) Genome-Edited Plants: Opportunities and Challenges for an Anticipatory Detection and Identification Framework. *Foods* 10:430. <https://doi.org/10.3390/foods10020430>
- Ribarits, A., Stepanek, W., Hochegger, R., Narendja, F. ir kt. (2022) Genomo redaguotų ir klasikinių genetiškai modifikuotų augalų aptikimo metodų analizė. *BfN-Skripten* 622, <https://www.bfn.de/sites/default/files/2022-02/Skript622.pdf>
- Robinson, C., Portier, C.J., avoski, A., Mesnage, R., Roger, A., Clausung, P. et al. (2020) Aukšto apsaugos nuo pesticidų lygio pasiekimas Europoje: dabartinės rizikos vertinimo procedūros problemos ir sprendimai. *Eur J Risk Reg* doi: 10.1017/err.2020.18
- Rönspies, M., Schindele, P., Puchta, H. (2021) CRISPR/Cas tarpininkaujama chromosomų inžinerija: naujas augalų selekcijos kelias. *J Exp Bot* 72:177-183. doi: 10.1093/jxb/eraa463
- Ruuskanen, S., Fuchs, B., Nissinen, R., Puigbo, P. ir kt. (2022) Herbicidų poveikis ekosistemai: mikrobiomo vaidmuo. *TREE* 3058 <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0169-5347%2822%2900229-4>
- Sanchez-Leon, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C.V., Gimenez, M.J., Sousa, C., Voytas, D.F., Barro, F. (2018) Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol J* 16:902-910
- Saunders, S.P., Ries, L., Oberhauser, K.S., Thogmartin, W.E., Zipkin, E.F. (2017) Local and cross-seasonal associations of climate and land use with abundance of monarch butterflies *Danaus plexippus*. *Ecography* 40:001-012, doi: 10.1111/ecog.02719
- Schafer, M.G., Ross, A.A., Londo, J.P., Burdick, C.A., Lee, E.H., Travers, S.E. ir kt. (2011) Genetiškai modifikuotų rapsų populiacijų įsitvirtinimas JAV PLoS ONE 6(10):1-4.
- Schell, C., Engelhard, M., Frohn, H.W., Berger, L. eds. (2019) New genetic engineering and nature conservation - a relationship assessment. *BfN-Skripten* 546, <https://www.bfn.de/fileadmin/BfN/service/Dokumente/skripten/Skript546.pdf>
- Schmidt, Franz, P., Rönspies, M., Dreissig, S., Fuchs, J., Heckmann, S., Houben, A., Puchta, H. (2020) Vietinės rekombinacijos modelių keitimas *Arabidopsis* naudojant CRISPR/Cas tarpininkaujama chromosomų inžinerija. *Nature Comm.* doi: 10.1038/s41467-020-18277-z
- Schütte, G., Eckerstorfer, M., Rastelli, V., Reichenbecher, W., Restrepo Vassalli, S., Ruohonen Lehto, M., Wuest Saucy, A.G., Mertens, M. (2017) Atsparumas herbicidams ir biologinė įvairovė: agronominiai ir aplinkosauginiai genetiškai modifikuotų herbicidams atsparių augalų aspektai. *Environ Sci Eur* 29:5, doi: 10.1186/s12302-016-0100-y
- Schulze, J., Frauenknecht, T., Brodmann, P., Bagutti, C. (2014) Netikėta laukinių genetiškai modifikuotų rapsų (*Brassica napus* L.) įvairovė. Nepaisant auginimo ir importo draudimo Šveicarijoje. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114477>
- Shan, Q., Wang, Y., Li, J., Zhang, Y., Chen, K., Liang, Z. ir kt. (2013) Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nat Biotechnol* 31:686-688
- Shan, S., Soltis, P.S., Soltis, D.E., Yang, B. (2020) CRISPR/Cas9 pritaikymo neogenetinėse modelinėse augalų sistemose aspektai. *Appl Plant Sci* 8(1): e11314, doi: 10.1002/aps3.11314
- Sharpe, J.J., Cooper, T.A. (2017). Netikėtos pasekmės: egzonų praleidimas dėl CRISPR sukeltų mutacijų. *Genome Biol* 18:109, doi: 10.1186/s13059-017-1240-0
- Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H.R., Archibald, R.L. et al. (2017) ARGOS8 variantai, sukurti naudojant CRISPR-Cas9, pagerina kukurūzų grūdų derlių lauko sausros streso sąlygomis. *Plant Biotechnol J* 15:207-216
- Shine, C., Williams, N., Gündling, L. (2000) A guide to designing legal and institutional frameworks on alien invasive species. IUCN dokumentas Nr. 40, http://www.iisg.org/pdf/publications/GISP/Guidelines_Toolkits_BestPractice/Shine_et_al_2000_EN.pdf
- Simon, S., Otto, M., Engelhard, M. (2018) Sintetinis genų valdymas: tarp tęstinumo ir naujumo. *EMBO Rep* 19 doi: 10.15252/embr.201845760
- Skirvin, R.M., McPheeters, K.D., Norton, M. (1994) Somakloninių variacijų šaltiniai ir dažnis. *Hortsci* 29:1232-1233
- Skryabin, B.V., Kummerfeld, D.M., Gubar, L., Seeger, B., Kaiser, H., Stegemann, A. ir kt. (2020) Pervasive head-to-tail insertions of DNA templates mask desired CRISPR-Cas9-mediated genome editing events. *Sci Adv* 6:7, doi: 10.1126/sciadv.aax2941
- Slavov, G.T., Leonardi, S., Burczyk, J., Adams, W.T., Strauss, S.H., DiFazio, S.P. (2009) Extensive pollen flow in two ecologically contrasting populations of *Populus trichocarpa*. *Mol Ecol* 18:357-373
- Smits, A.H., Ziebell, F., Joberty, G., Zinn, N., Mueller, W.F., Clauser-Münster, S. et al. (2019) Biologinis plastiškumas gelbsti taikinių aktyvumą CRISPR nukautuose. *Nature Methods* 16: 1087-1093, doi: 10.1038/s41592-019-0614-5
- Snow, A.A., Uthus, K.L., Culley, T.M. (2001). Piktžolių ir kultūrinių ridikų hibridų tinkamumas: reikšmė piktžolių evoliucijai. *Ecol Appl* 11:934-943.

- Solomon, S.M. (2020) Genomų redagavimas gyvūnams: kodėl svarbus FDA reguliavimas. *Nat Biotechnol* 38:142-143
- Soyk, S., Lemmon, Z.H., Sedlazeck, F.J., Jiménez-Gómez, J.M., Alonge, M., Hutton, S.H., Van Eck, J. et al. (2019) Duplikacija domestikacijos lokuse neutralizavo kriptinį variantą, sukėlusį veisimo barjerą pomidoruose. *Nature Plants* 5:471-479, doi: 10.1038/s41477-019-0422-z
- Stuttmann, J., Barthel, K., Martin, P., Ordon, J., Erickson, J.L. ir kt. (2021) Labai efektyvus daugkartinis redagavimas: vienu kartu sukuriama 8× *Nicotiana benthamiana* ir 12× *Arabidopsis* mutantai. *Plant J* 106:8-2, doi: 10.1111/tpj.15197
- Svitashv, S., Schwartz, C., Lenderts, B., Young, J.K., Cigan, A.M. (2016) Genomo redagavimas kukurūzuose, nukreiptas CRISPR-Cas9 ribonukleoproteinų kompleksais. *Nat Comm* 7:13274, doi: 10.1038/ncomms13274
- Tang, J., Chen, L., Liu, Y.G. (2019). Netikslinis poveikis ir sprendimas. *Nat Plants* 5:341-342, doi: 10.1038/s41477-019-0406-z
- Taxiarchi, C., Beaghton, A., Illansinlage Don, A., Kyrou, K., Gribble, M., Shittu, D., Collins, S.P. ir kt. (2021) Genetiškai užkoduotas CRISPR baltymas riboja genų disko plitimą ir užkerta kelią populiacijos slopinimui. *Nature Comm* <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24214-5>
- Then, C. (2019). Ar aš esu reguliuojamas? Naujoji genų inžinerija augaluose: reguliavimo trūkumo problemos remiantis JAV pavyzdžiu. https://www.testbiotech.org/sites/default/files/Am_I_Regulated_de.pdf
- Townsend, J.A., Wright, D.A., Winfrey, R.J., Fu, F., Maeder, M.L., Joung, J.K., Voytas, D.F. (2009) High-frequency modification of plant genes using engineered zinc-finger nucleases. *Nature* 459:442-445
- Trtikova, M., Wikmark, O.G., Zemp, N., Widmer, A., Hilbeck, A. (2015) Transgeno raiška ir Bt baltymų kiekis transgeniniuose Bt kukurūzuose (MON810) optimaliomis ir stresinėmis aplinkos sąlygomis. *PLoS One* 10(4), e0123011. doi:10.1371/journal.pone.0123011
- Tzanova, T., Stefanova, L., Topalova, L., Atanasov, A., Pantchev, I. (2020) DNR neturintis genų redagavimas augaluose: trumpa apžvalga. *Biotech n Biotech Equipm* 35:131-138 <https://doi.org/10.1080/13102818.2020.1858159>
- Tuladhar, R., Yeu, Y., Piazza, J.T. ir kt. (2019) CRISPR-Cas9 pagrįsta mutagenėzė dažnai sukelia tikslinę mRNA nereguliaciją. *Nat Commun* 10:1-10. doi: 10.1038/s41467-019-12028-5
- van Bruggen, A.H.C., Finckh, M.R., He, M., Ritsema, C.J. et al. (2021) Netiesioginis herbicido glifosato poveikis augalų, gyvūnų ir žmonių sveikatai dėl jo poveikio mikrobu bendrijoms. *Front Env Sci* <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2021.763917/full>
- Váry, Z., Mullins, E., McElwain, J.C., Doohan, F.M. (2015) The severity of wheat diseases increases when plants and pathogens are acclimatised to elevated carbon dioxide. *Glob Chang Biol* 21:2661-2669
- Vázquez-Barrios, V., Boege, K., Sosa Fuentes, T.G., Rojas, P., Wegier, A. (2021) Ongoing ecological and evolutionary consequences by the presence of transgenes in a wild cotton population. *Sci Rep* 11:1959 | <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81567-z>
- Velásquez, A.C., Castroverde, C.D.M., He, S.Y. (2018) Augalų ir patogenų karas kintančio klimato sąlygomis. *Curr Biol* 21:28(10): R619-R634. doi: 10.1016/j.cub.2018.03.054.
- Venter, H.J., Bohn, T. (2016) Bt pasėlių ir vandens ekosistemų sąveika: apžvalga *Environ Toxicol Chem* 35:2891-2902.
- Von Gleich, A., Schröder, W. eds. (2020) Gene drives at tipping points. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-38934-5>
- Wada, N., Ueta, R., Osakabe, Y., Osakabe, K. (2020) Precision genome editing in plants: state-of-the-art in CRISPR/Cas9-based genome engineering. *BMC Plant Biology* 20:234, doi: 10.1186/s12870-020-02385-5
- Waltz, E. (2021) GABA praturintas pomidoras - pirmasis CRISPR redaguotas maisto produktas, patekęs į rinką. <https://www.nature.com/articles/d41587-021-00026-2>
- Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., Qiu, J.L. (2014a) Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotechnol* 32:947-951
- Wang, W., Xia, H., Yang, X., Xu, T., Si, H. J., Cai, X. X. ir kt. (2014b). A naujas 5-enolpiruvilošikimato-3-fosfato (EPSP) sintezės transgenas, užtikrinantis atsparumą glifosatui, skatina piktžolėtų ryžių (*Oryza sativa*) augimą ir vaisingumą be herbicido. *New Phytol* 202:679-688. doi: 10.1111/nph.12428
- Wang, J., Song, L., Gong, X., Xu, J., Li, M. (2020) Jasmoninės rūgšties funkcijos augalų reguliacijoje ir atsakas į abiotinį stresą. *Int J Mol Sci* 21:1446. doi: 10.3390/ijms21041446
- Wasternack, C., Miersch, O., Kramell, R., Hause, B., Ward, J., Beale, M. ir kt. (1998) Jasmoninė rūgštis: biosintezė, signalų perdavimas, genų raiška. *Fat/Lipid* 100:139-146. doi: 10.1002/(SICI)1521-4133(19985)100:4<53.0.CO;2-5
- Weisheit, I., Kroeger, J. Malik, R., Klimmt, J., Crusius, D. ir kiti (2020). Kenksmingo tikslinio poveikio nustatymas po HDR tarpininkaujamo CRISPR redagavimo. *Cell Reports* 31, 107689, doi: [org/10.1101/2020.03.27.012104](https://doi.org/10.1101/2020.03.27.012104).
- Wilson, A.K., Latham, J.R., Steinbrecher, R.A. (2006) Transformacijos sukeltos transgeninių augalų mutacijos: analizė ir biologinės saugos pasekmės. *Biotech Gene Engineering Rev* 23:209-234
- Wilson, A.K. (2020). Ar genetiškai modifikuoti ir kiti genetiškai modifikuoti augalai sužlugdys tvarias maisto sistemas? doi: 10.1016/B978-0-12-816410-5.00013-X
- Wolfenbarger, L.L., Phifer, P. R. (2000) Genetiškai modifikuotų augalų ekologinė rizika ir nauda. *Science* 290:2088-2093.
- Yu, Q., Wang, B., Li, N., Tang, Y., Yang, S., Yang, T., Xu, J. ir kt. (2017) CRISPR/Cas9 sukelta tikslinė mutagenėzė ir genų pakeitimas, siekiant sukurti ilgaamžių pomidorų linijas. *Sci Reports* 7:11874 doi: 10.1038/s41598-017-12262-1
- Zeller, S.L., Kalinina, O., Brunner, S., Keller, B., Schmid, B. (2010) Transgenų ir aplinkos sąveika genetiškai modifikuotuose kviečiuose. *PLoS ONE* 5(7): e11405, doi: 10.1371/journal.pone.0011405
- Zetsche, B., Gootenberg, J.S., Abudayeh, O.O., Slaymaker, I.M., Makarova, K.S., Essletzbichler, P. ir kt. (2015) Cpf1 yra vienintelė 2 klasės CRISPR-Cas sistemos RNR valdoma endonukleazė. *Cell* 163:759-771. doi: 10.1016/j.cell.2015.09.038.
- Zhang, Y., Liang, Z., Zong, Y., Wang, Y., Liu, J., Chen, K., Qui, J.L., Gao, C. (2016). Efektyvus ir be tanzgenų atliekamas kviečių genomo redagavimas naudojant CRISPR/cas9 DNR arba RNR ekspresiją. *Nature Comm* 7:12617 doi: 10.1038/ncomms12617
- Zhao, Y., Xin Yang, X., Zhou, G., Zhang, T. (2020) Augalų atsparumo virusams inžinerija: nuo RNR slopinimo iki genomo redagavimo strategijų. *Plant Biotechnol J* 18:328-336
- Zhao, Y. (2012). Aukso biosintezė: paprastas dviejų etapų kelias, kuriuo triptofanas augaluose paverčiamas indolo-3-actio rūgštimi. *Mol Plant* 5:334-338, doi: 10.1093/mp/sss104
- Zsögön, A., ermák, T., Naves, E.R., Notini, M.M., Edel, K.H. et al. (2018) De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nat Biotechnol* 36:1211-1216 doi: 10.1038/nbt.4272
- Zhu, J., Park, K.C. (2005) Metilo salicilatas, sojų amarų sukeltas augalų lakusis junginys, patrauklus plėšrūnams *Coccinella septempunctata*. *J Chem Ecol* 31:1733-1746
- Zhu, C., Bortesi, L., Baysal, C., Twyman, R.M., Fischer, R. ir kiti (2017) Genomo redagavimo mutacijų grūdinėse kultūrose charakteristikos. *Trends Plant Sci* 22:38-52

Atspaudas

Leidėjas:

*Aplinkos ir
gamtos
apsaugos
asociacija*

*Deutschland e. V. (BUND),
"Žemės draugai Vokietijoje",
Kaiserin-Augusta-Allee 5,
10553 Berlynas*

Telefonas: 0 30/2 75 86-40

Faksas: 0 30/2 75 86-440

Paštas:

*info@bund.net
www.bund.net*

Autorius:

Dr. Martha Mertens

F. i. S. d. P.:

Petra Kirberger

gamyba:

Natur n Umwelt GmbH 2022

m. ruduo