

Forskning baner vejen for **SELV-GØDENDE PLANTER TIL LANDBRUGET**

Kun ganske få planteafgrøder behøver ikke blive gødet med næringsstoffet nitrogen (kvælstof). Denne unikke egenskab er forskere i færd med at kopiere ind i alt fra majs til byg, så verden kan komme af med klimabyrden fra produktionen af kunstgødning og skabe et mere bæredygtigt landbrug.

Om forfatteren

Af Kristian Sjøgren,
videnskabsjournalist.
ksjogren@gmail.com



**DANMARKS FRIE
FORSKNINGSFOND**
INDEPENDENT RESEARCH
FUND DENMARK

Artiklen er sponsoreret af Danmarks Frie Forskningsfond | Natur og Univers.

Danmarks Frie Forskningsfond dækker alle videnskabelige hovedområder og uddeler hvert år godt 1 mia. kr. til forskningsprojekter baseret på forskernes egne ideer. Danmarks Frie Forskningsfond består af 84 anerkendte forskere udpeget på baggrund af deres høje faglige kompetence. Formand for Danmarks Frie Forskningsfond | Natur og Univers er professor ved Københavns Universitet, Henrik Grum Kjærsgaard. Læs mere på www.dff.dk

For 400 millioner år siden skete der noget i verden, som indenfor de kommende år kan hjælpe Klodens klima og være med til at brødføde estimerede 10,4 milliarder mennesker på vores lille blå planet. Dengang for 400 millioner år siden var planterne kun lige begyndt at etablere sig på landjorden, der indtil da havde været mørk og kun beboet af svampe og bakterier. Med planternes ankomst ændrede Jorden sig dog dramatisk. Den blev grønnere, skove opstod, og det banede alt sammen vejen for, at de første dyr nogle millioner år senere kunne leve på land og finde føde.

Det var dog ikke kun på global skala, at tingene begyndte at ændre sig i livets fjerne fortid. Det samme skete i det mikroskopiske. For 400 millioner år siden skete der noget bemærkelsesværdigt mellem landjordens oprindelige beboere (svam-

pene) og de nytilkomne (planterne) – der opstod en symbiose. Begge organismer havde noget, som den anden kunne bruge, og derfor gik de sammen i et unikt samarbejde, der har varet indtil i dag og dermed eksisterer i de fleste af nutidens landplanter.

Meget simpelt går samarbejdet ud på, at planterne inviterer svampene ind i deres rødder og giver dem sukker og fedtstof for til gengæld at kunne få fat i noget af det fosfat, som svampene udvinder fra jorden. Fosfat skal planter bruge til at vokse, og med symbiosen blev det muligt for planterne at danne et udvidet rodnet og blive mere tørke resistente.

Samarbejdet mellem planter og svampe var en kæmpe fordel for begge typer af organismer, som efterfølgende stortrivedes. For omkring 100 millioner år siden

opstod der så igen et bemærkelsesværdigt samarbejde, som gjorde nogle få plantearter i stand til at indgå endnu en symbiose. Denne gang var det med bakterier, som kan tage gassen dinitrogen, N_2 ud af luften og omdanne den til ammonium, som planterne kan udnytte som nitrogenkilde. Også disse bakterier koloniserede planternes rødder, hvor bakterierne forsynes med sukker fra fotosyntesen. Som "betaling" får planterne nitrogen fra bakterierne. Denne symbiose findes i dag hos bælgeplanter som ærter, hestebønner, lupin, kløver og sojabønner, som kan gro, uden at landmænd skal tilføre nitrogen, hvilket de ellers skal til alle andre afgrødeplanter.

Symbiose kan give inspiration til landbruget

Der er gået henholdsvis 400 millioner og 100 millioner år, siden planterne indgik symbioserne med

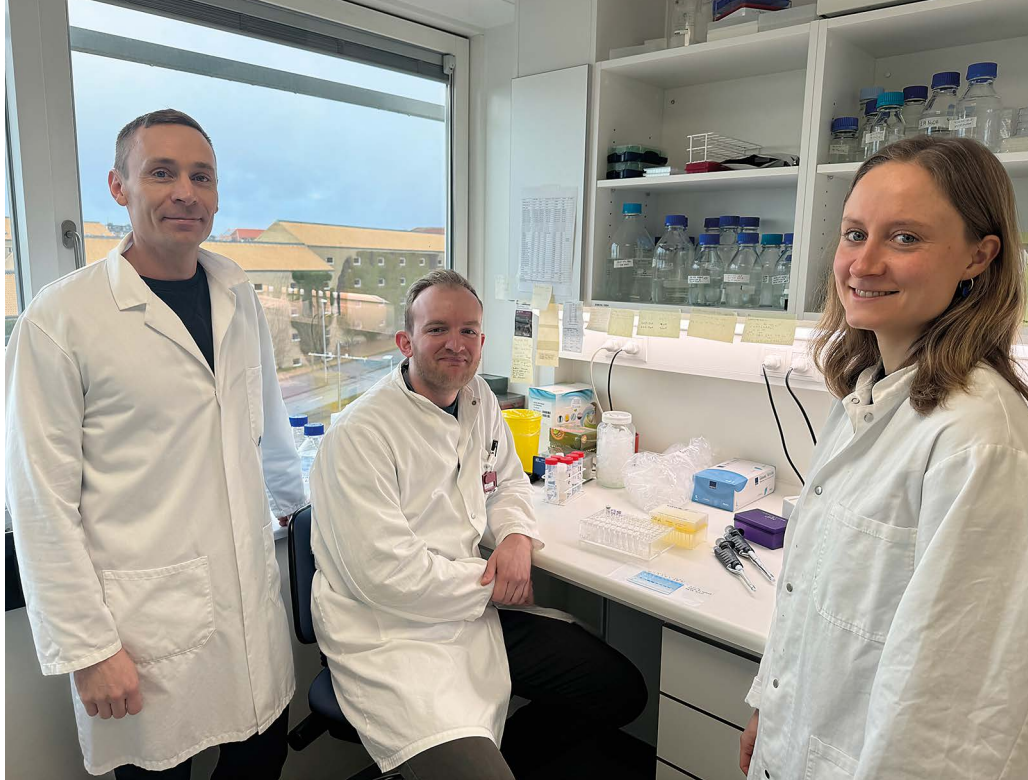
svampe og bakterier, og disse symbioser er mere relevante i dag, end de nogensinde har været før. Årsagen er den, at en voksende verdensbefolkning kræver enorme mængder mad, og for at brødføde denne stigende befolkning skal der bruges groteske mængder nitrogenforbindelser på markerne. Nitrogengødning er ikke bare dyrt for landmanden, det er også skadeligt for klimaet, da den kemiske proces, der skal til for at danne kunstgødningen, kræver høj temperatur og tryk, hvilket er energikrævende med en stor CO₂-udledning som bivirkning. Cirka to procent af verdens energi bliver brugt på alene at tage nitrogen ud af luften og lave den om til ammonium, som kan spredes på markerne.

Men måske kan en bedre forståelse af symbiosen mellem planter og bakterier gøre, at vi kan reducere behovet for at gøde markerne med nitrogen?

Danske forskere er med helt fremme, når det kommer til at forstå, hvordan man potentielt kan udnytte symbiosen mellem planter og disse såkaldte nitrogenfikserende bakterier til at skabe et mere bæredygtigt landbrug, der kan brødføde hele verden – også når vi bliver 9, 10 eller flere milliarder mennesker.

»Det kræver rigtig meget energi at lave nitrogengødning, og behovet kommer kun til at stige i fremtiden. Derfor har vi brug for nye løsninger, hvis vi vil have et grønt landbrug, og en af disse løsninger kan være at finde ud af, hvordan vi kan få vores afgrøder til at blive uafhængige af tilført nitrogen, sådan som bælgplanterne er det,« forklarer lektor Kasper Røjkjær Andersen fra Institut for Molekylærbiologi og Genetik - Plantemolekylærbiologi på Aarhus Universitet.

Kasper Røjkjær Andersen har for nylig modtaget tæt på tre millioner kroner fra Det Frie Forskningsråd til at bringe forskerne skridtet tættere på at forløse potentialet i et grønne landbrug.



Kasper Røjkjær Andersen (tv) i laboratoriet sammen med Simon Boje Hansen og Henriette Rübsum, som begge medvirker i den forskning, som beskrives i artiklen. Foto: Marie Kolte.

Bælgplanter og bakterier indgår i unikt samarbejde

Inden vi forhastet langer ud efter landmænd, der spreder nitrogengødning på markerne, og producenterne af nitrogengødning, der futter enorme mængder energi af for at producere den, skal vi huske på, at hele denne industri har været forudsætningen for, at vi kan være otte milliarder mennesker på planeten i dag. Uden nitrogengødning ville langt flere af os sulte, end det er tilfældet i dag. Ikke desto mindre er løsningen ikke holdbar på den lange bane, og derfor er forskere også netop nu så fokuserede på at udvikle nye veje for landbruget

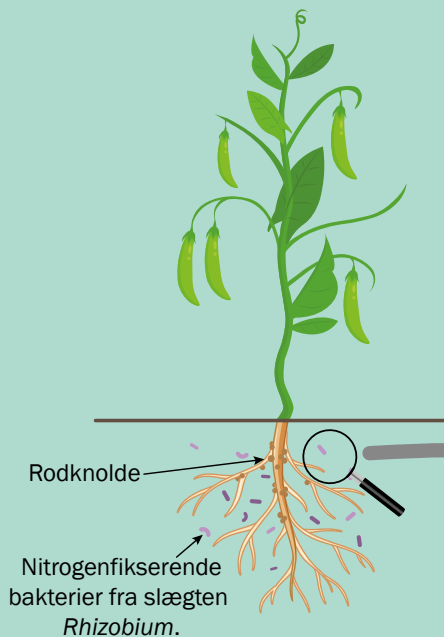
og heri skele til de løsninger, som naturen selv har udviklet. Bill og Melinda Gates Foundation har blandt andet postet flere hundrede millioner kroner i forskning i regi af ENSA-konsortiet (Enabling Nutrient Symbioses in Agriculture) med det formål at videreudvikle landbruget mod fremtiden. Kasper Røjkjær Andersen er selv en del af ENSA-konsortiet.

Vender vi tilbage til den særlige symbiose, som bælgplanterne har etableret med de nitrogenfikserende bakterier, så er forskere inden for de seneste år blevet meget klogere på, hvordan samarbejdet

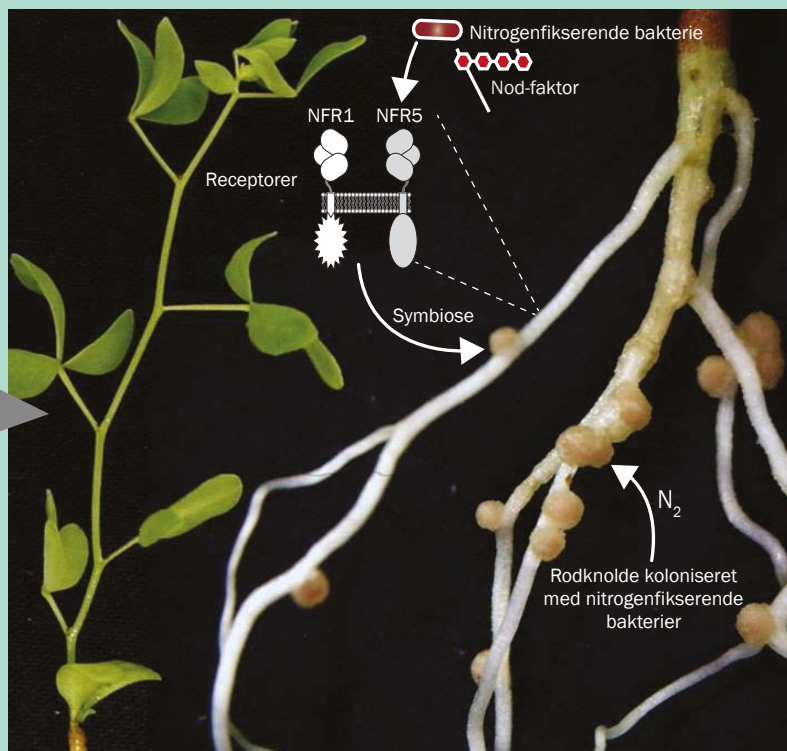
Kasper Røjkjær Andersen

Kasper Røjkjær Andersen skrev sin ph.d.-afhandling ved Aarhus Universitet. Derefter var han postdoc ved MIT (Massachusetts Institute of Technology) i Boston, USA, og er nu lektor ved Institut for Molekylær Biologi og Genetik ved Aarhus Universitet. Hans forskningsinteresse er centreret om at forstå, hvordan planter kommunikerer og indgår i symbiose med bakterier og svampe. Forskningen har perspektiver indenfor bæredygtig fødevarerproduktion og den grønne omstilling.





Figuren viser de vigtigste aktører i det samspil mellem planter og bakterier, der gør planter i stand til at skaffe sig næringsstoffet nitrogen direkte fra luften. Nod-faktorer er signalstoffer fra bakterierne, som genkendes af receptorerne NFR1 og NFR5, der sidder i membranen på planteceller. Når planten genkender den korrekte Nod-faktor, danner den rodknoide og inviterer bakterien ind i rødderne, hvor nitrogen-fikseringen finder sted. Figur: Kasper Røjkjær Andersen.



Baggrundsfoto: Colourbox

opstår og foregår.

Hold nu tungen lige i munden. Når planten mangler nitrogen, så tiltrækker den nitrogenfikserende bakterier ved at sende nogle signalmolekyler – kaldet flavonoider – ud i den omkringliggende jord. Signalmolekylerne tiltrækker de rigtige nitrogenfikserende bakterier og inviterer dem til at producere et modificeret kulhydrat, der kaldes for en nodulerings-faktor (Nod-faktor). Nod-faktorerne er unikke signalmolekyler for de enkelte bakterier, hvilket vil sige, at de nitrogenfikserende bakteriers Nod-faktorer er forskellige fra andre bakteriers Nod-faktorer. Derved kan planten skelne mellem nitrogenfikserende bakterier og alle de andre bakterier, hvoraf nogle kan være sygdomsfremkaldende.

Bælgplanterne har i deres rødder receptorer, der kan genkende Nod-faktorer fra nitrogenfikserende bakterier. Når bakteriens Nod-faktor genkendes af receptorerne i plantens rødder – som en nøgle i en lås – sætter det gang i en signal-

kaskade i planten, der ultimativt aktiverer processerne, som muliggør symbiose.

For det første igangsættes et cellulært program for celledeling. Dette program medfører organogenese og er med til at danne de rod-knoide, som bakterierne kan leve i. En anden proces er, at planten laver nogle membranomkransede hule rør, som de nitrogenfikserende bakterier kan benytte til at trænge ind gennem plantens væv og ind i rod-knoldene, som de derefter koloniserer og danner flere bakterier i.

Inde i rod-knoldene stortrives bakterierne i det miljø, som bælgplanterne laver for dem. De får blandt andet rigeligt med sukker fra plantens fotosyntese, ligesom planterne skaber et iltfrit miljø, hvor det enzym, som bakterierne bruger til at omdanne dinitrogen til ammonium, fungerer optimalt.

»På den måde får planten nitrogen og kan gro uafhængigt af kemisk gødning. I naturen ser man ofte, at andre planter er afhængige af, den

nitrogen, som bælgplanter får fra nitrogenfikserende bakterier. For eksempel er der i min græsplæne en masse kløvergræs, som vokser særligt meget om efteråret, hvor det kan konkurrere med normalt græs, der ikke får nok nitrogen,« forklarer Kasper Røjkjær Andersen.

Han uddyber, at på en dyrket mark forsvinder der hvert år en masse nitrogen med høsten, hvorfor landmanden er nødt til at tilføre nyt nitrogen på sine marker. I et bæredygtigt landbrug kommer landmænd dog omkring dette problem ved at så kløver eller andre nitrogenfikserende bælgplanter på sine marker i rotation med afgrøder som hvede og majs. Derved fikses en masse nitrogen, som gør jorden næringsrig, hvilket de andre afgrøder kan nyde godt af året efter.

»Denne form for naturlig gødning af markerne har fået større interesse indenfor den seneste tid, hvor mangel på gas som energikilde i omdannelsen af dinitrogen til ammonium har gjort prisen på kunstgødning tre

til fire gange højere,« siger Kasper Røjkjær Andersen.

Revolutionerende arbejde i Science

Hele formålet med Kasper Røjkjær Andersens forskning er at forstå det molekylærbiologiske grundlag for symbiosen i bælgplanter, så det kan overføres til alle andre afgrødeplanter. I den vestlige del af verden kan det komme til at betyde, at man kan gøre noget godt for klimaet ved at fjerne en stor del af behovet for kunstgødning til hvedemarker, bygmarker, majsmarker, rapsmarker osv., mens det for lande i Afrika og Asien kan betyde, at man rent faktisk kan producere tilstrækkelig mad til selv at brødføde kontinentet – også i fremtiden.

Faktisk kom forskerne fra Danmark et stort skridt tættere på forståelsen af processerne i et forskningsarbejde, der blev publiceret i *Science*.

For nogle år siden fandt forskere ud af, at to receptorer i planter spiller en meget vigtig rolle for planternes mulighed for at indgå i symbiosen med bakterier. Disse receptorer hedder NFR1 og NFR5, og når forskere sætter disse to receptorer ud af spillet, kan planten ikke længere genkende bakteriens Nod-faktor og igangsætte symbiosen.

»Det store spørgsmål har været, hvordan de her receptorer fungerer, og hvordan de bliver aktiveret af bakteriens signalmolekyler. Det besvarede vi i studiet i *Science*,« fortæller Kasper Røjkjær Andersen.

I studiet kunne forskerne med en helt ny teknologi med små antistoffer fra lamaer (kaldet nanobodies) vise, at for at blive aktiveret skal NFR1 og NFR5 binde til hinanden. Forskerne bragte med nanobodies NFR1 og NFR5 sammen kunstigt i deres forsøg, og det var nok til at få planterne til at danne rodknolde uden tilstedeværelse af hverken bakterier eller Nod-faktorer. I naturen står Nod-faktoren fra de nitrogenfikserende bakterier for at

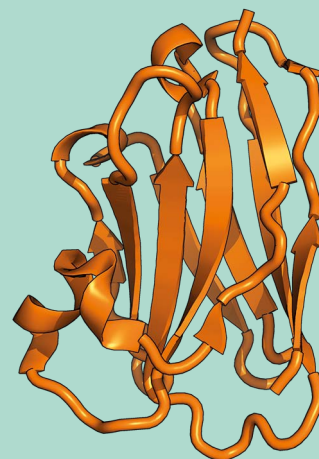


Foto: Shutterstock

Nanobodies – et værdifuldt værktøj fra lamaer

Antistoffer fra lamaer kaldes for “nanobodies” og har vist sig at være bemærkelsesværdige redskaber indenfor bioteknologi og medicinsk forskning på grund af deres unikke egenskaber og potentielle anvendelser.

Lamaer producerer naturligt disse kompakte antistoffer, som er mindre end konventionelle antistoffer hos mennesker og andre dyr. Nanobodies stammer fra de antistoffer, der findes i lamaers immunsystem. Deres kompakte størrelse og enkle struktur gør dem meget stabile og opløselige, hvilket gør dem i stand til at binde til specifikke målmolekyler med høj bindingsstyrke. Denne egenskab gør dem værdifulde redskaber i forskellige anvendelser fra diagnostiske tests til terapeutiske indgreb – eller til at binde to receptorer sammen i bælgplanter.



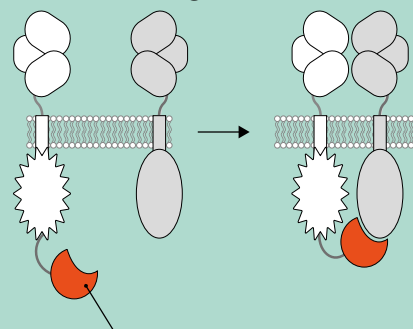
Figuren viser øverst proteinstrukturen af et lama-nanobody. Forskerne har brugt sådanne nanobodies til at binde de to receptorer NFR1 og 5 sammen og aktivere dannelsen af rodknolde. (nederst).

En væsentlig fordel ved nanobodies er deres evne til at få adgang til og binde sig til skjulte eller svært tilgængelige områder på målmolekyler, hvilket større antistoffer har svært ved. Dette gør nanobodies særligt nyttige til at målrette og hæmme specifikke vekselvirkninger mellem proteiner såsom dem, der er involveret i sygdomsforløb.

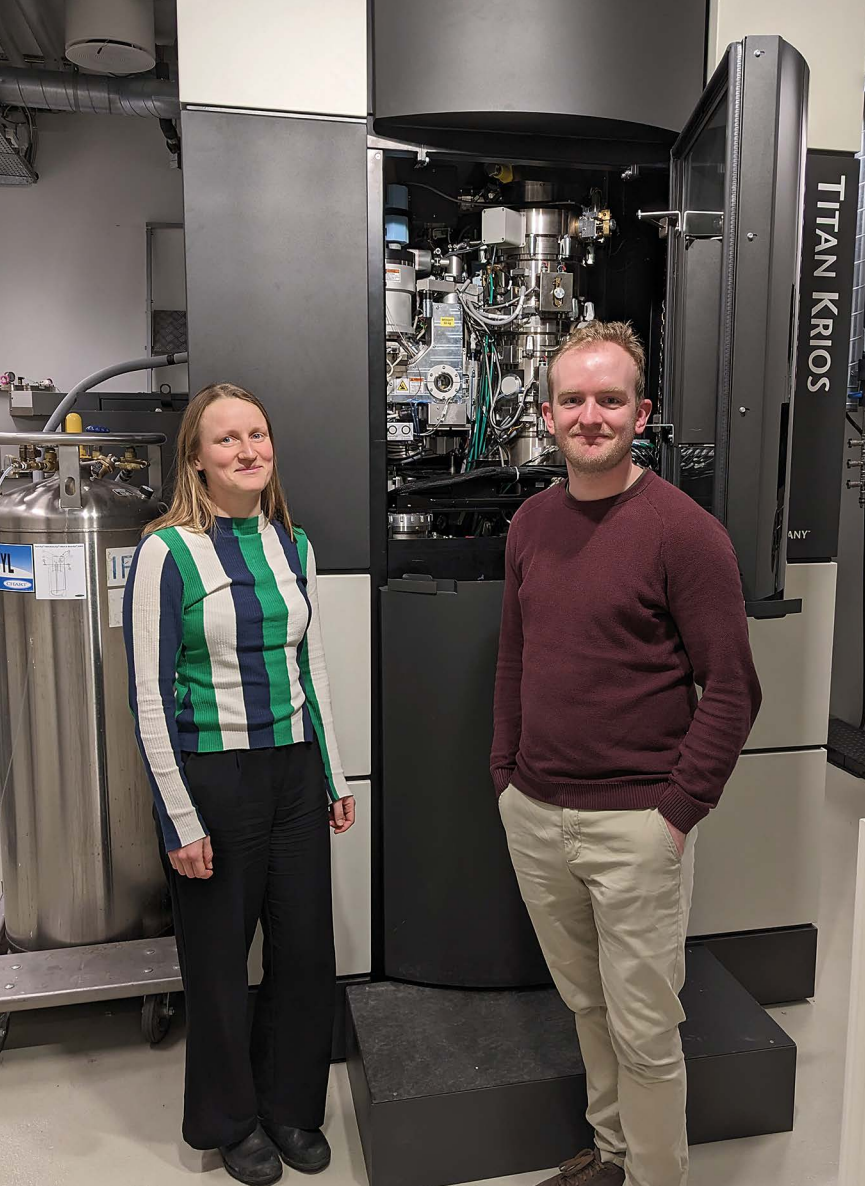
Derudover tåler nanobodies barske betingelser, for eksempel ekstreme temperaturer og lave pH-værdier.

Forskere undersøger nanobodies til en bred vifte af anvendelser, herunder kræftterapi, hvor de kan designes til at neutralisere kræftceller. De viser også lovende resultater indenfor infektionssygdomsforskning, da deres evne til at målrette virale antigener er værdifuldt i forbindelse med udvikling af vacciner. Derudover anvendes nanobodies indenfor strukturbologi til at stabilisere proteiner.

NFR1 NFR5



Nanobody



Marie Kolte og Simon Hansen foran Titan Krios cryo-EM mikroskopet på Aarhus Universitet som er tilgængelig for forskere via den danske cryo-EM facilitet kaldet EMBION. Foto: Institut for Molekylærbiologi og Genetik

Cryo-EM-processen indebærer, at man nedfryser biologiske prøver i flydende ethan. Det låser materialet i de biologiske prøver i deres naturlige tilstand og forhindrer, at strukturerne bliver ødelagt eller deformet. Efterfølgende bombarderes prøverne med elektroner, og vekselvirkningerne mellem elektronerne og prøverne omdannes til tredimensionelle strukturbilleder ved hjælp af billedbehandlingsalgoritmer. Billedbehandlingsalgoritmerne er indenfor de seneste år blevet mere avancerede, hvilket forbedrer nøjagtigheden af de rekonstruerede strukturer. På den måde kan forskere i dag studere den atomare opbygning af proteiner i bedre opløsning end nogensinde før.

En afgørende fordel ved cryo-EM er teknologiens evne til at undersøge prøver i forskellige konformationer og funktionelle tilstande. Dette giver indsigt i proteiners dynamik og komplekse interaktioner på et subatomart niveau, blandt andet i interaktioner mellem receptorer og de signalmolekyler, som aktiverer receptorerne. Teknikken har også muliggjort studier af store protein-komplekser og membranproteiner, der tidligere var vanskelige at karakterisere ved konventionelle metoder.

Selvom cryo-EM-teknologien har været banebrydende, er der stadig udfordringer for teknologien. Forberedelse af prøverne er en kritisk faktor, da unøjagtigheder i prøvefrysning eller urenheder kan påvirke resultaterne. Desuden kræver dataanalysen en grundig forståelse af billedbehandlingsmetoder og strukturmodellering.

Cryo-EMs potentiale indenfor strukturblogi er dog enormt, og teknikkens anvendelse strækker sig fra at belyse biologiske mekanismer til at støtte lægemiddeldesign og udvikling. Den fortsatte udvikling af Cryo-EM kommer med al sandsynlighed til at bidrage væsentligt til en dybere forståelse af komplekse biologiske systemer i fremtiden.

Cryo-elektronmikroskopi

Cryo-elektronmikroskopi (cryo-EM) er et vigtigt værktøj indenfor strukturblogi, som har gjort det muligt at visualisere proteiner på molekylært niveau med hidtil uset præcision. Metoden overvinder de begrænsninger, der er forbundet med konventionelle teknikker som røntgenkrystallografi og NMR-spektroskopi, og har gjort det muligt at studere proteinstrukturer i høj opløsning.

bringe NFR1 og NFR5 sammen og aktivere processen.

Det andet gennembrud i studiet var, at forskerne kunne vise, at der i byg findes receptorer, som kan meget af det samme som bælgplanternes NFR1 og NFR5, uden at de dog kan starte en symbiose med nitrogenfikserende bakterier. Dette skyldes, at bælgplanter udviklede symbiosen med nitrogenfikserende

bakterier ud fra den 400 millioner år gamle symbiose med de svampe, som tilfører fosfat til planter. Langt de fleste landplanter har denne 400 millioner år gamle symbiose og derfor grundstenene til at lave symbiosen med andre mikroorganismer, herunder de nitrogenfikserende bakterier.

Forskerne lavede i deres studie en grundig undersøgelse af hele byg-

plantens genom og identificerede receptorerne RLK4 og RLK10 som de to receptorer, der mest ligner NFR1 og NFR5 fra bælgplanter. Efterfølgende satte de NFR1 og NFR5 ud af spillet i en bælgplante og indsatte i stedet RLK4 og RLK10 fra byg. Det var dog ikke alene nok til at aktivere symbiosen, men da forskerne bragte de to receptorer sammen med lama-nanobodies, sådan som de havde gjort i det

tidligere forsøg, startede hele den symbiotiske proces, og planten var igen i stand til at danne rodknolde.

»Det vil sige, at vi i byg og formentlig mange andre afgrøder har receptorer, som kan det samme som NFR1 og NFR5 i bælgplanter, uden at det symbiotiske program skal aktiveres af Nod-faktorer. Lige nu arbejder vi på at finde ud af, hvordan vi kan aktivere symbiosen i byg, majs og kassava, og hvordan vi kan omprogrammere receptorerne i disse planter til at genkende Nod-faktorer, ligesom det sker i bælgplanter,« forklarer Kasper Røjkjær Andersen.

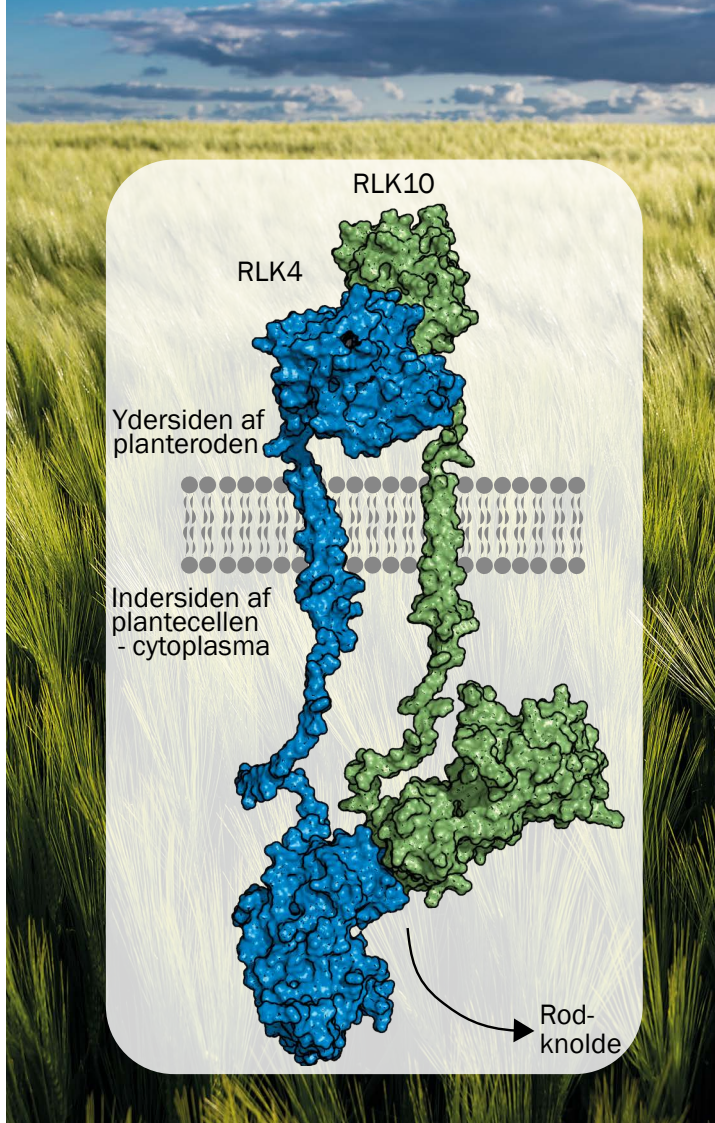
Næsten umuligt at kortlægge strukturen

Det næste skridt i Kasper Røjkjær Andersens forskning – og også det, som han har fået en bevilling fra Det Frie Forskningsråd til at løse – drejer sig om at forstå helt præcist, hvordan Nod-faktorerne binder NFR1 og NFR5 sammen. Her er det dog problemet, at receptorerne er så små, at det er svært at nærstudere dem i et omfang, som gør det muligt at kortlægge den præcise interaktion.

Normalt benytter forskere røntgenkrystallografi til at studere proteiners tredimensionelle struktur, men det er ikke altid muligt, da det kræver, at man først kan danne en krystal af det protein, man vil studere. Forskere kan også bruge den teknik, som hedder cryo-elektronmikroskopi (cryo-EM), men den kan også kun benyttes til at se på proteiner ned til en vis størrelse, som NFR1 og NFR5 stadig ligger under.

»Vi er nødt til at få kortlagt strukturen af receptorerne, der genkender Nod-faktorerne, hvis vi skal have en chance for at finde ud af, hvordan vi kan overføre denne egenskab til receptorerne i afgrødeplanter,« forklarer Kasper Røjkjær Andersen.

I undersøgelsen vil forskerne helt specifikt gøre det, at de vil sætte nanobodies direkte på de relevante receptorer og derved gøre dem



Illustrationen viser, hvordan de to receptorer RLK4 og RLK10 sidder i plantecellernes membran og på den måde danner en forbindelse mellem omgivelserne og plantecellens indre. Forskerne har i deres forsøg overført disse receptorer fra bygplanter til bælgplanter. Grafik: Kasper Røjkjær Andersen / Foto: Colourbox

større og store nok til, at de kan studeres med cryo-EM.

»Det er som at sætte legoklodser på hinanden for at bygge noget, der er større. Tanken er den, at vi skal bygge noget, der er så stort, at vi kan studere det med cryo-EM. Vi har i vores indledende forsøg allerede vist, at det er muligt,« siger Kasper Røjkjær Andersen.

Arbejder mod en bagkant

Kasper Røjkjær Andersens forskning er blot en lille brik i et enormt puslespil, som forskere i disse år forsøger at få lagt på forskellige måder. Kasper Røjkjær Andersen prøver at få andre afgrødeplanter end bælgplanter til at indgå i symbiose med nitrogenfikserende bakterier, mens andre forskere arbejder på andre metoder til at få aktiveret den relevante celledeling og dannelse af

rodknolde. Andre igen arbejder på at facilitere kolonisering med de relevante nitrogenfikserende bakterier.

Formålet med alt forskningsarbejdet er at gøre produktionen af verdens fødevarer mere grøn og mindre klimabelastende, så den kan imødekomme behovet fra en voksende verdensbefolkning. Bakterier og planters symbiose ser ud til at være en del af svaret.

»Der er et kæmpe perspektiv i denne forskning. Vi er på vej mod at blive 10,4 mia. mennesker på Jorden, og med de nuværende teknologier bliver det et problem at brødføde dem alle sammen. Der skal opfindes noget nyt, så vi arbejder med en bagkant. Men vi gør alt, hvad vi kan, for at komme i mål, og vi laver i øjeblikket store fremskridt,« siger Kasper Røjkjær Andersen. ■