



## Нови разработки в областта на геномните технологии и тяхното значение за опазването на биоразнообразието – за и против мнения на страните членки на ЕС

Последните технологични постижения в областта на геномиката предлагат на мениджърите и специалистите **нови инструменти за проучване на приложенията** на тези технологии. Много от тези инструменти са добре разработени и използвани в други области на науките за живота, докато други все още са в процес на разработване. Като се имат предвид тези технологични възможности, изборът на правилния(те) инструмент(и) от инструментариума е от решаващо значение и може да представлява трудна задача. В доста проучвания е показан **потенциала на новите геномни технологии**, които могат да **помогнат за решаването на някои от основните предизвикателства пред човечеството**, като същевременно е дадена информация как и къде могат да се прилагат различните технологии. Фокусът на тези проучвания е специално върху управлението на популациите, подчертаване на потенциала за геномните технологии и обсъждане **възможностите на генното редактиране**, за да се **подпомогне адаптирането на популациите към променящите се среди**. В допълнение, се очертават **потенциални приложения на гена редакция и нови геномни техники за контролиране на инвазивни видове**. Геномният инструментариум предлага **допълнителна полза за усилията за опазване на биоразнообразието**, но също така идва с ограничения за използването на тези нови техники.

„Новите геномни техники“ (NGT) се определят като **техники, които могат да променят генетичния материал на организма** и които са се появили или са били разработени от 2001г. насам, когато е прието действащото законодателство относно генетично модифицираните организми (ГМО). За момента организмите, получени чрез нови геномни техники, са предмет на законодателството за ГМО. **Бързото развитие на биотехнологиите обаче, съчетано с липсата на определения** (или яснота по отношение на значението) на ключови термини, свързани с новите геномни техники, **води до неяснота и несигурност в тълкуването на някои понятия и данни**. NGT и техните продукти се развиват бързо през последните две десетилетия в много части на света, като някои приложения вече са на пазара и се очакват повече приложения в различни сектори през следващите години. Проучване на ЕК потвърждава, че е налице **значителен интерес към научните изследвания в областта на новите геномни техники в ЕС**, но **по-голямата част от разработките се осъществяват извън ЕС**. Някои от **растителните продукти, получени чрез NGT** показват **потенциал да допринесат за постигането на целите на Зеления пакт на ЕС**, и **по-специално за стратегиите „От фермата до трапезата“ и за биологичното разнообразие, както и за**

целите на ООН за устойчиво развитие за по-издръжлива и устойчива хранителновкусова промишленост. Примерите включват растения, които са по-устойчиви на болести и условията на околната среда или въздействието от изменението на климата като цяло, подобрени растежни или хранителни характеристики, намалено използване на продукти за растителна защита и по-бързо растящи култури. Някои заинтересовани страни обаче считат, че тези ползи са хипотетични и са постижими чрез средства, различни от биотехнологиите. По-специално, секторът на пазара за биологични продукти и продукти без ГМО докладва, че те могат да бъдат изправени пред заплахи от съвместното съществуване с нови геномни техники и следователно всяко разглеждане на продукти от NGT извън обхвата на настоящата регулаторна рамка за ГМО би причинило сериозен удар и би навредило за доверието на потребителите в техния сектор.

NGT представляват **разнообразна група от техники**, всяка от които може да се използва по различни начини за постигане на различни резултати и продукти. Следователно **съображенията за безопасност зависят от техниката, начина на употреба и характеристиките на получения продукт** и не могат да бъдат генерализирани за всички техники като цяло. Някои NGT и техните приложения са широко разгледани в експертните становища на Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ) относно безопасността и оценката на риска; като има по-малко информация за други NGT и микроорганизми, модифицирани чрез тези техники или приложения върху животни. За някои NGT ЕОБХ не е идентифицирал нови опасности в сравнение както с конвенционалните, така и с установените геномни техники (EGT). ЕОБХ също така отбелязва, че **случайните промени в генома настъпват независимо от методологията за размножаване**. Вмъквания, заличавания или пренареждания на генетичен материал възникват при конвенционалното размножаване, редактиране на генома, цисгенеза, интрагенеза и трансгенеза. Освен това ЕОБХ е стигнала до заключението, че **неприцелните мутации, които са потенциално предизвикани от сайт насочени нуклеазни техники (SDN), са от същия вид и са по-малко от тези мутации при конвенционалното размножаване**. Поради това в някои случаи целевата мутагенеза и цисгенезата носят същото ниво на риск като конвенционалните техники за размножаване. Експертните становища на равнище ЕС и на национално равнище отбелязват **необходимостта от гъвкавост и пропорционалност при оценката на риска**, въпреки че не всички заинтересовани страни споделят това мнение. Друг важен аспект е **необходимостта от разработване на процедури за оценка на риска**, които са специфични за NGT. ДЧ са изразили **различни, понякога противоположни мнения по отношение на нивото на безопасност на NGT и техните продукти**, както и относно необходимостта и изискванията за оценка на риска. Оценката за всеки отделен случай на употреба на NGT обаче е широко призната като подходящ подход. Настоящата регулаторна система включва **предизвикателства** при правоприлагането в ЕС, свързани по-специално с **откриването на продукти, резултат от NGT**, които не съдържат чужд генетичен материал. Въпреки че съществуващите методи за откриване на генетични модификации могат да открият дори малки изменения в генома, това не потвърждава непременно наличието на редактиран продукт; същото изменение би могло да бъде получено чрез конвенционално развъждане и размножаване, което не е предмет на

законодателството за ГМО. Това е проблем за правоприлагащите органи и операторите. Освен това за заявителите, които искат разрешение, би било трудно и дори невъзможно в някои случаи да изпълнят законното изискване за представяне на надежден метод за откриване. Допълнителните системи за проследяване изглежда не предлагат решение на това предизвикателство и крият редица ограничения. С оглед на различния регулаторен надзор върху NGT в други държави горепосочените трудности биха могли да доведат до търговски ограничения и смущения и да поставят операторите от ЕС в неблагоприятно конкурентно положение, с допълнителни отрицателни последици. Това би могло да доведе и до създаването на **технически пречки пред търговията**, което може да доведе до спорове между ЕС и неговите търговски партньори. Регулаторните пречки биха засегнали по-специално малките и средните предприятия и малките по мащаб оператори, които искат да получат достъп до пазара посредством продукти, получени чрез нови геномни техники. **Използването на NGT поражда и етични опасения**, но също така и липсата на възможности в резултат на неизползването им. Въз основа на констатациите от много проучвания повечето от изразените етични опасения се отнасят по-скоро до начина, по който се използват тези техники, отколкото до самите техники. В държавите членки въпросите, свързани с NGT, са дискутирани открито на кръгли маси и организирани научни форуми или от различни институции, което спомага за повишаване на обществената осведоменост и разбиране. **Общественото възприятие за новите биотехнологии е от ключово значение за тяхното навлизане на пазара.** Разбирането и осведомеността на потребителите им позволяват да направят информиран избор, така че **предоставянето на информация за потребителите (напр. чрез етикетиране) е от ключово значение.** Заинтересованите страни обаче имат противоположни мнения както относно необходимостта от продължаване на етикетирането на продуктите, получени чрез NGT, като ГМО, така и относно ефективността на това етикетиране при информирането на потребителите. Трябва да се отбележи, че някои от новите техники създават нови предизвикателства за регулаторната система. Оценките на риска и експертните становища на компетентните институции и операторите също така са стигнали до заключението, че тъй като е малко вероятно темпът на иновации в глобалния биотехнологичен сектор да се забави, е слабо вероятно да се гарантира, че законодателството продължава да е актуално. Следователно основният въпрос е **дали законодателството е все още подходящо за целта или се нуждае от актуализиране в светлината на научния и технологичния напредък.** Докладваните мнения обаче са противоречиви по въпроса. Следва да се разгледат възможните инструменти на политиката, които да направят законодателството по-устойчиво, съобразено с бъдещето на технологиите и еднакво прилагано. Всяко по-нататъшно действие на политиката следва да бъде насочено към извличане на ползи от иновациите, като същевременно се обръща внимание на опасенията. **Една изцяло основана на безопасността оценка на риска може да не е достатъчна за насърчаване на устойчивостта и да допринесе за постигането на целите на Европейския зелен пакт, и по-специално стратегиите „от фермата до трапезата“ и за биологичното разнообразие; ползите, допринасящи за устойчивостта, също ще трябва да бъдат оценени, така че може да е необходим подходящ механизъм, който да съпътства оценката на риска.** NGT се определят като „техники, които могат да променят

генетичния материал на организъм, съобразно Директива 2001/18/ЕО на ЕС“. В настоящият обзор са разгледани приложенията на NGT с цел запазване на биоразнообразието на популациите и използването на NGT при всякакъв вид растения, гъби, животни или микроорганизми.

**Въпреки текущите мерки за предотвратяване на загубата на биоразнообразие**, все още се губят много видове с тревожна скорост (*Turvey and Crees 2019; WWF 2020*). Целите за спиране на тази загуба, определени от Конвенцията за биологичното разнообразие, които трябва да бъдат постигнати до 2020 г., **все още не са постигнати**. Понастоящем са разработени и вложени новите цели в Конвенцията за периода след 2020 г. и се обсъжда стратегията на ЕС за биологичното разнообразие, като се формулират амбициозни цели и етапни цели. Въпреки това не е толкова ясно как биха могли да бъдат постигнати. Междувременно природозащитните организации се стремят да намерят инструменти за подобряване и решаване на много от предизвикателствата пред опазването на биоразнообразието в световен мащаб, като например управлението на малките популации или контрола на инвазивните видове. В същото време в областта на молекулярната биология се провежда технологична революция, която дава нови възможности за екраниране, манипулиране и дори редактиране на геномния материал в популациите. Тези технологични постижения се разглеждат като потенциални възможности за опазване на биоразнообразието (*Breed et al. 2019; Hohenlohe et al. 2021*). Докато областта на синтетичната биология все още е щикотлива тема, обект на бурни дебати (*Piaggio et al. 2017*), проектите за опазване на биоразнообразието могат да се основават на съществуващите знания в други области на биотехнологията, като подходите за отглеждане на животни или растения, прилагани в селското стопанство и животновъдството (*McLean-Rodriguez et al. 2021*).

Фокусът на настоящият материал е върху четири важни цели: (1) управление на малки популации, (2) възстановяване и увеличаване на генетичното разнообразие, (3) подпомагане на адаптирането към променящите се среди и (4) управление на инвазивните видове. Обсъждани са основните техники на геномния скрининг, клонирането, редактирането на гени и генното задвижване, като са дадени примери от различни растителни и животински видове. Предоставени са и някои ключови въпроси, които трябва да бъдат зададени преди започване на проект за опазване на биоразнообразието (фиг. 1), и е представен преглед на осъществимостта и предизвикателствата на тези техники за постигане на различните цели (фиг. 2).

## Управление на малки популации с помощта на геномни инструменти

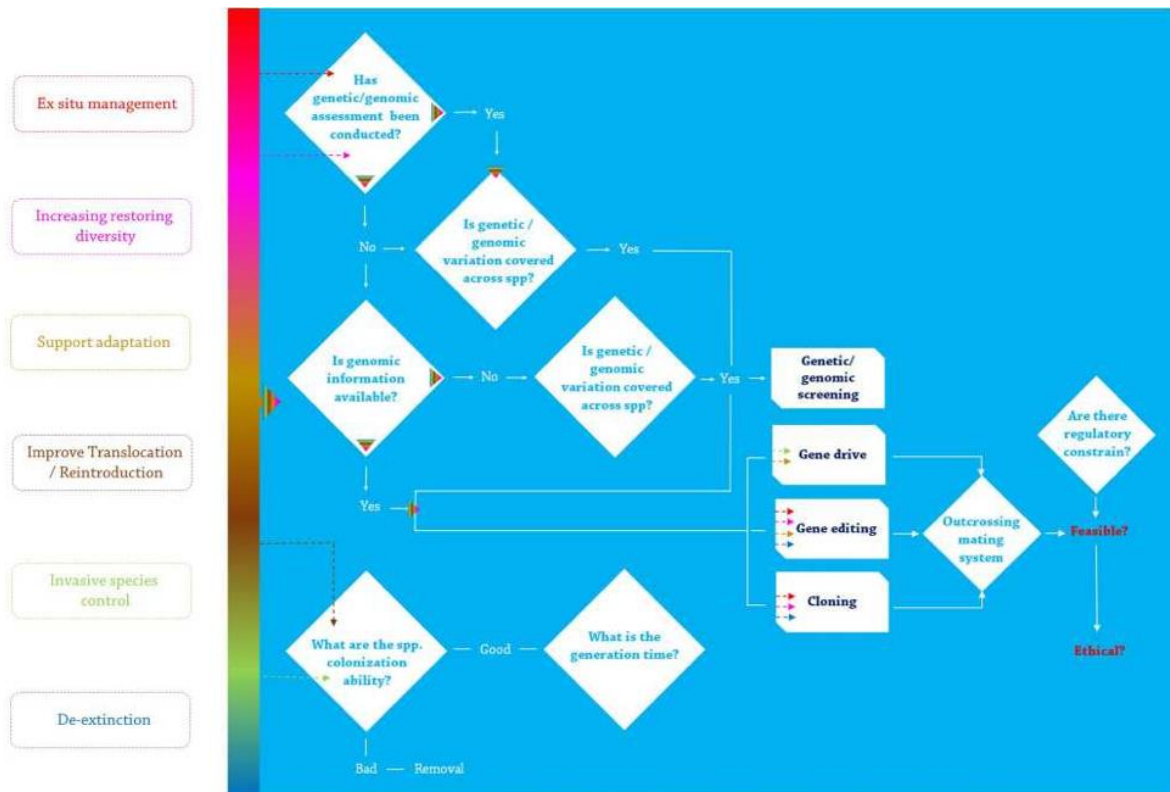
Управлението на малките популации е ключов инструмент за опазване на популациите и се развива с бързи темпове през последните десетилетия в отговор на ескалиращата криза с биологичното разнообразие (Цел 12 от Конвенцията за биологично разнообразие). Много популации са толкова малки и фрагментирани, че са уязвими към генетичната и демографската стохастичност и не могат да се възстановят сами, дори когато антропогенните заплахи, пред които са изправени, могат да бъдат успешно

елиминирани или ограничени (Gilpin and Soule, 1986). Поради **ограничения си (ефективен) размер на популацията** малките популации губят **генетично разнообразие** с течение на времето, което ги прави **склонни към инбридинг**. В тези ситуации **ефективното опазване изисква стратегия, която включва най-подходящите дейности за управление на популацията**, подбрани от редица варианти в условията *ex situ* и *in situ* (Traylor-Holzer et al. 2019). Независимо дали е *ex situ* или *in situ*, работата следва **многоетапна процедура, като се започне от определяне на необходимостта и определяне на ролята на действията за управление на популациите, определяне на измерими цели, оценка на алтернативните (генетични) инструменти, методи и процедури, наблюдение на напредъка на определените генетични цели и адаптиране, когато е необходимо**. Геномиката вече има силата да революционизира начина, по който се подхожда към тези стъпки (Russello u Jensen 2018; Supple and Shapiro 2018) чрез **по-подробна оценка на генетичната история и статуса на *in situ* и *ex situ* популациите**.

### **Определяне на *ex situ* популациите и тяхната връзка с *in situ* популациите с помощта на геномиката**

Днес, *ex situ* програмите за опазване биоразнообразието на популацията често **разчитат изцяло или частично на съществуващите колекции от живи индивиди, гамети, сортови растителни семена, или тъкани и кръвни проби**. Геномните техники позволяват да бъдат **открити вариации на ДНК последователността при единични нуклеотиди** (т.е. полиморфизъм в един нуклеотид: SNP), което може да се използва за **оценка на избора на родителски индивиди** (Gomes Viana et al. 2018; Frandsen et al 2020; Ogden et al. 2020; Wei u Jiang 2021) и за **определяне на насоки за това как да се увеличат нивата на генетичното разнообразие и за свеждане до минимум генетичното сходство** (Bragg et al. 2020) чрез селектирано добавяне на **непредставени генетични линии** (Wildt et al. 2019; Galla et al. 2020; Miller et al. 2010). **Ефективността на управлението *ex situ* се основава отчасти на задълбоченото познаване на таксономичния статус на вида и на най-новите данни за демографската история**. За много видове, които участват опазването на биоразнообразието, тази **информация липсва или е непълна, а геномиката е доказала ключовото си значение за попълване на пропуските в знанията** (напр. Frandsen et al. 2020; Robinson et al. 2021) и **осигуряваща вземането на навременни и адекватни мерки** (Barbosa et al. 2018) като се започне например от събиране на почти всякакъв вид проби (напр. музейни колекции и от биобанки; Baveja et al. 2020). По същия начин **включването на специфични за видовете геномни анализи създава невидими възможности за постигане на предварително определени дългосрочни цели за опазване на биоразнообразието, независимо дали става въпрос например за увеличаване на генетичното разнообразие или за свеждане до минимум на инбридинга, дори ако е известно малко за сродността на индивидите**. Геномните данни за SNP започват да се използват за **допълване или дори замяна на липсващи или непълни родословия, за да се осигурят надеждни данни за насочване на усилията, свързани с развъдната дейност и запазването на конкретни фенотипни белези или вкарването в популацията на нови**

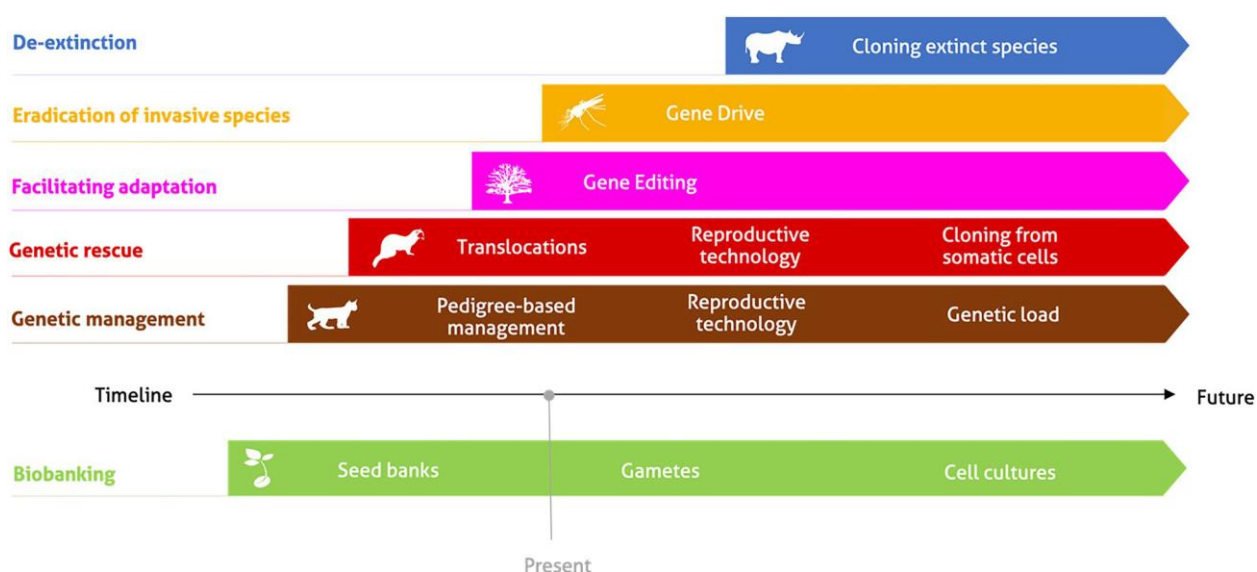
такава (Galla et al. 2020). Едновременно с това геномните данни ще **направляват оптималните процеси като напр. хибридизация или потенциал за адаптация, съобразно референтен генофонд на популацията *in situ***. По този начин съвременното управление на популацията може и следва да **насърчава тясна връзка между усилията за опазване на популациите *ex situ* и техните диви типове (Boscari et al. 2021)** и да бъдат включени в цялостната стратегия за опазване на един или повече видове (IUCN; Pritchard et al. 2012; Byers et al. 2013).



**Фиг. 1.** Геномен и биотехнологичен инструментариум за опазване на биоразнообразието. Основни проблеми с опазването на популациите и биоразнообразието им и най-важните въпроси при започване на геномни изследвания.

Малките *in situ* популации, или остатъчни, или повторно въведени, са засегнати от същите отрицателни процеси, които засягат популациите *ex situ* (напр. загуба на генетично разнообразие и натрупване на инбридинг), така че същите общи принципи, използвани за генетично управление в последните, могат да бъдат приложени като шаблон/матрица. Те включват **максимизиране на размера на първичната популация и управление на генния поток; управлението на прецизното развъждане** обаче често е невъзможно. Същото се отнася и за управлението *ex situ* популациите от някои животински видове, като например много водни видове, някои видове примати или чифтокопитни, живеещи в големи стада, където отделните родословия са неизвестни и препоръките за размножаване са трудни. **За растенията банките за семена**, т.е. съхраняването на семена, са **най-популярният начин за опазване *ex situ* популациите** поради лесното съхранение, ниските разходи и ниските рискове от заразяване или влиянието на други фактори (Schoen and Brown 2001).

Въпреки това, събирането и оформянето на колекциите от семена може да бъде проблематично за видове с ниска продължителност на живота, трудно култивиране или ниска степен на покълване. За тези видове се прилагат *ex situ* методи, като живи колекции, например в ботаническите градини. В допълнение към същите отрицателни генетични процеси на малки и изолирани *in situ* популации, ***ex situ* популациите от растения крият риск от местно адаптиране към неестествени, „градински“ условия.** За да се сведе до минимум рискът от адаптиране към неестествените условия, се предлага „*quasi in situ*“ консервация - *ex situ* колекции растения, отглеждани в естествена среда (Volis u Blecher 2010), което се явява като компромис между *ex situ* и *in situ* „консервация“. **В комбинация с геномни техники за наблюдение на генетичната вариация през следващите поколения това може да осигури успешна интегрирана стратегия за запазване на биоразнообразието за растенията.**



**Фиг. 2:** Осъществимост на целите и на различните геномни и биотехнологични инструменти. Всяка линия и цвят представляват един от основните проблеми, свързани с опазването на биоразнообразието.

### Подобряване на управлението и мониторинга на популациите чрез геномика

Свеждането до минимум на цялостната генетична връзка в рамките на популациите (т.е. базирано на педигрето родословно размножаване) значително намалява темпото, с което се губи разнообразието, и се превръща в метод за избор за управление на малките популации (Lacy et al. 2012; Che-Castaldo et al. 2021). По необходимост родословният подход е изграден на база предположения като липса на връзка между родителските линии и липса на подбор (Frankham 2008; Hogg et al. 2019). Следователно много програми за размножаване и развъждане ще се възползват от генетичните скрининги, за да: i) компенсират разликите между теоретичните и реализираните родствени връзки (Grueber et al. 2021), ii) определяне на произхода и скрининг за хибридизация (Howard-McCombe et al. 2021), iii) откриване на клонална репродукция (напр. много растения и апомиктични видове (Brown and Marshall 1995),

iv) **направлявано размножаване или транслокация на видове**, за които индивидуалното водене на документация и като такова възстановяване на родословието и/или оценка на родство (исторически) липсва, е неточно или трудно, напр. групово управлявани видове (*McLennan et al. 2020*), (v) **оптимизиране на здравния профил и устойчивостта чрез директен скрининг за генетични или наследствени заболявания** (*Storfer et al. 2018; Hohenlohe et al. 2019*) или поддържане на групов висок имунитет (*Savage and Zamudio 2011*) и (vi) **гарантиране, че генетичното разнообразие, уловено в популациите *ex situ*, представя това на популацията *in situ*** (*Kleinman-Ruiz et al. 2019; Wei and Jiang 2021*).

**Геномните инструменти като движещи сили за бъдещото управление на биоразнообразието в популациите и „биобанкиране“**

Развитието и увеличаването на новите разработки в областта на **геномните анализи**, сравнени с традиционните генетични инструменти, **осигурява допълнителна информация за геномните региони, които са в процес на подбор** (напр. *runs of homozygosity* (ROH) и **наличието/липсата на вредни мутации** (*Hohenlohe et al. 2021*). Такива генни локуси могат да бъдат геномни участъци, произхождащи от хибридизация или липсващи големи участъци от генома, или малки части от генома, отговорни за селекцията. Управлението на популацията в отделни групи може да се осъществява въз основа на еволюционни и геномни различия.

**Геномната революция** също така дава **възможност за директно идентифициране на желаните гени и алели, както и за прехвърляне на тези адаптивни гени за създаване на нови сортове/видове и придобиване на нови фенотипни характеристики**, както е доказано ефективно за подобряване на растителните култури и животинските видове (*Wambugu et al. 2018*). Освен това **управлението на колекциите *ex situ* от растителни генетични ресурси** може да се **възползва от скрининга на целия геном и наличието на асемблирани референтни геноми** за почти всички основни видове култури, като така се преодоляват проблемите на възпроизводимостта (*Mascher et al. 2019*).

**Широката приложимост на геномиката** и новите геномни техники за подобряване на управлението на опазването на биоразнообразието обаче **често е ограничена от липсата на достатъчно проби от настоящите популации и техните (диви) предци**. Техниките за биобанкиране са подходящи за животни и растения (*Heywood, Iriondo 2003*), включващи **банки за семена, *in vitro* съхранение** (бавен растеж и криоконсервация), **поленови банки, криоконсервация на тъкани, съхранение на ДНК и поддържане на живи колекции** в ботанически градини и зоопаркове (*Thormann et al. 2006*). Регионалните биобанки в зоологическите градини и аквариумите (напр. Европейската асоциация на зоологическите градини и аквариумите (*EAZA Biobank*) и биобанките за семена (напр. *Millenium Seed Bank*) са **много ценни както за научните изследвания, така и за управлението на популацията чрез поддържане на генетичното разнообразие** (*Howell et al. 2021*) или дори „съживяване“ на изгубени генетични линии или отпаднали фенотипни белези. **Добавянето на геномна**



информация, напр. SNP генотипове, към информацията, свързана със записите на съхраняваните проби, може да допълни и коригира традиционните метаданни и да послужи като „молекулярен баркод“ (*Digital Sequence Information (DSI)*). Подобен уникален отпечатък/баркод ще допълни конвенционалните банки за проби с био-цифрови ресурсни данни, като така ще се съчетае съхранението на консервираните материали с тяхната геномна и молекулярна характеристика. Наред с подобряването на управлението на колекциите, големия обем от информация за генотипа за всички присъединени видове ще подчертае дубликатите и пропуските в обхвата на извадките (*Mascher et al. 2019*). Някои нови инициативи в този контекст като напр. проектът *DivSeek*, <https://divseekintl.org>, съчетани с потенциалът на новите геномни технологии, биха могли да доведат до промяна на парадигмата в използваемостта на колекциите от био- и крио-банки и да преодолеят различията между различните видове данни.

### **Въпроси, които трябва да бъдат разгледани при управлението на малки популации**

За някои (предимно емблематични) видове геномните данни вече предоставиха полезни прозрения за менажиране на *ex situ* популациите. Въпреки че списъкът на видовете, които могат да се възползват от геномните скрининги, се увеличава, недостигът на налични ресурси, като например референтни геноми и проби от популации *ex situ* и *in situ*, често възпрепятства оценката на това как настоящите нива на генетично разнообразие се сравняват с историческото или настоящото *in situ* разнообразие.

- **Кои геномни инструменти ще спомогнат за осигуряване на необходимите данни (напр. кодиране, не кодиране, цял геном за сканиране за нивата на инбридинг и адаптивния потенциал), за да се отговори на управленските въпроси в рамките на *in-* и *ex situ* рамката?**

Няколко популации и изследователски въпроси са били или понастоящем генерират данни за диви растения и животни, които потенциално биха могли да бъдат използвани за подобряване на геномното управление на популацията. Едно от предизвикателствата, които трябва да се преодолеят обаче, е как да се интегрират и да позволят сравнения между данните, избрани за различни времеви периоди или географски обхвати с различни технологии.

- **Как може да се гарантира, че различните видове данни могат да бъдат интегрирани и да се правят сравнения с подходящи референтни популации?**

Понякога повече данни невинаги е по-добрият вариант, а изискваните данни могат да бъдат в голяма степен зависими от базите данни.

- **Какъв е идеалният обем данни (напр. брой на SNP), необходими за отговор на въпроси, които с течение на времето водят до разработване на програма за**

**развъждане, например високите родствени връзки в рамките на популацията изисква по-голяма нужда от информативни SNP?**

В зависимост от въпроса(ите) за опазване на биоразнообразието, на които трябва да се отговори, размера на популацията, стратегията за управление и ресурсите, е важно да се обмисли честотата и количеството на вземането на проби.

- **Колко и кои съществуващи популации и/или индивиди, както и исторически колекции, трябва да бъдат включени в извадката, за да дадат отговори, които могат да помогнат за насочване на действията по опазване на биоразнообразието?**

Трябва да се проучи дали извадките са свързани с метаданните.

- **Свързани ли са демографски, медицински или други релевантни данни с проби/индивиди чрез бази данни (напр. *Zological Information Management System (ZIMS)* или *BGCI PlantSearch*), които биха могли да се използват за по-добро разбиране на дадена популация?**

И накрая, как могат бъдещите съображения и потребности да бъдат включени в плана за управление на видовете и биоразнообразието им?

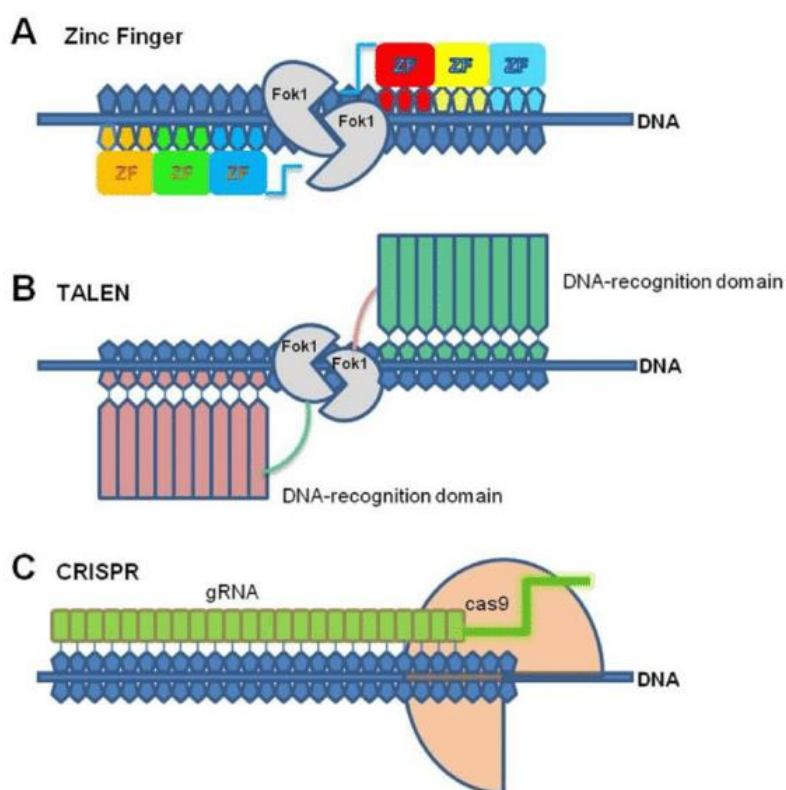
- **Дали криоконсервирането на клетъчни линии или гамети ще бъде от бъдеща употреба?**

## **Генно задвижване**

Националната академия на инженерните науки и медицина (*NASEM*) определя генния дрейв като: „система на наследяване, в която се подобрява процентът на унаследяване на даден генетичен елемент от родител към потомство чрез стандартно размножаване. Като резултат от генното задвижване преференциално се увеличава специфичен генотип или генетичният състав на организъм, който определя характерен фенотип (характерна/отличителна черта), от поколение на поколение и потенциално в цялата популация" (*NASEM 2016, Rode et al. 2019*). Системите за генно задвижване се срещат естествено, но през последните десетилетия изследователите проучват как да разработват генни дрейвовете за модифициране на видовете, за да се справят с предизвикателствата в общественото здраве, опазването или контрола на вредителите в селското стопанство. **Напредъкът на инструментите за редактиране на гени увеличи способността на изследователите да разработват такива механизми** и през последните години се увеличиха успешните експерименти с клетъчни култури, както и при насекоми - по-специално при комарите (*Gantz et al. 2015; Hammond et al. 2016; Kyrou et al. 2018; Simoni et al. 2020, Oh et al. 2021*). Въпреки че общото определение за генен дрейв е съвсем просто, то не представя разнообразието от механизми и приложения на генното задвижване. Например в някои случаи (напр. човешка малария) е необходимо да се разработи механизъм, който може да се разпространи сред големи популации, като същевременно се освободят

относително малък брой индивиди, носещи модификацията (Garrood et al. 2021). Тези механизми се наричат „механизми с нисък праг“, за разлика от механизмите с „висок праг“, които изискват висока честота на индивидите, които извършват промяната, за да се разпространяват и променят фенотипа на популацията. Поради това **рисковете и ползите могат да бъдат различни, а изборът на механизъм за генно задвижване зависи от конкретния контекст**. Например генните задвижвания с висок праг могат да се разглеждат като един от методите за молекулярна изолация и могат да бъдат от полза при мерки и техники, прилагани върху инвазивни чужди видове, които трябва да бъдат ликвидирани на място, което е в контакт с друга територия, където видът не е инвазивен. **Оценката и охарактеризирането на риска трябва да се извършват за всеки отделен случай**, за да се вземат предвид тези особености (Redford et al. 2019).

За да разработят инженерно генно задвижване (за разлика от естествено срещащите се такива), изследователите използват **инструменти за редактиране на гени**. Могат да се използват различни платформи в зависимост от вида на гените и генома, които ще бъдат разработени. **Един от най-често срещаните видове инструменти за генна редакция се основава на ендонуклеазите, които ще разцепят ДНК и ще позволят интегрирането на новата последователност** (Hammond et al. 2016). **CRISPR-Cas9** е често използвана ендонуклеаза за това, но са разработени и други системи. Всички инженерни механизми за генно задвижване са резултат от редактиране на гени, но не всички събития за редактиране на гени биха довели до генен дрейв. В повечето случаи генно редактираните черти се наследяват по нормалния начин, описан първоначално от Мендел: това означава, че за всяко събитие за редактиране на гени има 50 % шанс за едно потомство да го унаследи.



Фиг. 3: Видове техники за геномна/генна редакция

## Какво може геномиката да ни научи?

Наличието на пълни геноми на редица видове разкри съкровищница от информация за биолозите. Инструменти, разработени първоначално за човешки и моделни видове, като лабораторни животни или продуктивни животни, сега могат да се използват и за немоделни видове (*Ekblom u Galindo 2011*) и по този начин да се осигури **богатство от ценни данни за генетичната история и текущото състояние на даден вид** (*Primmer 2009; Ouborg et al. 2010; Shafer et al. 2015; Supple and Shapiro 2018*). **Данните от геномните подходи** вече могат лесно да се използват **за подобряване на управлението на опазването на видовете и биоразнообразието**. Един съвсем скорошен пример, при който политиката за програми за развъждане и укрепване на популациите е базирана на подобен подход, е оценката на потенциалната интрогресия<sup>1</sup> на застрашената бяла гъска (*Anser erythropus*) в Швеция (*Diez-Del-Molino et al. 2020*).

## Какви параметри, получени при пълно геномно секвениране, са от значение за опазването на биоразнообразието на видовете?

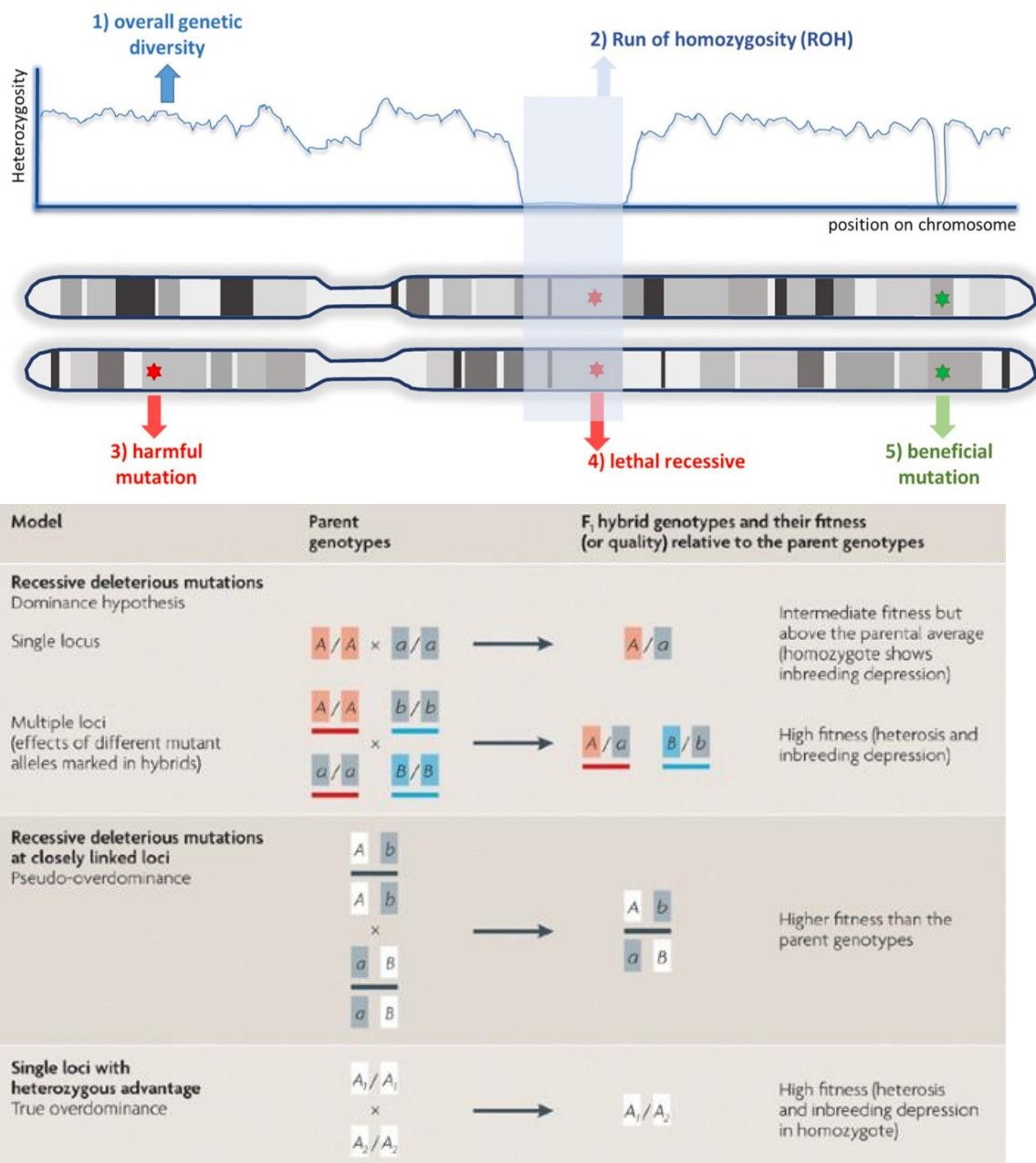
1. **Обща генетична диверсия**, измерена от данните от ре-секвенирането като брой хетерозиготни варианти в индивида, може да се разглежда като заместител на дългосрочния адаптивен потенциал. Естествено, по-голямата част от генетичната вариация ще се окаже непотребна в дългосрочен план, но се смята, че мярката отразява потенциалните генни варианти в популацията, която може да стане адаптивна в бъдеще. Особено когато околната среда се променя бързо, адаптивният потенциал може да определи дали даден вид ще продължи да съществува или ще изчезне. Но в стабилна среда индивидуалната хетерозиготност също може да определи успеха на транслокацията (*Scott et al. 2020*).

2. **Нивата на инбридинг**, измерени като *Runs Of Homozygosity (ROH)* в генома на индивида, отразява степента на кръвно родство в популацията при допускането на произволно чифтосване. Многобройните и дълги *ROH* са предупреждение, че популацията е подложена на инбридинг вследствие на намаляване на популацията, което може да доведе до подтискане на инбридинга (*inbreeding depression*<sup>2</sup>). По този начин *ROH* може да послужи като оценка на генетичното „здраве“ на популацията.

---

<sup>1</sup> *Introgression - the transfer of genetic information from one species to another as a result of hybridization between them and repeated backcrossing.*

<sup>2</sup> *inbreeding depression - Inbreeding depression is the reduced survival and fertility of offspring of related individuals. ... Inbreeding depression implies that genetic variation exists in species for alleles that affect fitness. It is important for the evolutionary maintenance of outcrossing mating systems.*



Фиг. 4: Геномни мерки, оценяващи генетичното разнообразие в генома на даден организъм и различните видове мутации в генома

3. **Генетичното натоварване**, измерено като количеството на прогнозираните вредни мутации в генома на индивида, отразява колко варианта с потенциално отрицателно въздействие върху популацията присъстват. Повечето от тези варианти са рецесивни, поради което вредното им въздействие се проявява само по време на инбридинга (известен като *inbreeding depression*). Тази мярка може да предскаже сериозността на намаляването на пригодността и намаляването на индивидите в популацията, ако се случи инбридинг, и следователно може да се разглежда като система за ранно предупреждение и също така да се разглежда при транслокации (Hansson et al. 2021).

4. **Смъртоносните рецесивни мутации** са особено вредни мутации, които могат да бъдат проблематични при малки популации, когато са с висока честота. Трябва да се вземе предвид, че това е различно от генетичното натоварване, което се смята, че се състои от много варианти с малки ефекти. Тези летални мутации могат да бъдат точно определени в генома и включени в програмите за развъждане или да служат като таргетна цел за редактиране на гени.

5. **Локално адаптивните гени** могат да бъдат определени като селективни гени или силно диференцирани части от генома между свързани популации или видове. Локалното адаптиране е важно, за да се запази популацията, поради което такива генетични варианти следва да се запазят в дадена популация, особено ако индивидите се връщат отново в оригиналното им местообитание. Също така, развъждането с друга популация може да не е желателно, ако съществуват много различия в локалната адаптация.

### **Клониране при животни**

Клонирането на животни произвежда генетично идентични копия на индивиди чрез процес, наречен **ядрен трансфер на соматични клетки (SCNT)**. По време на този процес ядрото на клетка от животното, което представлява интерес, се слива с енуклеазния ооцит на друго животно. Полученият ембрион се имплантира в сурогатна майка. Полученото потомство е генетично идентично с донора на генетичния материал. Процесът по създаване на това животно е нов, защото гамети не се използват. Вместо това соматичните клетки, често наричани фибробласти, се събират от животни и техните ядра се вкарват в дарените овоцити. Събирането на фибробласти е по-малко инвазивно, отколкото събирането на гамети, което е желателно от гледна точка на хуманното отношение към животните (*Ryder, Onuma 2018*). Фибробластите са сравнително лесни за криоконсервиране и за приложения като генна редакция. По този начин **животинските видове, които са изчезнали от десетилетия, но имат криоконсервиран биологичен материал, могат да бъдат клонирани и възпроизведени**. Биологичните хранилища по целия свят са запазили стотици видове през последните 40 години и много от запазените проби са били подходящи материали за клониране или генно редактиране.

Клонирането на застрашени видове изисква модифициран подход към SCNT поради неефективност на процеса. Много овоцити трябва да бъдат събрани от животни, за да се „създаде“ ембрион, който се развива в жизнеспособно потомство. Поради това са необходими много донори на овоцити, за да се произведе един клонинг. За застрашените видове обикновено няма налични донори на овоцити, поради което е предложено **междуспецифично SCNT (iSCNT)**. iSCNT използва **овоцити, дарени от индивиди от тясно свързани видове**. Това **несъответствие между видовете** все още води до по-голяма **неефективност**. Към днешна дата само няколко опита на iSCNT са били успешни в създаването на здрави клонинги (*Borges and Pereira 2019*). **iSCNT е полезен и често използван експериментален дизайн в биологията и биомедицината**, като се правят бързи крачки за преодоляване на тези пречки и несъответствия в

развитието. Понастоящем клонирането е ограничено до използване в биомедицината и научните изследвания в Европейския съюз. Клонирането на продуктивни животни или свързани с тях видове е забранено съгласно директива на ЕС ([https://ec.europa.eu/food/system/files/2016-10/aw\\_other\\_aspects\\_novel-cloning\\_com2013-894\\_final\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/system/files/2016-10/aw_other_aspects_novel-cloning_com2013-894_final_en.pdf)).

### **Използване на биотехнологии, разработени върху домашни видове за опазване на дивата природа и биоразнообразието**

**Геномните изследвания** върху домашните животни проправиха пътя за изучаване на дивите им роднини. Тези проучвания имат **приложения както за *ex situ*, така и *in situ* за управление на популациите**. Например, при домашните видове различни породи могат да се смесват с течение на времето и породите на предците се губят. **Геномната информация може да подпомогне разработването на развъдни програми, насочени към възстановяване на оригиналната генетична вариабилност от породите, които са смесени** (Amador et al. 2014; Fernandez et al. 2016). Подобни подходи са полезни за опазването на малките популации и по-специално на местните породи (Kristensen et al. 2015), но имат потенциала да подкрепят и усилията за опазване на дивата флора и фауна (Hedrick 2010; Miller et al. 2017). Например диви (*Felis silvestris silvestris*) и домашни (*Felis silvestris catus*) котки, кръстосани в Португалия (Oliveira et al. 2008), диви и домашни свине (и двете *Sus scrofa*), кръстосани породи на Иберийския полуостров (Gama et al. 2013) и култивираните орехови плантации се смесват с местни плантации/популации (Hoban et al. 2012). Във всеки случай **домашните популации „заплашват“ дивата популация с генетично доминиране и заселване**. Въпреки че идентифицирането на хибриди вече е възможно с микросателити или SNP, **новите геномни ресурси биха могли да помогнат за идентифицирането на хибридни индивиди и за разграничаването на минали и неотдавнашни хибридни събития с неизвестна преди това точност** (Mattucci et al. 2019). Освен това **биосимулациите могат да бъдат полезни за прогнозиране на резултатите от хибридният генен поток** (Difazio et al. 2012). Доказано е, че това е особено важно за оценката на генния поток от трансгенни растения и култури към техните диви прароднини.

**Изследванията на домашните животни също позволиха разработването на инструменти и придобиването на базови познания, свързани с геномиката, геномното редактиране и запазването на биоразнообразието на видовете**. Тези инструменти са позволили например идентифицирането на произхода на черната пигментация при някои американски вълци в резултат на древна хибридизация с кучета (Anderson et al. 2009), идентификацията на гените, свързани с адаптирането към надморска височина при вълци от Централна Азия (Zhang et al. 2014) или характеризирането на инбридинга на остров Роял (Robinson et al. 2019).

Важно е да се отбележи, че **управлението на домашните популации също позволи развитието на репродуктивните схеми и подходи, които биха могли да се прилагат и за дивите видове**. Те включват **разработването на стратегии за чифтосване, които минимизират инбридинга или увеличават алелното разнообразие** (Fernandez et al. 2016; Lopez-Cortegano et al. 2019), които са приложими

за внимателно наблюдавани и управлявани диви и отглеждани в плен популации. По подобен начин научните изследвания върху домашните видове **позволиха разработването на технологии за асистирана репродукция, които позволиха въвеждането на алелни варианти от една популация в друга**, без да е необходимо да се преместват индивиди, и дори да позволи възстановяването на генетични варианти от отдавна изчезнали и измрели индивиди. Биомедицинските изследвания използват и домашни видове като домашния пор (*Mustela putorius furo*), коне и овце, и тези моделни животни са проправили пътя за доразвиване на репродуктивни технологии, като клониране на диви видове животни като чернокракия пор (*Mustela nigripes*), коня на Пржевалски (*Equus ferus przewalski*) и муфлони (*Ovis aries musimon*). Тези геномни и репродуктивни биотехнологични постижения за домашните видове също могат да се комбинират в бъдеще, за да се „проектират“ геноми с повишена вариабилност, или които показват по-подходящи фенотипове. Въпреки това стриктният подбор на животински или растителни екземпляри за развъждане за определени признаци е на цената на допълнително намаляване на размера на първичните родителски популации със съпътстващо намаляване на ефективния размер на популацията. Селективното размножаване на смесени популации може да се стреми само към възстановяване на вариациите, които все още са фенотипно експресирани, но част от първоначалните вариации може вече да не са налични. В тези случаи може да е възможно да се използва криоконсервиран биологичен материал или банки за семена, за да се въведат отново някои от изгубените генетични варианти в популацията.

Потенциално нов източник на информация, получена от изследвания на биомедицински модели на домашни видове, идва от изследвания на епигенетичната вариация. Епигенетиката се отнася до промени в генните продукти и в крайна сметка фенотиповете на индивиди, които са наследствени, но не са свързани с промени в нуклеиновата киселинна последователност. Бързите адаптации към променящата се среда могат да бъдат предизвикани от епигенетични механизми.

Conservation questions	Advantages of using genomic tools	Case study	Open questions
How can we strive to preserve or increase genetic diversity? What are the genetic criteria for reintroducing individuals from a captive population? Can we estimate the risk of inbreeding depression? Which individuals should be selected for translocations? To what extent does admixture occur in a given population?	Analysing kinship Genetic structuring and admixture can be assessed Genetic analyses reveal levels of genetic diversity and distance across populations Populations history can be inferred, as can genetic load Outcome of translocations can be monitored Identification of hybrids Genetic load and harmful mutations can be assessed	Analysing population history in the kakapo ( <i>Stigops habroptilus</i> ) (Dusseix et al. 2018) Identifying conservation units in <i>Carex scirpoides</i> (Bard et al. 2021) Detecting introgression levels in white-fronted goose ( <i>Anser erythropus</i> ) (Diez-del-Molino et al. 2020) Analysing genetic structure for managing sturgeon ( <i>Huso huso</i> ) (Boscari et al. 2021) Evaluating demography in pygmy hog ( <i>Porcula salviana</i> ) (Liu et al. 2020) Identifying admixture levels and selecting individuals for breeding in Tasmanian devil ( <i>Sarcophilus harrisii</i> ) (McLennan et al. 2020; Grueber et al. 2021) Identifying hybrids in Scottish wild cat ( <i>Felis silvestris</i> ) (Howard-McCombe et al. 2021) Analysing introgression and informing breeding in African taurine cattle ( <i>Bos taurus</i> ) (Ouédraogo et al. 2021) Assessing genetic diversity in the hihi ( <i>Notiomyscus cincta</i> ) (de Villemereuli et al. 2019) Analysing introgression in Oak species ( <i>Quercus chrysolepis</i> ) (Ortego et al. 2018) Mitigating temperature effects through translocations in valley oak ( <i>Quercus lobata</i> ) (Browne et al. 2019) Reviewing genetic diversity in ex situ plant collections (Wei and Jiang 2021) Assessing genetic variation in ecological restoration for two Savannah plant species (Carvalho et al. 2021) Reviewing how genomic information can aid translocations (Seaborn et al. 2021)	Is there evidence for fixation of deleterious mutations in past bottleneck(s)? How does sample size affect detectability of introgression? How sampling protocols be optimised and standardised? How do the fixed harmful mutations affect fitness? Can changes at functional genes be assessed?



Conservation questions	Advantages of using genomic tools	Case study	Open questions
How can we facilitate adaptation?	Identify genotypes which have specific desired traits	Characterising the evolutionary potential in Moroccan goats ( <i>Capra aegagrus hircus</i> ) (Rochat et al. 2021) Identifying temperature tolerant genotypes in wild cocoa ( <i>Theobroma cacao</i> ) (Ceccarelli et al. 2021) Predicting drought adaptation in <i>Arabidopsis thaliana</i> (Exposito-Alonso et al. 2018) Reviewing adaptation in forest trees (Kijowska-Oberc et al. 2020) Reviewing the potential of genomics to predict climate change adaptation in animals and plants (Caplanecq et al. 2020)	What is the breeding system of the given species? Can phenotypes be predicted?
How can we eradicate invasive species?	Potential of targeting invasive mosquitos	No case study yet (see Burt et al. 2018, Redford et al. 2019) Reviewing the application of genomic tools for biosurveillance of invasive species (Hamelin and Roe 2020)	Currently only theoretical applicable—needs to be tested
How to rescue a population with low genetic diversity?	Possibility of alleviating inbreeding depression and mutational meltdown	Quantifying reproductive success in Scandinavian wolves ( <i>Canis lupus</i> ) (Akesson et al. 2016) Estimating levels of inbreeding in Swedish adder ( <i>Vipera berus</i> ) (Madsen et al. 1999) Evaluating biomedical technology in the black-footed ferret ( <i>Mustela nigripes</i> ) (Wisely et al. 2015) Assessing phenotypic traits in the Torrey pine ( <i>Pinus torreyana</i> ) (Hamilton et al. 2017) Reviewing genetic rescue studies (Frankham 2015)	How can we incorporate biobank samples into genetic rescue?
How to assist a population with biotechnology?	If live animals are not available for genetic rescue, alternative sources may be used	Reporting of cloning in mouflon ( <i>Ovis aries musimon</i> ) (Loi et al. 2001) Reporting of cloning in Przewalski's horse ( <i>Equus ferus przewalski</i> ) (Hernandez 2020) Reporting of cloning in black-footed ferret ( <i>Mustela nigripes</i> ) (Imbler 2021) Reviewing genetic mixing and rescue strategies in plants (Hoffman et al. 2021)	What are the limits on the tissue types to be used for adding genetic variability?

**Таблица 1:** Общи въпроси за управление на опазването на биоразнообразието, предимства на геномните инструменти, казуси и съществуващи отворени въпроси

Епигенетичните модификации представляват „извънмолекулен компонент“ на биологичното разнообразие, който свързва геномните секвенции с околната среда и в крайна сметка подобрява идентифицирането и определянето на индивиди, от които ще бъде криоконсервиран материал чрез оценка на адаптивния потенциал на организмите (Rey et al. 2020). Епигенетиката е предложена като **биомаркер за физически условия**, а **нивата на метилиране**, които клетките използват за контрол на генната експресия, могат да бъдат от важно значение за **предпазване от експресия на вредни алели при специфични условия** (Marin et al. 2020). В растенията е доказано, че **ДНК метилирането** регулира множество процеси, като например генна експресия, геномна стабилност и генен отпечатък (Zhang et al. 2018; Gallego-Bartolome 2020) и е възможно да играе **важна роля във фенотипната пластичност и бързите реакции на внезапни промени в околната среда** (Colicchio и Herman 2020). В крайна сметка епигенетиката може да бъде ценна за практиката по криоконсервиране на биологичен материал и като **нов инструмент за определяне на еволюционно значими фактори, които отчитат капацитета на организмите да се адаптират към бързо променящите се среди** (Rey et al. 2020).

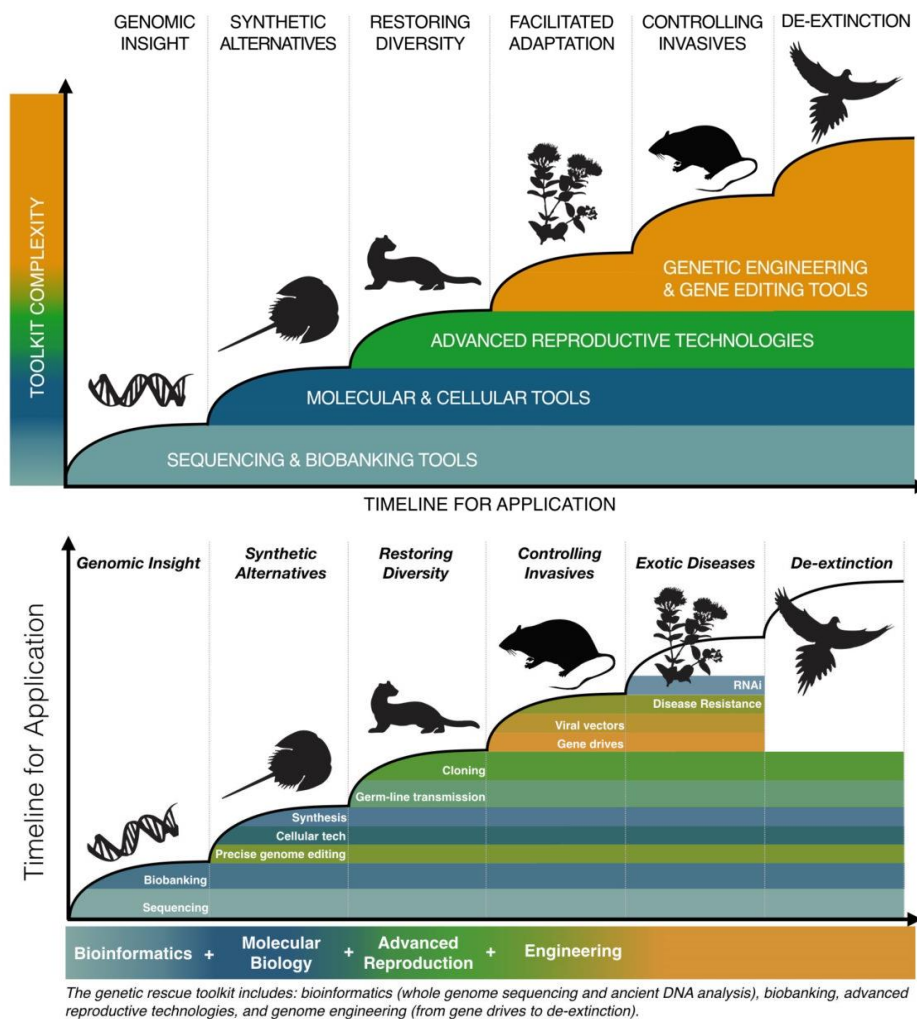
### Кога домашните животни могат да бъдат добри заместващи модели за опазване на родствениите видове от дивата флора и фауна?

Домашните видове, особено продуктивните животни, често са добре проучени и има огромно количество информация за геномни секвенции и репродуктивни способности, които са осъществявани и обновявани постоянно с помощта на новите

геномни технологии. Когато тези видове домашни модели са от същия таксономичен род и са тясно свързани с видовете, пораждащи безпокойство, те могат да бъдат **мощни ресурси за разбиране на целевите диви видове**. Геноми от домашни видове са били използвани и се използват и сега като референция за неанотирани геноми на животински видове от дивата природа (*Hohenlohe et al. 2021*), и за по-добро разбиране на репродуктивните техники (*Comizzoli and Wildt, 2017*). Въпреки че е важно да се разбере, че всеки вид е уникален от екологична, физиологична и поведенческа гледна точка, **домашните видове могат да предоставят важна информация за еволюционно сходни видове**. Например домашните порове са използвани за подобряване на репродуктивните способности както на европейската норка (*Mustela lutreola*), така и на чернокраките порове (*Amstislavsky et al. 2008*). Домашните кучета са използвани като референтен геном за множество сродни видове, включително някои видове лисици (*Urocyon littoralis; Robinson et al. 2016*).

### **Усъвършенстваните геномни и репродуктивни науки са подобрили реинтродукцията, транслокацията и за спасяване на генетичното разнообразие**

Малките популации, които са претърпели инбридинг поради чифтосване между близки роднини, са изложени на риск от *inbreeding depression*, която е резултат от експресията на вредни алели, които могат да се натрупват с течение на времето случайно (генетично натоварване; *van Oosterhout 2020*). Животните с вродена *inbreeding depression* показват намалена жизнеспособност, която се проявява като намалено оцеляване или плодовитост. Например, вълците от скандинавски произход се размножават по-рядко и имат по-малко потомство, което води до намаляване на популацията с течение на времето (*Akesson et al. 2016*). Често се предлагат **две стратегии за намаляване на въздействието на *inbreeding depression* върху естествените популации: „генетично прочистване“ и „генетично спасяване“ (*purging and genetic rescue*).**



**Фиг. 5:** Инструменти и стратегии за намаляване на въздействието на инбридинга и увеличаване на генетичното разнообразие в популациите

Поне на теория, поддържането на малка популация следва да допринесе за премахване на вредните вариации чрез генетично прочистване, като по този начин се намали количеството на генетичното натоварване и *inbreeding depression*. Въпреки това симулациите показват, че методите, насочени към подобряване на генетичното прочистване чрез умишлен инбридинг като цяло не следва да се препоръчва в програмите за опазване на видовете и биологичното разнообразие, тъй като това предполага значително намаляване на ефективния размер на популацията, водещо до тежка *inbreeding depression* в краткосрочен план (Caballero et al. 2017). Инбридинга се облекчава чрез чифтосване на индивиди от инбридинг популацията с други индивиди, съдържащи в генома си характерни алели, които не се срещат в тази популация. Полученото потомство от това чифтосване вероятно ще бъде по-добро от родителското и ще оцелее по-дълго или ще има по-голяма численост. **Популацията се възстановява и расте в резултат на добавянето на генетично уникални индивиди, който процес е определен като „генетично спасяване“** (Ralls et al. 2020). Наблюдава се, че „генетичното спасяване“ се случва естествено, когато имигранти от отдалечена

популация се интегрират в конкретната популация. „Генетичното спасяване“ също е използвано успешно като **инструмент за управление на инбридинг популации**, като се използва транслокация на индивиди, напр. при различни растения и животни. Ако транслоцираните или повторно въведените в целевата популация индивиди са твърде генетично сходни с целевата популация, която се нуждае от „генетично спасяване“, тогава инбридинга няма да бъде намален и няма да се наблюдава повишаване на жизнеспособността. От друга страна, ако транслоцираните индивиди са твърде генетично различни от целевата популация, тогава може да настъпи *outbreeding depression*. *Outbreeding depression* намалява жизнеспособността през следващото поколение в резултат на несъответствия в генетичната съвместимост между два индивида и/или въвеждането на неприспособени гени. Последните постижения в геномиката позволяват на специалистите по опазване на биоразнообразието да разберат по-добре дали кандидатите за преместване са подходящи за „генетично спасяване“. На първо място се предлага геномен скрининг, при който се оценяват генетичното разнообразие, инбридинга и вредните мутации както за популацията, която се нуждае от „генетично спасяване“, така и за потенциалните донори. В идеалния случай тези донори са от различни популации, тъй като това значително подобрява генетичното разнообразие, което може да се използва за спасяване. Тъй като този подход може да увеличи генетичното натоварване на целевата популация, някои автори предлагат да се използват индивиди от частично сродни популации. Въпреки това, *Ralls et al. (2020)* наскоро подчертават ограниченията на тези изследвания и твърдят, че се използват изходни популации с голямо генетично разнообразие. Във всеки случай ще са необходими интензивен мониторинг и стриктни оценки, за да се разработят най-добри практики за прилагане на генетични ресурси и методи за опазване на биоразнообразието.

**Изборът на подходящи изходни популации е от ключово значение за всяка програма за повторно въвеждане на индивиди с нови генни варианти** (*Houde et al. 2015*). За тази цел **геномните данни** могат да предоставят много ценни и преди това недостъпни прозрения за еволюционната и демографската история на целевите и изходните популации (*Hohenlohe et al. 2021*). Програмите за преместване, които имат за цел увеличаване на генетичното разнообразие, следва също така да разглеждат изходните популации от среди, които са възможно най-близки до целевата популация, за да бъде ефективен този подход и за да се намали възможността за неадаптация/*outbreeding depression*. Такава ситуация възниква, когато популациите донори и реципиенти са развили различни адаптивни механизми към околната среда и тяхното потомство е по-слабо приспособено към двете местообитания. Идентифицирането на потенциалната функционална вариация, свързана с жизнеспособността, дава възможност за преки оценки на кандидат-изходната популация за предварително адаптиране към таргетната околна среда и за техния потенциал за аклиматизация към новите среди чрез фенотипна пластичност (*Cauwelier et al. 2018; Muchero et al. 2018*). Въпреки необходимостта да се запазят адаптивните варианти и да се избегне въвеждането на вредни алели чрез транслокациите (*Kristensen et al. 2015*), общата препоръка е да се даде приоритет на цялостното генетично разнообразие и еволюционния потенциал повече от специфичните варианти или адаптации (*Weeks et al.*

2011; Kardos u Shafer 2018). Поради това е необходимо внимателно разглеждане на популациите от алтернативни източници, когато се планират програми за преместване или повторно въвеждане, и трябва да се избягват големи популации с високо генетично натоварване.

„Genetic rescue“ обикновено се провежда с помощта на живи индивиди, които се преместват или от дива популация, или от популация, отглеждана в плен. Технологиите за асистирана репродукция като изкуствено осеменяване или *in vitro* оплождане се използват в управлението на дивата флора и фауна и на популациите, отглеждани в плен от десетилетия и могат да бъдат използвани за „генетично спасяване“ на диви популации. В случай на генетично ценни индивиди, ще се използва биологичен материал вместо живи индивиди за увеличаване на генетичното разнообразие на реципиентната популация и нейния генофонд. Въпреки че е технологично осъществима, тази техника не е била използвана за генетично спасяване на *in situ* популации. Вместо да се използват зародишни клетки, замразена сперма или яйцеклетки, се предлага да се използват не репродуктивните соматични клетки за клониране на генетично ценни индивиди, които след това биха могли да се използват за „генетично спасяване“. Усилията в това направление са довели до **успешни процедури и протоколи, които едва наскоро са използвани за генетично спасяване на коня на Przewalski (*Equus przewalskii*; Hernandez 2020) и чернокракия пор (*Mustela nigripes*; Imbler 2021).**

Типичен пример за подход на „генетично спасяване“ е калифорнийският ендемичен бор *Pinus torreyana Parry*. Видът е един от най-редките борове в света и има само две популации, обитаващи континентална част и островите (Hamilton et al. 2017). Въз основа на изследване на потомството за оценка на фенотипните различия авторите откриват генетични различия, специфични за популацията, като островната популация е намалила генетичната вариабилност в сравнение с континенталната популация. Хибридите F1 (кръстоска между двете популации) показват повишена жизнеспособност (височина и по-висока плодовитост) в сравнение с родителските линии. В този контекст авторите предполагат, че **вътрешноспецифичната хибридизация може да помогне за възстановяването на генетичната вариация**, способна да се справи с промените в околната среда, като по този начин се запази потенциалът за еволюция на редките видове и се реализира „генетично спасяване“.

Генетичното управление се основава на **принципа за свеждане до минимум на родството**, така че приоритетът за размножаване, сдвояване и освобождаване се определя от матрицата за родство, подпомагана от маркера. Широкомащабните текущи проучвания върху целия геном имат за цел да идентифицират потенциално вредни мутации, които са от значение за *inbreeding depression*, както и конкретни генетични варианти, свързани със специфични черти, информация, която в крайна сметка може да бъде приложена при управлението на видовете. Например един от най-застрашените видове котки в света, по неотдавнашно преброяване през 2019 г. доведе до над 800 диви индивида, живеещи в две останали популации и шест области на повторно въвеждане, илюстрирайки много успешно възстановяване на видовете, подпомогнато от прилагането на геномна информация и молекулярни инструменти.

**Как може да помогне геномната информация?**

гр. София, 1618, бул. ”Цар Борис III” № 136  
<http://corhv.government.bg>, [corhv@mzh.government.bg](mailto:corhv@mzh.government.bg)  
тел. 02/4273056

Ф-НК-7.6-5/0



За целевата популация е важно да се знае кои мутации причиняват намаляване на жизнеспособността, когато са в хомозиготно състояние (т.е. кои мутации засягат генетичното натоварване). Потенциалните животни-донори се подлагат на генетичен скрининг за петте важни геномни мутации (*Fitzpatrick u Funk 2019; Fitzpatrick et al. 2020*). Тези геномни техники могат да се използват за точно оценяване на различните генетични области и оценка на инбридинга в популациите, те са използвани за разработване на схеми за развъждане с цел подбор срещу вредни алели или за увеличаване на хетерозиготността и имат потенциала да увеличат дългосрочното оцеляване на породите и дивите популации с оглед на изменението на климата. За оценка на цялостния адаптивен потенциал се използва секвенирането на целия геном или целогеномен скрининг. **Геномните анализи на изходните популации** биха могли също така да **позволят идентифицирането на генетични вариации**, които са в основата или са свързани с черти, **които повишават жизнеспособността** по-специално на дивите популации в околната среда. Въпреки че има няколко примера за успешна идентификация на генетичната основа на определени признаци в естествените популации, това остава трудна задача, въпреки нарастващият брой аотирани референтни геноми (*Kardos et al. 2016*). Този проблем е особено съществен за застрашените видове, тъй като те крият сериозни ограничения по отношение на размера на пробите, фенотипните данни и експерименталните подходи. Тук популациите *ex situ* могат да бъдат от полза, тъй като предлагат множество възможности за комбиниране, например поведенчески и демографски данни с геномни профили, и достъп до проби или директно от зоологически градини, аквариуми и ботанически градини, или от големи колекции в биобанки (като например *EAZA Biobank* или *Millenium Seed bank*).

Не на последно място **транскриптомните анализи** могат да дадат **информация за способността на определени индивиди или популации да променят нивата на експресия на определени гени в отговор на стресови фактори в околната среда**, очаквани при ре-въвеждането на нови индивиди, или при кандидат-реактивни гени, когато те са били предварително идентифицирани или когато те остават неизвестни (*He et al. 2016*).

Предизвикателство за откриване на генните варианти или мутациите съществува при положителен подбор, дължащо се на местна адаптация на видовете. Разработени са най-нови геномни методи за оценка на потенциалното въздействие на мутациите, които присъстват в геномите, без да са необходими фенотипни методи за охарактеризиране на вредното им естество. Таковава **биоинформатично идентифициране на вредни алели** разчита на еволюционното опазване, физикохимичните свойства и предполагаемия им ефект върху функционалността на гените или комбинирани подходи. Въпреки че вредността на единичните варианти продължава да е трудно за предвиждане само от данните от секвенирането, **когато се комбинират различни технологии и научни сфери**, те могат да **предоставят надеждна оценка на генетичното натоварване**.

Преди започване на каквито и да е програми за запазване на генетичното разнообразие на популациите, трябва да се разгледат няколко въпроса. Както при всяко предприето действие и мерки за опазване на биоразнообразието, **дефинирането на проблема**, който трябва да бъде решен, е **от първостепенно значение**. Първият въпрос, който трябва да се разгледа, е:

- **Има ли спад на популациите и броя индивиди в тях поради генетична причина, т.е. има ли намалена жизнеспособност на популацията?**

Предишни проучвания включват анализ на динамиката на размера на популацията и инбридинга (*Akesson et al. 2016*), или оценка на корелациите между жизнеспособността и нивата на инбридинг (*Santymire et al. 2019*). Геномните методи все по-често осигуряват **надежден метод за идентифициране на неприспособимост на популациите/индивидите или наличието на рецесивни алели.**

- **Геномите били ли са секвенирани за целевите видове, така че да могат да бъдат анализирани различни популации и да бъдат оценени потенциалните неприспособимости?**

Исторически погледнато, живи индивиди или семена от различни популации са били източник на геноми за „генетично спасяване“. Ако има налични геномни последователности на живите индивиди, може да се използват биоинформатични инструменти, за да се определят потенциалните вредни мутации в генома и да се изберат индивиди с най-ниско натоварване. Като алтернатива на такива диви или домашни индивиди, напредналите репродуктивни науки дават възможност за използване на криоконсервиран биологичен материал (*Comizzoli u Wildt 2017*) или дори фибробласти (*Wisely et al. 2015*). В крайна сметка изходният материал може да бъде под формата на живи организми или проби от биобанки от популации *ex situ* или *in situ*.

- **Съвместими ли са геномите на източника с генния фонд на популацията-реципиент и имат ли потенциал да увеличат жизнеспособността и?**

Напредъкът в геномните анализи ще даде възможност за по-добро съвпадение между източниците и реципиентите на генните пулове, така че *“inbreeding depression”* да се намали. В допълнение индивидите с високо генетично натоварване могат да бъдат идентифицирани като неподходящи за източник на транслокация посредством новите геномни техники (*Kyriazis et al. 2021*). Поради това е желателно да се направи скрининг на геномните секвенции не само от популацията реципиенти, но и от изходната популация.

- **Какъв технически експертен опит е необходим за интегриране на генните групи от източниците в реципиентите?**

Транслокацията при дивите животни или растения имат различни изисквания от тези, животни или растения от развъдни станции, отглеждани в плен или в ботанически градини. „Генетичното спасяване“ от криоконсервирани проби е сложно от технологична гледна точка и изисква изпитвания за осъществимост на различни нива. Например за всеки вид, за който ще се прилага конкретната геномна технология, тя трябва да бъде оптимизирана съобразно репродукцията, вида криоконсервация, изкуственото осеменяване, провеждане на *in vitro* процедури и клониране.

## • Как ще се измерва успехът?

„Генетичното спасяване“ предполага, че успехът не е само увеличаване на размера на популацията, но и увеличаване на възпроизводството, оцеляването и потенциала за адаптация в целевата популация. Поради това мониторингът на популациите от реципиенти за степента на жизнеспособността на популацията е от ключово значение. Геномните и биотехнологичните инструменти обаче са само малка част от общия набор от инструменти.

## Улесняване на адаптирането на видовете/популациите към променящите се среди чрез биотехнологични приложения

Генетичното разнообразие е основна предпоставка за приспособяването на всички видове към променящите се условия на околната среда. По този начин устойчивостта на екосистемата зависи в голяма степен от генетичната вариация (Hoban et al. 2021; Stange et al. 2021). Геномните инструменти сега позволяват да оценим потенциала за адаптиране на видовете и да идентифицираме конкретни локуси, които са в основата на адаптацията. Такава геномна информация се използва при отглеждането и развъждането на животни и растения с търговска цел, за да се предскаже фенотипът на индивидите и да се идентифицират потенциалните промени във фенотиповете. Едва наскоро геномните инструменти се прилагат при диви популации, например за идентифициране например на промяната в периода на снасяне на яйца при големия синигер (*Parus major*) (Gienapp et al. 2019) или идентифициране на множество морфологични характеристики като тегло, дължина на рога или цвят на козината при овце (*Ovis aries*) (Ashraf et al. 2020) или толерантност към замръзване и суша, толерантност към по-топъл климат или солеви стрес при растения и дървета. Геномните техники могат да се използват не само за идентифициране на специфични варианти, представляващи интерес, но генетичният код може да бъде променян и чрез целенасочени промени в генома на организма, известен също като редактиране на генома. Този подход обхваща голямо разнообразие от инструменти, използващи специфични за целта ензими. Понастоящем системата CRISPR/Cas9 се използва широко в много научноизследователски области (като селското стопанство и медицината) и опитите за промяна или въвеждане на гени с цел подобряване на оцеляването на видовете срещу специфични заплахи, като болести или изменение на климата, се обсъждат широко. Гъвкавостта, простотата и ефикасността на CRISPR технологиите предлагат на изследователите недостижими нива на прецизност и контрол върху геномните модификации, което ги прави най-широко използвани сред инструментите за редактиране на генома (BewG et al. 2018). Въпреки че прилагането на инструменти за редактиране на генома в много диви животински видове все още е в начален стадий, то вече е доказано ефективно при горски дървета като тополи (*Populus*) (Elorriaga et al. 2018) и дървесни трайни насаждения (Tsai u Xue 2015) и можем да очакваме нарастващи геномни знания за разработване на стратегии за създаване на устойчивост към болести (Naidoo et al. 2019; Dort et al. 2020). Повече за

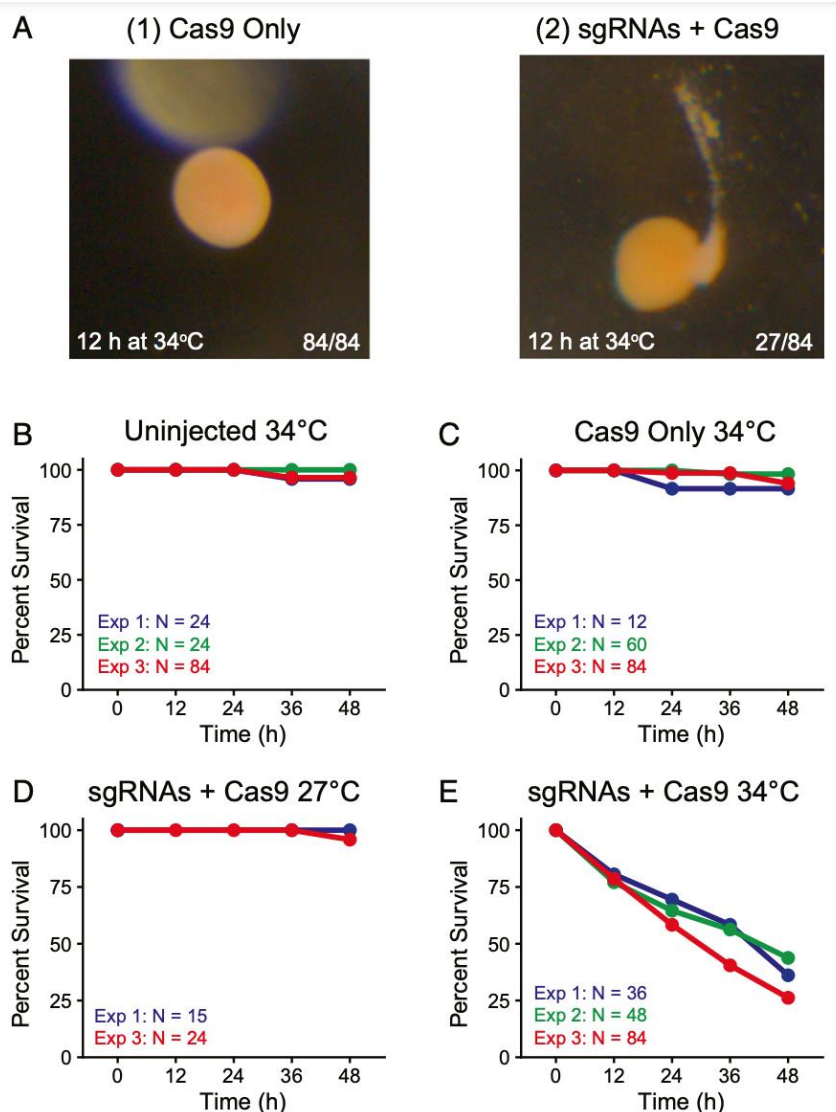


тези технологии, прилагани върху дървесни диви видове може да бъде достъпена на следния линк: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.01126/full> .

Species	Genes targeted	Mutation efficiencies	Transformation source tissue(s)	References
<i>Actinidia chinensis</i> (kiwifruit)	<i>PDS</i>	65–92%	<i>In vitro</i> leaves	<a href="#">Wang Z. et al., 2018*</a>
<i>Citrus sinensis</i> , <i>Citrus paradise</i> , <i>Poncirus trifoliata</i> x <i>Citrus sinensis</i> (citrus)	<i>Cs2g12470</i> , <i>Cs7g03360</i> , <i>LOB1</i> (promoter and gene) and <i>PDS</i>	3–100%	Greenhouse leaves <sup>+</sup> , <i>in vitro</i> epicotyl segments	<a href="#">Jia and Wang, 2014**</a> ; <a href="#">Jia et al., 2016, 2017a,b**</a> ; <a href="#">Peng et al., 2017*</a> ; <a href="#">Zhang et al., 2017*</a>
<i>Coffea canephora</i> (coffee)	<i>PDS</i>	Up to 30%	Embryogenic calli	<a href="#">Breitler et al., 2018</a>
<i>Malus domestica</i> , <i>Malus prunifolia</i> x <i>Malus pumila</i> (apple)	<i>DIPM1</i> , <i>DIPM2</i> , <i>DIPM4</i> , and <i>PDS</i>	Up to 32%	<i>In vitro</i> leaves, protoplasts <sup>^</sup>	<a href="#">Malnoy et al., 2016*</a> ; <a href="#">Nishitani et al., 2016</a>
<i>Manihot esculenta</i> (cassava)	<i>PDS</i>	97–99%	Embryogenic calli	<a href="#">Odipto et al., 2017*</a>
<i>Parasponia andersonii</i> (tropical tree)	<i>EIN2</i> , <i>HK4</i> , <i>NSP1</i> and <i>NSP2</i>	48–89%	Greenhouse tissues	<a href="#">van Zeijl et al., 2018</a>
<i>Populus tomentosa</i> , <i>Populus tremula</i> x <i>alba</i> , <i>Populus tremula</i> x <i>tremuloides</i> (poplar)	<i>4CL1</i> , <i>4CL2</i> , <i>4CL5</i> , <i>AG1</i> , <i>AG2</i> , <i>BRC1-1</i> , <i>BRC2-1</i> , <i>DWF4</i> , <i>LFY</i> , <i>MYB57</i> , <i>MYB115</i> , <i>MYB156</i> , <i>MYB170</i> , <i>PDS</i> , and <i>WRKY18</i>	Up to 100%	<i>In vitro</i> leaves, <i>in vitro</i> shoots (leaf, stem and petiole pieces)	<a href="#">Fan et al., 2015</a> ; <a href="#">Zhou et al., 2015*</a> ; <a href="#">Jiang et al., 2017</a> ; <a href="#">Wan et al., 2017</a> ; <a href="#">Wang et al., 2017</a> ; <a href="#">Xu et al., 2017*</a> ; <a href="#">Yang et al., 2017</a> ; <a href="#">Elorriaga et al., 2018*</a> ; <a href="#">Muhr et al., 2018*</a> ; <a href="#">Shen et al., 2018*</a>
<i>Theobroma cacao</i> (cacao)	<i>NPR3</i>	Up to 27%	<i>In vitro</i> somatic embryo cotyledons	<a href="#">Fister et al., 2018*</a>
<i>Vitis vinifera</i> (grape)	<i>ldnDH</i> , <i>MLO-7</i> , <i>PDS</i> , and <i>WRKY52</i>	0.1–100%	Embryogenic calli, protoplasts <sup>^</sup>	<a href="#">Malnoy et al., 2016*</a> ; <a href="#">Ren et al., 2016*</a> ; <a href="#">Nakajima et al., 2017*</a> ; <a href="#">Wang X. et al., 2018*</a>

**Фиг. 6:** Примери за дървесни видове, подложени на инструменти за редактиране на генома

Променящите се условия на околната среда, като например повишаването на температурите в моретата, застрашават морските екосистеми и особено коралите. Следователно топлинната адаптация е от решаващо значение за тяхната устойчивост. Топлинната адаптивност на тези морски видове може да бъде наследена и по този начин естествената вариация на температурната толерантност може да улесни адаптацията ([Dixon et al. 2015](#)). **Специфични гени, които са отговорни за топлинен толеранс, вече са идентифицирани чрез техники за редактиране на гени** ([Cleves et al. 2020](#)). Това знание помага да се разбере кои генетични характеристики контролират топлинната толерантност на коралите и по този начин могат да бъдат полезни цели за бъдещо генно инженерство и повишаване на термичната толерантност.



**Фиг. 7:** Модифициране посредством новите геномни техники като CRISPR/Cas9 на гените, отговорни за топлинния толеранс при коралите

Американският кестен (*Casanea dentata*), друг пример за „gene rescue“, е бързорастящ и дълголетен вид в източните Съединени щати и Канада. В края на 1800 г. от Азия в САЩ е открит инвазивен гъбичен патоген *Cryphonectria parasitica*, който се разпространява в ареала на тези дървесни видове, като убива около 90 % от популацията (Merkle et al. 2007; Powell et al. 2019). Американска фондация е внедрила програма за запазване на този дървесен вид, която да включи устойчивостта на болестите по китайския кестен (*Castanea mollissima*) в американските кестенови дървета чрез кръстосване. Въпреки че това е отчасти обещаващо, наследяването от бъдещите поколения е непоследователно и вероятно ще изисква много поколения развъждане (Steiner et al. 2017). С цел преодоляване на тази непоследователност на унаследяване на конкретните белези са разработени в последствие устойчиви на болести американски кестенови дървета, а първите трансгенни американски кестени са засадени в полевни опити през 2006 г. Докато трансгенните дървета се „разработват“ предимно за

икономически цели, кестените са първият пример за редактиране на генома като част от стратегията за възстановяване и опазване на биоразнообразието.

## **Въпроси, които трябва да се разгледат преди по-нататъшното интегриране на редактирането на генома за управление на биоразнообразието**

Редактирането на генома и въвеждането на допълнителни вариации в генома на дивите организми се основават на геномната информация, налична при различните популации на целевите видове. В случай че може да се възприеме подход за редактиране на генома, трябва да се отговори предварително на няколко ключови въпроса:

- **Налична ли е пълна информация за генома/транскриптом за целевите видове?**
- **Налична ли е тази информация за различните популации или подвидове?**
- **Свързани ли са целевите видове с типов вид?**

Ако информацията за генома е достъпна, тогава трябва да се установи дали и как тази информация се отнася до конкретни фенотипове.

- **Могат ли потенциално да бъдат идентифицирани прицелните гени?**
- **Контролирани ли са характеристиките, които трябва да бъдат променени от един ген или множество гени?**

Чрез идентифициране на основната геномна основа за специфични черти може да се започне работа с нови геномни техники. За тази цел трябва учените да разполагат с допълнителна информация.

- **Каква е размножителната система на организма?**
- **Могат ли тези организми да се съхраняват в експериментална среда в различни среди?**

## **Управление/премахване на инвазивни видове**

**Инвазивните видове са сред петте основни причини за загубата и изчезването на биологичните видове**, като 20 % от изчезванията се дължат на инвазивни чужди видове и 54 % са частично причинени от тях (*Clavero, Garcia-Berthou, 2005*). Управлението и ликвидирането на инвазивните чужди видове е предизвикателство и се нуждае от оценки на разпространение, жизнени цикли и стратегии за репродукция. Понастоящем управлението на инвазивните видове се извършва най-вече чрез механичен, химичен и биологичен контрол, био пестициди или масово освобождаване на стерилни индивиди (*Wittenberg and Cock 2001; Teem et al. 2020*). Въпреки че тези инструменти се оказаха частично успешни, те са трудоемки и разходоемки и поради това е трудно да се приложат в по-големи области (*Glen et al. 2013*). Може да има и отрицателни странични ефекти върху нецелеви видове при използване на химикали и въвеждане на алохтонни естествени хищници. **Геномните техники и информацията, която предоставят може да допълни съществуващите интегрирани програми за управление на инвазивните чужди видове**, като предостави съответната информация, например за механизмите за хибридизация и физиологична адаптация към различни състояния (т.е. транскриптомни изследвания). Все по-голям брой геноми понастоящем

се публикуват или вече са на разположение за много инвазивни видове, което предоставя ключова информация за тяхната биология, еволюция и инвазивно разпространение.

**Процесите по време на инвазия могат да бъдат проследени чрез молекулярни методи и биотехнологични подходи и информацията за времевата и пространствената динамика на инвазията също помага за разработването на система за бионаблюдение (Westfall et al. 2020), където могат да бъдат идентифицирани вредители и патогени и да се оценят пътищата на разпространение (Hamelin and Roe 2020).**

**Геномната информация може да даде ценна представа дали генетичната променливост при местните видове може да бъде свързана с инвазивността. *Agrilus planipennis* например е бръмбар, хранещ се с флоема на растенията, който е разпространен в Азия, но е инвазивен в Северна Америка, където е идентифициран като изключително разрушителен вредител за дърветата *Fraxinus* spp. Проучвания сравняват геномите на най-податливите северноамерикански дървесни видове (*F. americana*, *F. pennsylvanica*, *F. nigra*) с устойчиви на патогена видове *F. mandshurica* в Азия, картографират свързаните със защитата и устойчивостта гени и идентифицирани кандидат гени, свързани с устойчивостта на предците, което в крайна сметка може да доведе до подобряване на бъдещите програми за развъждане на тези дървесни видове (Bai et al. 2011).**

NormFinder				GeNorm			
Overall	Manch	Green	White	Overall	Manch	Green	White
eEfl $\alpha$ (0.028)	eEfl $\alpha$ (0.029)	eEF1 $\beta$ (0.020)	RPL13 (0.028)	eEfl $\alpha$ (1.038)	eEfl $\alpha$ (1.225)	eEfl $\alpha$ (0.850)	eEfl $\alpha$ (0.713)
eEF1 $\beta$ (0.035)	eEF1 $\beta$ (0.041)	eEfl $\alpha$ (0.027)	eEfl $\alpha$ (0.031)	eEF1 $\beta$ (1.102)	Суп (1.252)	eEF1 $\beta$ (0.886)	eEF1 $\beta$ (0.741)
E3upl (0.042)	E3upl (0.051)	G6PD (0.027)	eEF1 $\beta$ (0.031)	G6PD (1.222)	eEF1 $\beta$ (1.370)	G6PD (0.906)	RPL13 (0.780)
G6PD (0.044)	Суп (0.051)	E3upl (0.032)	E3upl (0.035)	Суп (1.231)	G6PD (1.454)	Суп (0.976)	E3upl (0.800)
RPL13 (0.058)	G6PD (0.056)	Суп (0.047)	G6PD (0.038)	E3upl (1.327)	E3upl (1.753)	E3upl (1.002)	Суп (0.836)
Суп (0.068)	RPL13 (0.065)	RPL13 (0.071)	Суп (0.062)	RPL13 (1.472)	RPL13 (1.762)	RPL13 (1.589)	G6PD (0.952)

**Фиг. 8:** Идентифицирани кандидат гени, свързани с устойчивостта на патогенния вредител на дърветата *Fraxinus* spp

Различен подход се използва, когато геномната композиция на самия инвазивен вид се анализира чрез идентифициране на гените и причиняващите мутации, които играят важна роля в еволюцията на инвазивността. Изучаването на действителната функция на такива гени може да се комбинира с фенотипни признаци от интерес. След това идентифицираните гени на резистентност биха могли да бъдат наблюдавани и потенциално намножени при полово репродуктивни видове. **Въвеждането или модифицирането на генетична характеристика, която би оказала отрицателно въздействие върху репродуктивната способност на инвазивните чужди видове, може да се постигне чрез т.нар. генно задвижване.** Този механизъм може да се

наблюдава в природата при гъбички, дрожди и други организми и позволява генът да бъде предаден на потомството чрез полово размножаване с по-висока степен на наследяване, дори ако не предоставя конкурентно предимство. Възможностите за прилагане на планове за управление на ерадикирането на инвазивните видове включват специфични гени, участващи в основните физиологични функции или репродукция. Въпреки всички научни проекти и публикации по темата разработването на генни дрейове за приложения по опазване от инвазивни видове все още е на много ранен етап и са необходими допълнителни проучвания, за да се оцени тяхната осъществимост, както и потенциалното въздействие както положително, така и отрицателно (*Price et al. 2020*). Въпроси, които трябва да бъдат разгледани преди по-нататъшното интегриране на генен дрейв към инвазивни видове:

В някои проучвания вече се обсъжда използването на генни дрейове, но **технологията все още са на етап разработка и не могат да бъдат лесно приложими в близко бъдеще. Тези нови геномни технологии се нуждаят от допълнителни строги изследвания, полеви оценки на риска, преди да могат да бъдат приложени за справяне с конкретни приложения. За потенциалните проекти трябва да бъдат зададени няколко ключови въпроса:**

- Какъв е процентът на успеваемост на предишни опити за контрол на инвазивни видове?
- Има ли геномна информация за целевите видове и за целевите гени?
- Какви са ползите от използването на подход за потенциално генно задвижване?
- Какъв е графикът и мащабът за осъществяване на контрол на инвазивните болести?
- Съществува ли риск технологията на генния дрейв да се разпространи към неприцелна популация (или на място, където видовете не са инвазивни, или към неинвазивни свързани видове чрез хибридизация)?
- Дали технологията на генното задвижване и другите нови геномни техники ще получат социална, етична и регулаторна приемливост? Какви са заинтересованите страни в генетичния биологичен контрол? Ще се разработят ли стандартни оперативни процедури, наръчници и законодателство, определящо безопасността на тези нови геномни техники?
- Достатъчно къса ли е генеричната дължината за подходът на генното задвижване и може ли да окаже въздействие в подходящ период от време за хората и природата?
- Дали целевият организъм се размножава сексуално?
- Има ли едновременно срещани се местни видове в целевата зона, които могат да бъдат засегнати от хибридизацията?
- Може ли оценката на риска от полеви изпитвания да се извърши въз основа на хипотеза за внедряване?
- Какви са потенциалните рискове за случайно или умишлено освобождаване на генетично редактирани организми в нецелеви популации?

Понастоящем е ясно, че генните задвижвания не могат да се прилагат еднообразно към всички организми. Кратките периоди на генериране и високите проценти на потомството, като например при комарите, могат да направят интервенцията уместна.

## Заклучение

Същността и целта на почти всички нови геномни технологии е да се получат по-задълбочени познания и информация за целевите видове, включително данни за размера на популацията и местообитанията, поведенчески данни като способност за колонизация, време за генериране и репродуктивен режим и данни за генофонда на тези популации. Много от тези характеристики могат да бъдат определени чрез новите молекулярни методи за секвениране на микросателити или многобройни SNP. С наличната геномна информация, която е все по-често на разположение за много видове (*Hohenlohe et al. 2021*), се получава **допълнителна представа за демографската история или моделите на интродукция**, като по този начин се предоставя съответната **информация за управлението на видовете**. Геномните технологии все повече се прилагат в *ex situ* и *in situ* управлението на популациите и геномните скрининги са **необходими**, за да се **идентифицират най-подходящите индивиди за програми за размножаване, преместване и „генетично спасяване“** и за да се избегне увеличаване на генетичното натоварване на целевата популация. Геномните техники **спомагат също така за по-ефективна борба с потенциалните заболявания и за борба с изменението на климата чрез идентифициране на генетичните вариации на специфични черти**, които повишават жизнеспособността в определени среди. В допълнение, знанията от геномните техники помагат да се **сравняват съвременните популации, както и позволяват по-подробни времеви сравнения и оценка мащаба на промяната между популациите и времето**. Геномната информация е също толкова **важна за клонирането на представители на силно застрашени или дори изчезнали видове**. В този контекст събирането и съхранението на семена, тъкани и клетки в биобанките са безценни. Всеобхватните геномни познания също са от **съществено значение за генното редактиране на организми в подкрепа на адаптирането им към промените в околната среда или за борбата с патогените**. Тази практика на геномна модификация вече се прилага в растителни таксони, видове моделни животни и дори при хората и притежава голям потенциал за приложения за опазване на индивидуално равнище. Понастоящем са разработени **геномни инструменти на равнище популация, които да се прилагат по отношение на видовете вредители**, за които други мерки за ликвидиране не са успели. **Широката гама от биотехнологични и геномни инструменти може да помогне на специалистите да се справят с някои от най-неотложните предизвикателства пред опазването на биоразнообразието и генофонда на популациите**, като в същото време следва да се предприемат действия и за гарантиране на местообитанията и за осигуряване на защита на видовете. Въпреки напредналите нови геномни техники и молекулярни методи е **необходима обстойна и всеобхватна оценка на риска за всеки отделен случай за потенциалните им приложения и трябва да се вземат предвид етичните и политическите аспекти** (*Breed et al. 2019; Redford et al. 2019*). Въпреки че някои инструменти вече са добре установени, други все още трябва да бъдат изпитани и ще бъдат приложими само в бъдеще.

На 29 април 2021 г. Европейската комисия представи проучване относно състоянието на новите геномни техники (NGT) съгласно законодателството на ЕС. Съветът поиска това проучване в контекста на решение на Европейския съд от 2018 г. и практическите въпроси, повдигнати от него. Проучването на Комисията разглежда прилагането на законодателството на ЕС относно NGT, въз основа на консултации с държавите членки и заинтересованите страни. Той предоставя информация за състоянието и употребата на NGT в растения, животни и микроорганизми и в храни и за промишлени и фармацевтични приложения. Основните заключения от проучването сочат „ограничения по отношение на капацитета на законодателството да върви в крак с научните разработки“, като се посочва, че това причинява предизвикателства при прилагането и правна несигурност. Според проучването има силни индикации, че законодателството не е подходящо за целта за някои NGT и техните продукти и че трябва да бъде адаптирано към научните и технологичен прогрес. Според Комисията проучването потвърждава, че продуктите от NGT имат потенциала да допринесат за устойчиви агрохранителни системи в съответствие с целите на Европейския зелен пакт и стратегията „от Фермата до вилницата“. Заинтересованите страни имат смесени реакции към проучването и употребата на новите геномни техники: докато някои индустриални асоциации и изследователи приветстват употребата и внедряването в агрохранителната верига на тези нови геномни техники, други изглеждат по-предпазливи, а някои екологични НПО категорично се противопоставят. В Европейския парламент комисиите по околна среда и земеделие (ENVI/AGRI) организираха публични изслушвания и уебинари на теми: „*New genomic techniques - the way forward for safe and sustainable innovation in the agri-food sector*“, организиран от ЕК и „*New Genomic Techniques and its role in the EU*“, организиран от членове на Европарламента, като мненията относно тези технологии на членовете и участниците в тези дискусии и уебинари се оформиха в два полюса (От 107 заинтересовани страни, поканени да участват, 58 са отговорили.).

Една част от учените и експертите в областта, НПО организации и независими учени са на мнение, че тези технологии са непредвидими, не са достатъчно изпитани, биха повлияли негативно биоразнообразието на видовете и чистотата на популациите, не са ясни мутациите и промените в генома, които могат да възникнат и ясно изразиха крещящата необходимост от обстойна, независима, научнообоснована оценка на риска от употребата, внедряването и пускането на пазара на продукти, живи животни и микроорганизми с редактиран геном или отделни генни локуси. Притеснение е изразено и в областта на етикетването на тези редактирани продукти, които ще бъдат пуснати на пазара, също така относно липсата на законодателство, обхващащо редактираните продукти и не на последно място – относно липсата на диагностична подготвеност и схема за установяване наличие/отсъствие на тези редактирани геноми.

- Organisms obtained through new genomic techniques are subject to the EU GMO legislation.
- Developments in biotechnology since the legislation was adopted give rise to certain ambiguities in the application of the legislation to some NGTs.
- There are challenges relating to the detection and differentiation of certain NGT products that contain no foreign genetic material.

Need for a case-by-case approach to identify potential hazards and the necessary experimental data.

**Основен проблем** също, който бе повдигнат на тези дискусии и уебинари, е липсата на опит, познания и прогнози за дългосрочната употреба / консумация на генно редактирани храни и попадането в дивите популации на генно редактирани индивиди/микроорганизми.

There seems to be no mandatory labelling in Canada: <https://cban.ca/gmos/products/>

No-one says "per se dangerous". People say, need for risk assessment.

In Italy a large part of the research funding goes to organic farming and even to biodynamic agriculture. Unfortunately.

No data were made available on the effects of the genetic alteration on life span or health in general. There also appears to be no data available on animal welfare. In addition, questions about changes in the composition of the edible parts of the GE fish and potential impact on consumers remain unanswered.

Do you think that such organisms should also become available on the EU market without any risk assessment and labelling?

@The Canadian model of Regulation leads to some problems: what is "novel"? The Business can decide this, not the regulators. There is no labelling in Canada, which means no Are "old" GM techniques still "novel"?

@LF - Not sure all is well in Canada! - "The Canadian Food Inspection Agency proposed regulatory guidance would allow many plants produced using gene editing to be field tested and released into the environment with no regulatory oversight. It would eliminate access to the public documentation needed for independent researchers to investigate these plants' impacts on the environment or the food supply." Doesn't sound very democratic, does it? <https://www.nfu.ca/policy/commentary-on-cfia-proposal-for-regulating-gene-edited-plants/>

The two of the biggest AgriTech companies in the world are from EU (Bayer and BASF), I wonder how and if they are influencing the legislation.

Also, how can we „trust science“ as Mrs Polfjärd states if there is no budget foreseen in Horizon Europe for research on the risks of NGTs for environment and health? 100% of the research budget goes into applied research, less or nothing into risks.

### Potential concerns

- possible risk and environmental impact
- coexistence with organic and GM-free agriculture
- labelling and consumers' right to information



Some stakeholders consider that benefits are hypothetical and achievable by other means.







Before trusting ENSSER I would rather trust independent scientific organizations like the national and European Academies like Leopoldina or ALLEA

<https://corporateeurope.org/sites/default/files/2021-09/Biased%20from%20the%20outset-%20The%20EU%20Commission%E2%80%99s%20E2%80%9Cworking%20document%E2%80%9D%20on%20new%20GM%20techniques%20fails%20to%20uphold> Dear Ms Jessica Polfj rd (SE-EPP) and Erik Bergkvist (SE-S&D), NGOs like mine have strongly complained about the biased nature of the process and debate so far. Today's event unfortunately only contributes to this. Why have you not invited any NGO or academic expert who have called out in favour of full application of the GMO legislation for genome edited products? See the NGO analysis of the "EC study": %20environmental%20and%20consumer%20protection%20standards.pdf

None in EU wants to touch the regulation of GE in livestock due to negative public opinion. It's still very problematic.

**Второто противоположно мнение**, което бе оформено на тези дискусии и уебинари, на експерти и научни екипи, работещи активно в областта на новите геномни техники, е, че тези технологии са изключително обещаващи за обезпечаване на продоволствената сигурност на населението, за минимизиране и унищожаване на инвазивни видове, за преодоляване на много заболявания и намиране на модерни решения за терапия и лечение. Други положителни аспекти от употребата и внедряването на тези технологии в агрохранителната верига, които бяха изложени, са свързани с бързината и високата ефективност на тези технологии, за безопасността им и високите нива на контрол на редактирането на генома, високата специфичност на ензимите cas от системите CRISPR/cas, за високата производителност, която осигуряват тези технологии и необятните възможности и полета за действие, които осигуряват. Голяма част от учените са на мнение, че тези технологии биха обезпечили всички цели, заложиени в стратегията „От фермата до трапезата“, Зелената сделка, подходът „Едно здраве“ и други световни каузи.

✓ Enables safe plants to provide benefits and contribute to the innovation and sustainability objectives of the European Green Deal and of the Farm to Fork and Biodiversity strategies

"as safe as conventional breeding" is still true. Potato variety Lenape (conventional breeding, 1967) had too much glycoalkaloids and was pulled from the market. There already is a system for removing risky cultivars from the market. The extra regulation for non-transgenic or cisgenic NGT is costly and unnecessary.

There is not a single evidence that transformation of a plant using recombinant DNA is per se dangerous for health or the environment. Like any genetic modification, natural, chemical or using recombinant DNA, risk depends on the mutation, not the technique. This is what 90% of plant scientists ask: to judge mutations for what they are, not based on the techniques used to produce them.

We must stop making the assumption that scientists are corrupt and in the pocket of big business - there is little to no evidence of this.

Nina Holland to Everyone

"Go back to primitive agriculture" This is just too ridiculous. Never seen something like this project of Dutch universities? <https://farmofthefuture.nl/en/farm-of-the-future-in-lelystad/>

"remember GMO technology is leading a pivotal role in taking us out of this terrible Covid pandemic-vaccines, pcr testing etc. Lets not bury our hands in the sand!!" You cannot compare applications in medical area with deliberate release into the environment and food chain.

why don't we use the Canadian policies and ways of treating GMOs and NGTs as an example of serious and fundamental approach?

We must stop making the assumption that scientists are corrupt and in the pocket of big business - there is little to no evidence of this.



### Tagliatelle with CRISPRy fried vegetables

300g CRISPRy genome-edited cabbage (flowers and young leaves) - can be replaced by broccoli or similar  
 300g Swiss chard  
 200g sugar beet  
 20 leaves of maritima steam plant - to be replaced with a third of a leek  
 Good quality olive oil  
 a large, chopped clove of garlic  
 1/2 tsp chili flakes  
 400g fresh tagliatelle pasta  
 200ml of freshly grated Vidua cheese - can be replaced with Parmesan cheese  
 50-100ml chopped, fresh herbs, in particular marjoram, thyme, oregano, tarragon and parsley, 2 serranochee leaves, 2 peppercorn leaves

Recipe:

All European learned societies plus EFSA named genome editing as a safe technique. What are we waiting for? More evidence of the same? Every single day Europe and its farmers are losing out and NOT provided opportunities to change agricultural practice to more sustainable operations. This is equally true for organic farming that could benefit tremendously from NGT.

- Phase 1 - "Reinventing the wheel" with CRISPR:

- More vitamins
- More antioxidants
- Resistance to insects and pathogens
- Less allergens
- Less need for water and fertilizers
- Keep fresh longer

deal with this? I think we always leave room for a margin of error of course. It's about relative risks, not absolutes.

- Phase 2 - A world of new opportunities
- Basic science crucial (what to change?)
- If regulated according to the GMO directive - No access for EU farmers
- How could EU keep out something that cannot be traced?

Европейският орган за безопасност на храните (EFSA) е предоставил преглед на оценката на риска от NGT, а Съвместният изследователски център на Комисията (JRC) е представил два доклада: за научното и технологичното развитие и за настоящите и бъдещите пазарни приложения на NGT. Освен това проучването на ЕК е взело предвид становищата, представени от научните съветници към ЕК и Европейската мрежа от лаборатории за ГМО, както и становище относно етиката при редактирането на генома от Европейската група по етика в науката и новите технологии (EGE).

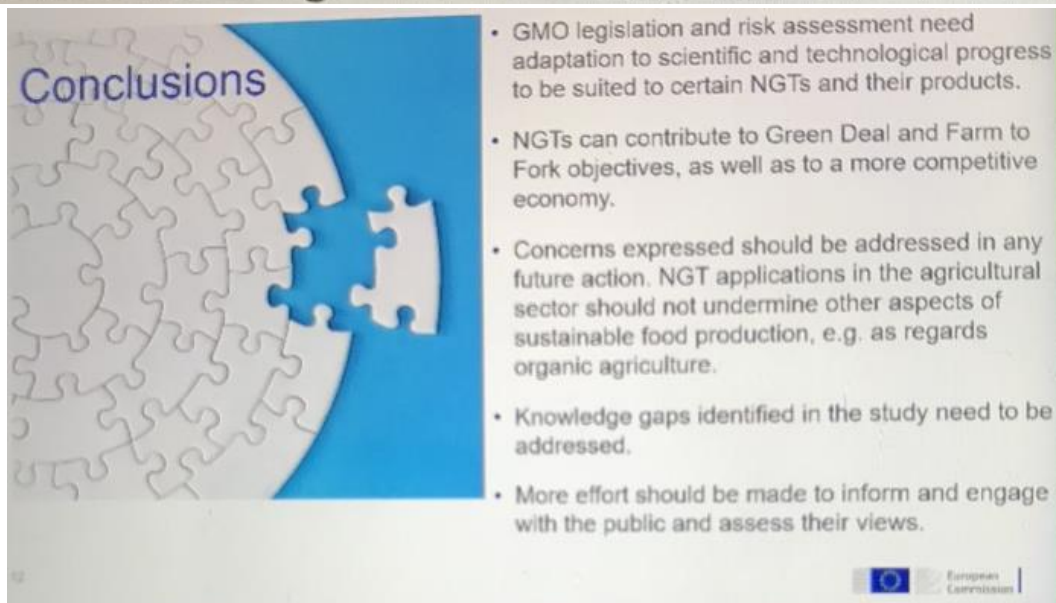
Европейската комисия е набелязала **няколко цели**, които **трябва да бъдат постигнати преди да бъдат внедрени новите геномни техники** в агрохранителната верига:

- ✓ **Risk assessment and approval requirements** proportionate to the risk involved, taking into account elements such as the specific technique used, the type of modification or the novelty of the trait.
- ✓ A **sustainability analysis** to examine whether, and in which way, these products contribute to sustainability, and sustainability-related requirements or incentives.
- ✓ Appropriate **traceability and labelling** provisions
- ✓ Mechanisms to be able to rapidly adjust elements of the legislation and its implementation over time, as warranted by **scientific and technological progress**

Комисията отбелязва, че **научните съветници са признали хетерогенността на NGT** и факта, че това личи и в разнообразието от продукти, създадени чрез NGT; следователно може да **не е идеално обобщаването на констатациите за NGT в една или две категории**. Научните организации и съветниците към комисията по тези въпроси посочиха **приликите между някои NGT и някои конвенционални размножителни техники и установени геномни техники**. Съветът стигна до заключението, че **докато редактирането на генома може да доведе до „извънцелеви“ ефекти, честотата на тези ефекти като цяло е много по-ниска, отколкото при конвенционалните техники за размножаване и установените геномни техники**. Учените и експертите в областта на ЕК също така смятат, че поради прецизността и ефективността на използването на определени NGT, те са **единственото реалистично средство за получаване на определени продукти**. Според тези експерти **безопасността на тези продукти може да бъде оценена за всеки отделен случай и зависи от характеристиките на продуктите, предназначението и средата**. Експертите са на мнение, че **за момента не е възможно да се определи дали промените са резултат от естествено възникнали мутации или от използването на каквато и да е геномна техника**. Прегледът на JRC относно научното и технологичното развитие отбелязва, че **внедряването на тези техники се очаква да се увеличи в различните биологични системи**; по-нататъшните подобрения на настоящите и следващото поколение NGT през следващите години при различни организми вероятно **ще разширят възможностите за гена редакция на продуктивни животни, ще доразвият индустриалните биотехнологии и ще се стигне до разработване на**

човешки генни терапии и ваксини. Най-известният набор от NGT, според JRC, се основава на технологията **CRISPR-Cas**, която експоненциално разшири възможностите за модифициране на много геномни цели в различни организми. Прегледът на JRC относно пазарните приложения обхваща приложения в растения, гъби, животни, микроорганизми и човешки клетки в селскостопанския, промишления и фармацевтичния сектор. Прегледът отбелязва, че повечето NGT приложения са разработени в Съединените щати или Китай. В ЕС Германия е подала най-голям брой заявления. Поради гъвкавостта и достъпността на NGT (особено CRISPR), няколко развиващи се страни също са активни в тази област. Както частните, така и публичните/академичните организации активно разработват продукти на NGT. Прегледът на JRC идентифицира две приложения на растенията, които вече са на пазара: високоолеинов сорт соя с по-здравословен профил на мастни киселини и сорт домати, подсилен с гама-аминомаслена киселина. Други 15 заявки за растения са на етап предварителна търговия. В средносрочен план (до 2030 г.) JRC предвижда създаването на растения, устойчиви на суша, соленост и топлина, като приложенията сега са в напреднал или ранен етап на научноизследователска и развойна дейност. Подобряването на хранителния профил на културите (например набогатяване с фибри, витамини), намаляване на съдържанието на глутен или вредни вещества (токсини, алергени, акриламидни прекурсори) или получаване на по-високи и по-стабилни добиви и по-големи размери на плодове и зърна са сред по-нататъшните възможни приложения.

## CRISPR - A game-changing technology



**Conclusions**

- GMO legislation and risk assessment need adaptation to scientific and technological progress to be suited to certain NGTs and their products.
- NGTs can contribute to Green Deal and Farm to Fork objectives, as well as to a more competitive economy.
- Concerns expressed should be addressed in any future action. NGT applications in the agricultural sector should not undermine other aspects of sustainable food production, e.g. as regards organic agriculture.
- Knowledge gaps identified in the study need to be addressed.
- More effort should be made to inform and engage with the public and assess their views.

European Commission

### Изготвил:

Красимира Захариева,

Главен експерт в дирекция ОРХВ, ЦОРХВ

## Използвана литература:

- *Future-Proofing EU Legislation for Genome-Edited Plants: Dutch Stakeholders' Views on Possible Ways Forward* - Jan Pieter van der Berg, Lianne M. S. Bouwman, Evy Battaglia, Gijs A. Kleter
- [https://ec.europa.eu/food/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology\\_en](https://ec.europa.eu/food/plants/genetically-modified-organisms/new-techniques-biotechnology_en)
- *on-line event on "New genomic techniques - the way forward for safe and sustainable innovation in the agri-food sector"*
- *Discussion paper focusing on the scientific relevance of genome editing and on the ethical, legal and societal issues potentially involved* - THE ETHICS COUNCIL OF THE MAX PLANCK SOCIETY
- *New genomic techniques European Commission study and first reactions* - [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2021/698760/EPRS\\_BRI\(2021\)698760\\_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/BRIE/2021/698760/EPRS_BRI(2021)698760_EN.pdf)
- *Global Regulation of Genetically Modified Crops Amid the Gene Edited Crop Boom – A Review* - Crystal Turnbull, Morten Lillemo and Trine A. K. Hvoslef-Eide
- <https://www.europeanscientist.com/en/features/the-european-commission-publishes-its-study-on-new-genomic-techniques/>
- *New Genomic Techniques: State-of-the-Art Review* - Technical report by the Joint Research Centre (JRC), the European Commission's science and knowledge service - <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC121847>
- *Reduced thermal tolerance in a coral carrying CRISPR-induced mutations in the gene for a heat-shock transcription factor* - Phillip A. Cleves, Amanda I. Tinoco, Jacob Bradford, Dimitri Perrin, Line K. Bay, and John R. Pringle
- *Genome Editing Tools and Gene Drives – book of Reagan Mudziwapasi, Ringisai Chekera, Clophas Zibusiso Ncube, Irvonnie Shoko, Berlinda Ncube, Thandanani Moyo, Jeffrey Godfrey Chimbo, Jemethious Dube, Farai Faustos Mashiri, Moira Amanda Mubani, Duncan Maruta, Charity Chimbo, Mpumuzi Masuku, Ryman Shoko, Rutendo Patricia Nyamusamba, and Fortune Ntengwa Jomane*
- *Dendroclimatology of Torrey Pine (Pinus torreyana Parry ex Carr.)* - Franco Biondi
- *Sustainable Development Goals: pandemic reset* - Robin Naidoo & Brendan Fisher
- *How should we compare different genomic estimates of the strength of inbreeding depression?* - Marty Kardos, Pirmin Nietlisbach, and Philip W. Hedrick
- *Genomics advances the study of inbreeding depression in the wild*
- *New developments in the field of genomic technologies and their relevance to conservation management* - Gernot Segelbacher, Mirte Bosse, Philippe Helsen, Christina Hvilson, Delphine Thizy, Ivaylo Tsvetkov, Elena Buzan
- *Evaluation of Reference Genes for Expression Studies in Ash (Fraxinus spp.)* - Loren Rivera-Vega & Praveen Mamidala & Jennifer L. Koch & Mary E. Mason & Omprakash Mittapalli
- *Transcriptomic Signatures of Ash (Fraxinus spp.) Phloem* - Xiaodong Bai, Loren Rivera-Vega, Praveen Mamidala, Pierluigi Bonello, Daniel A. Herms, Omprakash Mittapalli

- *Variation in Mutation Spectra Among CRISPR/Cas9 Mutagenized Poplars* - Estefania Elorriaga, Amy L. Klocko, Cathleen Ma and Steven H. Strauss
- *Genome Editing in Trees: From Multiple Repair Pathways to Long-Term Stability* - William Patrick Bewg, Dong Ci and Chung-Jui Tsai
- *CRISPR/Cas9 Gene Editing: An Unexplored Frontier for Forest Pathology* - Erika N. Dort, Philippe Tanguay and Richard C. Hamelin
- *The genetics of inbreeding depression* - Deborah Charlesworth\* and John H. Willis
- <https://reviverestore.org/what-we-do/genetic-rescue-toolkit/>
- Alphey LS, Crisanti A, Randazzo FF, Akbari OS (2020) *Opinion: standardizing the definition of gene drive.* <https://doi.org/10.1073/pnas.2020417117>
- Amador C, Hayes BJ, Daetwyler HD (2014) *Genomic selection for recovery of original genetic background from hybrids of endangered and common breeds.* <https://doi.org/10.1111/eva.12113>
- Ashraf B, Hunter DC, Bérénos C, Ellis PA, Johnston SE, Pilkington JG, Pemberton JM, Slate J (2020) *Genomic prediction in the wild: a case study in Soay sheep.* <https://doi.org/10.1101/2020.07.15.205385>
- Atkinson CT, LaPointe DA (2009) *Introduced avian diseases, climate change, and the future of Hawaiian honeycreepers.* <https://doi.org/10.1647/2008-059.1>
- Bell D, Robinson Z, Funk C, Fitzpatrick S, Allendorf F, Tallmon D, Whiteley A (2019) *The exciting potential and remaining uncertainties of genetic rescue.* <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.06.006>
- Borges AA, Pereira AF (2019) *Potential role of intraspecific and interspecific cloning in the conservation of wild mammals.* <https://doi.org/10.1017/S0967199419000170>
- Boscari E, Marino IAM, Caruso C, Gessner J, Lari M, Mugue N, Barmintseva A, Suci R, Onara D, Zane L, Congiu L (2021) *Defining criteria for the reintroduction of locally extinct populations based on contemporary and ancient genetic diversity: the case of the Adriatic Beluga sturgeon (Huso huso).* <https://doi.org/10.1111/ddi.13230>
- Bourgeois YX, Warren BH (2021) *An overview of current population genomics methods for the analysis of whole-genome resequencing data in eukaryotes.* <https://doi.org/10.1111/mec.15989>
- Bragg JG, Cuneo P, Sherieff A, Rossetto M (2020) *Optimizing the genetic composition of a translocation population: Incorporating constraints and conflicting objectives.* <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13074>
- Breed MF, Harrison PA, Blyth C, Byrne M, Gaget V, Gellie NJC, Groom SVC, Hodgson R, Mills JG, Prowse TAA, Steane DA, Mohr JJ (2019) *The potential of genomics for restoring ecosystems and biodiversity.* <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0152-0>
- Byers O, Lees C, Wilcken J, Schwitzer C (2013) *The one plan approach: the philosophy and implementation of CBSG's approach to integrated species conservation planning.*
- Caplanq T, Fitzpatrick MC, Bay RA, Exposito-Alonso M, Keller SR (2020) *Genomic prediction of (Mal) adaptation across current and future climatic landscapes.*
-

- Caballero A, Bravo I, Wang J (2017) Inbreeding load and purging: implications for the short-term survival and the conservation management of small populations. *Heredity* 118:177–185. <https://doi.org/10.1038/hdy.2016.80>
- Carvalho CS, Forester BR, Mitre SK, Alves R, Imperatriz-Fonseca VL, Ramos SJ, Resende-Mpreira LC, Siqueira JO, Trevelin LC, Caldeira CF, Gastauer M, Jaffé R (2021) Combining genotype, phenotype, and environmental data to delineate site-adjusted provenance strategies for ecological restoration.
- CBD (2020) Secretariat of the Convention on Biological Diversity. *Global biodiversity outlook 5 – Summary for policy makers*
- Che-Castaldo J, Gray SM, Rodriguez-Clark KM, Schad Eebes K, Faust LJ (2021) Expected demographic and genetic declines not found in most zoo and aquarium populations.
- Colicchio JM, Herman J (2020) Empirical patterns of environmental variation favor adaptive transgenerational plasticity.
- Comizzoli P, Wildt DE (2017) Cryobanking biomaterials from wild animal species to conserve genes and biodiversity: relevance to human biobanking and biomedical research.
- Ekblom R, Galindo J (2011) Applications of next generation sequencing in molecular ecology of nonmodel organisms.
- Fant JB, Havens K, Kramer AT, Walsh SK, Calicrate T, Lacy RC, Maunder M, Meyer AH, Smith PP (2016) What to do when we can't bank on seeds: what botanic gardens can learn from the zoo community about conserving plants in living collections.
- Fernández J, Toro MA, Gómez-Romano F, Villanueva B (2016) The use of genomic information can enhance the efficiency of conservation programs. *Anim Front* 6:59–64. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0009>
- Fitzpatrick SW, Funk WC (2019) Genomics for genetic rescue.
- Frankham R (2015) Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow.
- Gallego-Bartolomé J (2020) DNA methylation in plants: mechanisms and tools for targeted manipulation.
- Gantz VM, Jasinskiene N, Tatarenkova O, Fazekas A, Macias VM, Bier E, James AA (2015) Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*.
- Georges M, Charlier C, Hayes B (2019) Harnessing genomic information for livestock improvement.
- Glen AS, Atkinson R, Campbell KJ, Hagen E, Holmes ND, Keitt BS, Parkes JP, Saunders A, Sawyer J, Torres H (2013) Eradicating multiple invasive species on inhabited islands: the next big step in island restoration?
- Harvey-Samuel T, Ant T, Alphey L (2017) Towards the genetic control of invasive species.
- Hedrick PW, Garcia-Dorado A (2016) Understanding inbreeding depression, purging, and genetic rescue.
- Heywood VH, Iriondo JM (2003) *Plant conservation: old problems, new perspectives*.
- Hoban S et al (2021) Global commitments to conserving and monitoring genetic diversity are now necessary and feasible.

- *Hohenlohe PA, Funk C, Rajora OP (2021) Population genomics for wildlife conservation and management.*
- *Kardos M, Husby A, McFarlane SE, Qvarnström A, Ellegren H (2016) Whole-genome resequencing of extreme phenotypes in collared flycatchers highlights the difficulty of detecting quantitative trait loci in natural populations.*
- *Mascher M, Schreiber M, Scholz U, Graner A, Jochen C, Reif JC, Stein N (2019) Genebank genomics bridges the gap between the conservation of crop diversity and plant breeding.*
- *Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps.*
- *Piaggio AJ, Segelbacher G, Seddon PJ, Alphey L, Bennett EL, Carlson RH, Friedman RM, Kanavy D, Phelan R, Redford KH, Rosales M, Slobodian L, Wheeler K (2017) Is it time for synthetic bio- diversity conservation?*
- *Primmer CR (2009) From conservation genetics to conservation genomics.*
- *Rode NO, Estoup A, Bourguet D, Courtier-Orgogozo V, Débarre F (2019) Population management using gene drive: molecular design, models of spread dynamics and assessment of ecological risks.*
- *Westfall KM, Therriault TW, Abbott CL (2020) A new approach to molecular biosurveillance of invasive species using DNA metabarcoding.*