

Postępy nauk rolniczych

Advances in Agricultural Sciences

3-4/2009

***Polska Akademia Nauk
Wydział Nauk
Rolniczych, Leśnych
i Weterynaryjnych***

***Dwumiesięcznik
nr 339 rok 61***

Rada Redakcyjna

A. Grzywacz (przewodniczący),
J. Haman, T. Krzymowski, J.J. Lipa
A. Rutkowski, F. Tomczak, M. Truszczyński, J. Wilkin

Redakcja

A. Horubała (redaktor naczelny),
J. Buliński, T. Brandyk, A. Gawrońska-Kulesza, W. Józwiak,
J. Zimny, T. Żebrowska,
R. Suska (sekretarz redakcji)

Adres Redakcji

00-901 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki, pokój 2102
tel. 0 22 620 33 71, 0 22 656 64 66
e-mail: Wydzial5@pan.pl; post.nauk.rol@gmail.com

Wydanie publikacji dofinansowane przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Opracowanie redakcyjne, korekta i skład — Danuta Borecka

PL ISSN 0032-5547

Nakład 200 egz. Ark. wyd. 12,0. Ark. druk. 10.
Skład — DABOR 02-795 Warszawa ul. Kazury 22/27,
tel. 600 372 929
Druk — Warszawska Drukarnia Naukowa PAN,
00-656 Warszawa ul. Śniadeckich 8, tel./faks 0 22 628 87 77

**Osiągnięcia i problemy
genetyki
i biotechnologii zwierząt**
Seminarium naukowe,
Warszawa, 26 listopada 2008 roku

Wprowadzenie

Określenie struktury chemicznej i przestrzennej DNA oraz poznanie podstaw przenoszenia informacji genetycznej spowodowały w ostatnich latach rewolucję w zakresie badań genetycznych, powstawanie nowych kierunków badań naukowych i nowych technologii, w tym także w produkcji zwierzęcej.

Biotechnologia – dynamicznie rozwijający się kierunek badań biologicznych – już dawno przekroczyła progi pracowni naukowych i laboratoriów, stała się ważnym elementem działalności gospodarczej, a nawet polityki krajowej i światowej. Nowe aplikacje badań genetycznych w farmakologii i medycynie, pojawienie się roślin i zwierząt transgenicznych w rolnictwie i w produkcji środków żywienia człowieka stwarzają nowe problemy, powodują skrajne emocje, rozbieżne poglądy, kontrowersje w interpretacji wyników badań naukowych.

Człowiek i zwierzę od milionów lat konfrontowani są z „obcym” DNA. Dziennie człowiek pobiera 0,1–1,0 g DNA zawierającego w różnym stopniu degradowane fragmenty genów roślinnych, zwierzęcych, bakteryjnych [3, 10]. Na przykład krowa zjadająca dziennie 20–25 kg suchej masy – sumy składników pokarmowych/dzień/sztukę – pobiera do 600 mg DNA, w tym od 2,6 µg nawet do 54 µg transgenicznych DNA, np. przy stosowaniu Bt-kukurydzy [2].

Wyniki starszych badań, wykonywanych różnymi technikami analitycznymi, bywały rozbieżne (tab. 1). Według aktualnych badań DNA i fragmenty DNA są degradowane w przewodzie pokarmowym przez nukleazy, choć nie można jednak w pełni wykluczyć faktu, że fragmenty genów mogą przedostawać się do nabłonków jelitowych lub mogą być absorbowane.

Areał światowych upraw roślin transgenicznych, jak np. kukurydzy Pat i Bt, Ht (herbicide tolerant, insect resistant i inne modyfikacje genetyczne), rzepaku Ht, modyfikowanych buraków cukrowych, ziemniaków i innych roślin wykorzystywanych do celów paszowych rośnie bardzo dynamicznie. Rozporządzenie (WE) nr 1829/2003 dotyczące genetycznie zmodyfikowanej żywności i pasz, a także określające zasady udzielania zezwoleń na dopuszczenie do obrotu pasz i organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego, uwolniło dopuszczenie do obrotu i do stosowania pasze pochodzące z roślin i organizmów zmodyfikowanych genetycznie.

Tabela 1. Przykłady przechodzenia „obcych” fragmentów DNA u zwierząt doświadczalnych [5, 6]

Autorzy	Źródło DNA	Rodzaj zwierząt, produkt	Znaleziono
Schubbert i in. 1994, 1997, 1998 [13, 14, 15]	DNA izolowane z makrofagów	mysz, mysz w ciąży	fragmenty DNA we krwi; fragmenty DNA po 8 godzinach w leukocytach, po 24 godzinach w nerkach i wątrobie; brak w mięśniach
Klotz i Einspanier 1998 [9]	kukurydza, nasiona soi	mleko krowie	fragmenty roślinnego DNA w leukocytach, nieobecne w mleku
Aeschbacher i in. 2001 [1]	kukurydza Bt	brojlery	brak fragmentów DNA w organizmie zwierząt
Einspanier i in. 2001 [4]	kukurydza Bt (ziarno i kiszonka)	brojlery, nioski, opasy, krowy mleczne	fragmenty DNA znaleziono w mięśniach, wątrobie, śledzionie, nerkach brojlerów i niosek, nie stwierdzano obecności DNA u opasów, w jajach, ekskrementach brojlerów i niosek oraz w kale i mleku krów
Hohlweg i Doerfler 2001 [7]	liście soi	mysz	fragmenty DNA znaleziono po 121 i 330 godzinach w wątrobie i śledzionie
Khumnirdpetch i in. 2001 [8]	soja Gt	brojlery	nie stwierdzono obecności fragmentów DNA w mięśniach
Phipps i in. 2001 [11]	kukurydza Bt	mleko krowie	nie stwierdzono obecności fragmentów DNA w mleku
Reuter i in. 2001 [12]	kukurydza Bt	świnie	nie stwierdzono transgenicznego DNA w organach i tkankach

Przyjęcie w Polsce w 2006 roku Ustawy o zakazie stosowania GMO w produkcji żywności i produkcji rolniczej, a następnie przesunięcie do 1. stycznia 2013 roku terminu wejścia w życie tej Ustawy określonej w Dz.U. art. 15, ust. 1, pkt 4 z dnia 22. lipca 2006, a dotyczącej zakazu wytwarzania i wprowadzania do obrotu pasz GMO sprzeczne jest z regulacjami Unii Europejskiej i nie rozwiązuje niezwykle poważnego społecznie i gospodarczo problemu.

Wiele środowisk naukowych i producentów pasz burzliwie dyskutuje te decyzje. Również środowisko naukowe rolniczych uczelni wyższych i instytutów naukowych, w tym także pracownicy naukowcy działający w Komitecie Nauk Zootechnicznych Polskiej Akademii Nauk od wielu lat uczestniczą w badaniach i dyskusjach naukowych dotyczących zagadnień genetycznych, biotechnologii w produkcji zwierzęcej i stosowania genetycznie modyfikowanych organizmów.

W dniu 26. listopada 2008 roku odbyło się seminarium naukowe Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych Polskiej Akademii Nauk poświęcone „Osiągnięciom i problemom genetyki i biotechnologii zwierząt”, którego gospodarzem był Komitet Nauk Zootechnicznych PAN.

W imieniu członków Komitetu Nauk Zootechnicznych chciałabym podziękować władzom V Wydziału PAN za powierzenie nam przygotowania programu naukowego, a referentom za trud włożony w opracowanie obszernych prezentacji i materiałów do publikacji.

Przewodnicząca Komitetu Nauk Zootechnicznych PAN
Prof. dr hab., dr h.c., dr h.c. Dorota Jamroz

Literatura

- [1] Aeschbacher K., Messikommer R., Wenk C. 2001. Physiological characteristics of Bt 176 corn in poultry and destiny of recombinant plant DNA in poultry products. *Anim.Nutr. and Metab.* 45,Suppl. 1: 376.
- [2] Beever D.E., Kemp C.F. 2000. Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of scientific and regulatory procedures. *Nutr. Abstr. Rev. Ser. B.* 70: 175–182.
- [3] Daniel H. 1998. Bewertung der Risiken eines Gentransfers in den menschlichen Organismus nach Verzehr gentechnisch modifizierter Lebensmittel. In VDLUFA, Einfluss von Erzeugung und Verarbeitung auf die Qualität landwirtschaftlicher Produkte, Kurzfassungen der Vorträge. VDLUFA-Verlag, Darmstadt: 119).
- [4] Einspanier R., Klotz A., Kraft J., Aurlich K., Poser R., Schwägele F., Jahreis G., Flachowsky G. 2001. The fate of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. *Eur. Food Res. Tech.* 212: 129–134.
- [5] Flachowsky G., Aulrich K. 2001. Nutritional assesment of feeds from genetically modified organisms. *J. Anim. a. Feed Sci.* 10, Supp. 1: 181–194.
- [6] Flachowsky G., Aulrich K. 2001. Zum Einsatz genetisch veränderter Organismen (GVO) in der Tierernährung. *Übersichten zur Tierernährung* 28: 45–79.
- [7] Hohlweg U., Doerfler W. 2001. On the fate of plant or other foreign genes upon the uptake in feed or after intramuscular injection in mice. *Molecul. Genet. and Genomic* 265: 224–233.
- [8] Khumnirdetch V., Intarachote U., Treemane S., Tragoonroong S., Thummabood S. 2001. Detection of GMOs in the broilers that utilized genetically modified soybean meals as a feed ingredient. Plant and Animal Genome IX Conference, January 13–17, 2001 San Diego, CA, USA
- [9] Klotz A., Einspanier, R. 1998. Nachweis von “Novel-Feed” im Tier? *Mais* 3: 109–111.
- [10] Klotz A., Mayer J., Einspanier R. 2002. Degradation and possible carry over of feed DNA monitored in pigs and poultry. *Europ. Food Res. Technol.* 214: 271–275.
- [11] Phipps R.H., Beever D.E. 2000. New technology: Issues relating to the use of genetically modified crops. *J. Anim. a. Feed Sci.* 9: 543–561.
- [12] Reuter T., Aulrich K., Berk A., Flachowsky G. 2001. Nutritional evaluation of Bt maize in pigs. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 10: 111.
- [13] Schubbert R., Lettmann C., Doerfler W. 1994. Ingested foreign (phage M 13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Mol. Gen. Genet.* 242: 495–504.
- [14] Schubbert R., Renz D., Schmitz B., Doerfler W. 1997. Foreign (M13) DNA ingested by mice reached peripheral leukocytes, spleen and liver via the intestinal wall mucosa and can be linked to mouse DNA. *Procc. Nat. Acad. Sci. USA* 94: 961–966.
- [15] Schubbert R., Hohlweg U., Renz D., Doerfler W. 1998. On the fate of orally ingested foreign DNA in mice: chromosomal association and placental transmission to the fetus. *Mol. Gen. Genet.* 259:569–576.

Zwierzęta domowe jako modele w badaniach chorób dziedzicznych człowieka*

Marek Świtoński

*Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt,
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań
email: switonsk@jay.au.poznan.pl*

Słowa kluczowe: mys, pies, terapia genowa, uszkodzenia genów, syndrom gorączki złośliwej, cechy otyłości, dystrofia mięśniowa, obojnactwo, otyłość

Choroby dziedziczne są ważnym problemem nie tylko współczesnej medycyny człowieka, ale również hodowli zwierząt domowych i medycyny weterynaryjnej. O rosnącym zainteresowaniu chorobami dziedzicznymi zwierząt domowych może świadczyć to, że obok prestiżowej, ogólnodostępnej bazy chorób dziedzicznych człowieka OMIM – **Online Mendelian Inheritance in Man** ([«http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim»](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim)) od kilku lat funkcjonuje analogiczna baza dotycząca zwierząt domowych OMIA – **Online Mendelian Inheritance in Animals** ([«http://omia.angis.org.au»](http://omia.angis.org.au)). Już pobieżne zapoznanie się z bazą OMIA ujawnia, że wśród ponad 2500 jednostek chorobowych opisanych u różnych gatunków zwierząt ponad 1000 jest uznawanych za potencjalne jednostki modelowe dla chorób dziedzicznych człowieka. Zatem obok powszechnie wykorzystywanych w badaniach biomedycznych modeli, jakimi dla człowieka są mysz i szczur, rangę tę zyskują również zwierzęta domowe, a wśród nich szczególną rolę odgrywa pies i świnia [19, 37, 40].

* Referat przedstawiony na seminarium naukowym pt. „Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt”, zorganizowanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN oraz Komitet Nauk Zootechnicznych PAN w Warszawie, 26 listopada 2008 r.

Artykuł ten powstał w związku z badaniami prowadzonymi w ramach projektu N407 057 32/2522, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

W klasyfikacji chorób dziedzicznych, ze względu na sposób ich dziedziczenia, wyróżnia się przede wszystkim choroby uwarunkowane mutacją pojedynczego genu (tzw. choroby monogenowe) oraz choroby o uwarunkowaniu złożonym, czyli zależne od genotypu w większej liczbie *loci* oraz wpływu czynników środowiskowych. Liczba chorób monogenowych zwierząt domowych, które udało się scharakteryzować na poziomie sprawczej zmiany w sekwencji DNA gwałtownie wzrasta w ostatnich latach, dzięki postępowi wiedzy o markerowej mapie i sekwencji genomu najważniejszych gatunków zwierząt domowych. Obecnie znana jest sekwencja genomu bydła, konia, psa, kota, kury, a poznanie sekwencji genomu świni jest bardzo zaawansowane [33]. W najnowszej pracy przeglądowej podsumowującej osiągnięcia z zakresu opisu molekularnego mutacji wywołujących choroby dziedziczne bydła, owcy, kozy i świni wymieniono 45 jednostek chorobowych [13]. Z kolei liczba chorób dziedzicznych psa z poznanym podłożem molekularnym przekroczyła 40 w 2003 r. [32, 37], a obecnie wynosi ok. 70.

Mysz jako gatunek modelowy

Modele zwierzęce chorób dziedzicznych człowieka mogą być tworzone na drodze eksperymentalnej, poprzez tzw. nokaut genowy. Technika ta, dobrze opanowana i szeroko stosowana u myszy, polega na zastąpieniu prawidłowej sekwencji genu przez przygotowaną w warunkach laboratoryjnych sekwencję nieprawidłową, która koduje niefunkcjonalne białko. Procedura składa się z kilku etapów. W hodowanych *in vitro* pierwotnych komórkach zarodkowych zastępowana jest na zasadzie podwójnego crossing over sekwencja prawidłowa danego genu przez nieprawidłową sekwencję, przygotowaną technikami rekombinacji DNA i klonowania molekularnego. Zmodyfikowane genetycznie komórki są wprowadzane do enukleowanych (pozbawionych chromosomów będących w stadium metafazy II) oocytów II rzędu i poddawane hodowli *in vitro*. Tak uzyskane zarodki przenoszone są do biorczyń i w efekcie uzyskuje się potomstwo heterozygotyczne, to znaczy z wymienioną jedną kopią genu (jednoczesna wymiana obu kopii w homologicznych *loci* jest bardzo mało prawdopodobna). Kolejnym krokiem jest kojarzenie między sobą myszy heterozygotycznych pod względem znokautowanego genu, w celu uzyskania zwierząt homozygotycznych. Takie zwierzęta nie produkują prawidłowego białka i dzięki temu możliwa jest szczegółowa ocena fenotypu takich myszy oraz prowadzenie eksperymentów, których celem jest terapia rozwijającej się choroby. Opanowanie techniki nokautu genowego zaowocowało stworzeniem tysięcy modelowych myszy, u których nie funkcjonuje produkt wybranego, nokautowanego genu [39]. Myszy, a także szczury, z nokautem genowym wybranego genu można zamówić w wyspecjalizowanych firmach biotechnologicznych, np. Ozgene («<http://www.ozgene.com/>»). O znaczeniu nie tylko poznawczym techniki nokautu genowego świadczy m.in.

przyznanie nagrody Nobla w 2007 r. za „opracowanie podstaw modyfikacji genowych myszy z wykorzystaniem pierwotnych komórek zarodkowych”.

Obserwacja fenotypu zwierząt z nokautowanym genem pozwala na weryfikowanie hipotezy o przyczynowości mutacji tego genu w patogenie określonych chorób monogenowych człowieka oraz testowania różnorodnych procedur terapeutycznych, w tym terapii genowych. W przypadku chorób o złożonym uwarunkowaniu mysz również jest pierwszoplanowym gatunkiem modelowym, ze względu na wyprowadzenie wielu linii myszy wsobnych o zróżnicowanych fenotypach. Kojarzenie takich linii może wskazać regiony chromosomowe, w których występują geny odpowiedzialne za występowanie tych różnic. W badaniach takich analizuje się dziedziczenie wielu, równomiernie rozproszonych w genomie markerów genetycznych w 3-pokoleniowych rodzinach, której założycielami (pokolenie rodzicielskie – P) są dwa szczepy wsobne znacząco różniące się fenotypem (np. myszy o normalnym odkładaniu tkanki tłuszczowej i myszy otyłe). Uzyskane z takiego kojarzenia pokolenie F1 jest kojarzone między sobą w celu uzyskania pokolenia F2. Analiza genotypu zwierząt z pokolenia F2 oraz ich fenotypu pozwala na wskazanie, które regiony chromosomowe odziedziczone po rodzicu reprezentującym wyjściową linię otyłą są obecne w genotypie myszy otyłych z pokolenia F2 [6]. W taki sposób zidentyfikowano dotąd dziesiątki regionów QTL (**q**uantitative **t**rait **l**oci), w których można spodziewać się mutacji odpowiedzialnych za otyłość ([«http://193.175.234.87/QTL/overview.php»](http://193.175.234.87/QTL/overview.php)).

Mysz jako gatunek modelowy dla człowieka, obok wielu niewątpliwych zalet, ma jednak również pewne mankamenty. Badania z zakresu genomiki porównawczej wskazują, że różnice między genomem człowieka i myszy są wyraźnie większe niż między przykładowo genomem człowieka i psa [16]. Kolejna kwestia dotyczy chorób, które nie ujawniają się w okresie perinatalnym, a fenotyp chorobowy pojawia się w starszym wieku. W przypadku takich chorób nie bez znaczenia jest długość życia, która u myszy jest znacznie krótsza niż u dużych ssaków. Ma to również znaczenie przy długofalowej ocenie efektów terapeutycznych, a także ewentualnych niepożądanych efektów ubocznych terapii genowej. Wreszcie nie wszystkie mysie modele chorób dziedzicznych rozwijają identyczne symptomy chorobowe jak w przypadku człowieka. Przykładem może być mysi model (myszy mdx) dystrofii mięśniowej Duchenne’a (DMD) – ciężkiej choroby chłopców, wywołanej przez mutację sprzężoną z płcią. Znaczące różnice dotyczące nasilenia cech dystroficznych u myszy mdx i pacjentów z DMD wskazuje, że psy z dystrofią mięśniową wydają się szczególnie przydatne do testowania różnych wariantów terapii genowej, czy komórkowej tej choroby dziedzicznej [42].

Choroby genetyczne psa i osiągnięcia z zakresu ich terapii genowej

Niespotykana u innych gatunków zmienność fenotypowa psów jest efektem wielowiekowej pracy hodowlanej. Obecnie uznawanych jest blisko 400 ras, które wyróżniają się charakterystycznymi właściwościami morfologicznych (wielkość, proporcje budowy ciała, umaszczenie itp.) oraz behawioralnych. Niestety w wielu rasach występują również niepożądane choroby dziedziczne. Utrwalenie się w niektórych rasach określonych jednostek chorobowych jest efektem dryfu genetycznego, który pojawia się w małych populacjach lub wywodzących się z niewielkiej liczby założycieli (tzw. efekt założyciela) czy też w rasach, w których doszło do okresowego zmniejszenia liczebności (tzw. efekt szyjki od butelki). W bazie OMIA wyodrębnionych jest ponad 470 patologicznych fenotypów, które opisano u psów. Wiele jednostek chorobowych o ustalonym podłożu molekularnym ma kliniczne odpowiedniki u człowieka. Są wśród nich m.in.: lizosomalne choroby spichrzeniowe (np. mukopolisacharydozy), dystrofie siatkówki (np. wrodzona postępująca nocna ślepotą CSNB – **C**ongenital **S**tationary **N**ight **B**lindness), hemofilie (np. hemofilia A), choroby immunologiczne (np. ciężki złożony niedobór odporności SCID – **S**evere **C**ombined **I**mmuno **D**eficiency), choroby neurologiczne (np. narkolepsja), dystrofia mięśniowa itd.

Wiele chorób opisanych u psa występuje tylko w jednej rasie lub co najwyżej w kilku. Rasą, w której występuje jedna z form dystrofii siatkówki jest owczarek francuski briard (Berger de Brie). Choroba ta nosi nazwę wrodzonej postępującej nocnej ślepoty (CSNB), a jej kliniczny odpowiednik u człowieka to dziecięca ślepotą Lebera. Z obserwacji hodowlanych wynikało, że choroba ta spowodowana jest przez recesywny gen autosomalny. W poszukiwaniu podłoża molekularnego CSNB kluczowe znaczenie miało wykrycie mutacji recesywnej w genie *RPE65*, która wywołuje dziecięcą ślepotą Lebera. Analiza molekularna tego genu u chorych briardów doprowadziła do wykrycia sprawczej mutacji, którą była 4-nukleotydomowa delecja wywołująca pojawienie się przedwczesnego kodonu stop i w konsekwencji syntezy nieaktywnego biologicznie białka [43]. Badania prowadzone w różnych krajach wykazały, że mutacja ta jest szeroko rozprzestrzeniona, a jej nosiciele zidentyfikowano również wśród briardów hodowanych w Polsce [35]. Warto zauważyć, że u ludzi opisano ponad 20 różnych mutacji genu *RPE65*, które są odpowiedzialne za dziecięcą ślepotą Lebera [38].

Ponieważ podobieństwo tej postaci zaniku siatkówki u dzieci i briardów jest bardzo duże, dlatego wkrótce po opisanu mutacji przyczynowej u psów podjęto próby przeprowadzenia terapii genowej, której celem było przywrócenie zdolności widzenia psom, u których choroba była już silnie zaawansowana. W 2001 r. na łamach *Nature Genetics* ukazała się praca o przełomowym znaczeniu w zakresie uznania psa jako bardzo ważnego gatunku modelowego w testowaniu procedur terapii genowej

[1]. Autorzy wykonali eksperyment polegający na wprowadzeniu pod siatkówkę psów z zaawansowaną chorobą konstruktu genowego z sekwencją kodującą genu *RPE65* (cDNA), sklonowanego w wektorze wirusowym (AAV – wirus towarzyszący adenowirusom). W celu uzyskania precyzyjnej odpowiedzi na temat skuteczności tej procedury badaniami objęto cztery chore psy, którym wykonano kilka kombinacji iniekcji (tab. 1). Okazało się, że dostarczenie prawidłowego genu (cDNA *RPE65*) pod siatkówkę przywracało widzenie chorym okiem. Ten niewątpliwý sukces wymagał jeszcze oceny rozłożonej w czasie, w zakresie długotrwałości efektu terapeutycznego i ewentualnego wystąpienia niepożądanych efektów ubocznych. Cztery lata później ukazała się praca tego samego zespołu autorów wskazująca, że efekt zastosowanej terapii genowej u briardów jest trwały (ponad 3 lata od momentu przeprowadzenia procedury), ekspresja wprowadzonego genu ma miejsce jedynie w siatkówce i co bardzo ważne nie zaobserwowano żadnych niepokojących ubocznych efektów immunologicznych [2]. Główną konkluzją tej pracy było stwierdzenie, że pomyślne zastosowanie procedury terapii genowej u psów upoważnia do przeprowadzenia testów klinicznych u dzieci. Nie minęło wiele czasu i badania takie podjęto w trzech ośrodkach okulistycznych – jednym w Wielkiej Brytanii i dwóch w USA [3]. Ta dość krótka historia badań, zamykająca się w niespełna 10 latach, wyraźnie wykazuje, że zwierzęta domowe mogą być bardzo użytecznymi modelami w badaniach chorób dziedzicznych człowieka i ich terapii.

Tabela 1. Skuteczność terapii genowej dystrofii siatkówki u chorych psów rasy briard (na podstawie [1])

Pies	Wiek [dni]	Oko P – prawe, L – lewe	Miejsce iniekcji PS – podsiatkówkowo, CSz – ciało szkliste, BI – bez iniekcji	Efekt + przywrócenie widzenia, – brak efektu
1	132	P L	PS BI	+ –
2	124	P L	PS CSz	+ –
3	108	P L	PS CSz	+ –
4	108	P L	BI BI	– –

W grupie spichrzeniowych chorób lizosomalnych człowieka wyodrębnia się ponad 40 jednostek, spowodowanych mutacjami różnych genów kodujących enzymy lizosomalne. Choroby te zaliczane są do grupy autosomalnych chorób recesywnych. W rozwoju tych chorób dochodzi do gromadzenia w lizosomach produktów, które w wyniku mutacji nie podlegały dalszemu metabolizowaniu [24]. Choroby tego typu występują również u psów i w przypadku niektórych z nich znana jest mutacja przyczynowa, co pozwoliło na podjęcie prób terapii genowej. Przykładem może być mukopolisacharydoza typu VII, która jest spowodowana mutacją genu β -glukuronidazy (*GUSB*) zmieniającą jeden aminokwas (Arg166His) w kodowanym białku.

Zmiana ta prowadzi do inaktywacji enzymu i w konsekwencji gromadzenia się w lizosomach glikoaminoglikanów. Klinicznym efektem rozwoju tej choroby są m.in. zmiany w budowie rogówki oka i zastawki dwudzielnej serca oraz najłatwiej zauważalne kłopoty z poruszaniem się. Także w przypadku tej choroby podjęto udaną próbę terapii genowej. Tym razem jednak konstrukt genowy zawierający cDNA genu *GUSB*, sklonowany w wektorze retrowirusowym, wprowadzono dożylnie kilkudniowym, chorym szczeniętom [23]. Psy poddane terapii, w okresie obserwacji trwającej od 6 do 17 miesięcy, funkcjonowały normalnie i nie wykazywały klasycznych symptomów dla mukopolisacharydozy.

Kolejny przykład udanej terapii genowej dotyczy hemofilii typu A u seterów irlandzkich. Choroba ta, podobnie jak u ludzi, wywołana jest mutacją genu *FVIII*, sprzężonego z płcią i kodującego VIII czynnik krzepnięcia krwi. Chorym psom wprowadzono dożylnie konstrukt zawierający cDNA genu *FVIII*, który sklonowano w wektorze wirusowym AAV. Trzyletnia obserwacja psów poddanych terapii wykazała trwałość efektu terapeutycznego, co stwarza przesłanki do podjęcia testów klinicznych u chorych dzieci [14].

Znacznie trudniejszym zadaniem jest terapia genowa wspomnianej wcześniej dystrofii mięśniowej Duchenne'a (DMD). Ta ciężka, postępująca choroba dziedziczna dzieci i młodzieży prowadzi do śmierci w młodym wieku. Jest ona wywołana przez mutację największego w genomie człowieka genu dystrofiny (ponad 2,5 mln pz). *Locus* tego genu znajduje się w chromosomie X, dlatego choroba ta występuje jedynie u chłopców. Ponieważ obraz kliniczny tej choroby u myszy modelowych (*mdx*) nie w pełni odpowiada zmianom obserwowanym u chłopców z DMD dlatego zwrócono uwagę na psy rasy golden retriever, u których występuje ta choroba. Jest ona wywołana substytucją A→G w intronie 6, która prowadzi do nieprawidłowego składania mRNA i w konsekwencji do wycięcia eksonu 7. Z racji na duże rozmiary genu (cDNA ma długość ponad 11000 pz) oraz fakt, że patologia dotyczy mięśni testowane są zmodyfikowane procedury terapii genowej. Początkowo testowano terapię z wykorzystaniem cDNA genu utrofiny, umieszczonej w wektorze AAV. Gen ten koduje białko mogące przynajmniej częściowo rekompensować dysfunkcję zmutowanej dystrofiny [8]. Kolejne próby oparto na wprowadzaniu do mięśni genów tzw. mini-dystrofin lub mikro-dystrofin, czyli skonstruowanych metodami inżynierii chromosomowej genów zawierających tylko kluczowe dla funkcji kodowanego białka eksony. Znanych jest kilka konstrukcji tego typu, których wielkość w przypadku mini-dystrofiny wynosi 6,3 tys. pz, a mikro-dystrofiny od 3,6 do 3,9 tys. pz [11]. Eksperymenty wykonane na myszach *mdx*, którym wprowadzono modyfikowane komórki psa z wprowadzonymi genem mini-dystrofiny, są zachęcające i być może kolejny przełom w terapii choroby dziedzicznej człowieka będziemy za wdzięczać badaniom psów [41].

Choroby genetyczne zwierząt gospodarskich i ich odpowiedniki u człowieka

Klasycznym przykładem wykorzystania wiedzy o chorobach dziedzicznych zwierząt gospodarskich w poznaniu podłoża molekularnego choroby dziedzicznej człowieka jest historia dotycząca tzw. genu halotanowego. Istotnym problemem hodowli świń, rozpoznany w latach 60. i 70. XX w., był problem podatności świń na stres, który z jednej strony prowadzić mógł do upadków zwierząt eksponowanych na stres, np. transportowy, a drugiej wywoływał niepożądane zmiany w tkance mięśniowej, których skutkiem były wady mięsa (PSE – mięso blade, miękkie i wodniste). Badania klasycznych markerów genetycznych pozwoliły ustalić, że *locus Hal* jest sprzężony z kilkoma markerami, które są położone w chromosomie 6 (m.in. *loci*: układu grupowego krwi H, genu izomerazy fosfoglukozowej – *GPI* i dehydrogenazy fosfoglukonianowej – *PGD*).

Symptomy kliniczne, wywołane czynnikiem stresowym, pojawiające się u homozygotycznych świń są zbliżone do tych, jakie są obserwowane u ludzi obciążonych syndromem gorączki złośliwej (MH – **m**alignant **h**yperthermia), objawiającym się m.in. gwałtownym wzrostem temperatury ciała oraz tętna, po zastosowaniu anestezji wziewnej halotanem. Podobieństwo to sprawiło, że badania świń stały się obiektem zainteresowania genetyków ludzkich. Dzięki tym badaniom ustalono, że *locus* odpowiedzialny za MH jest położony w chromosomie 19 człowieka. W regionie tym poddano szczegółowym analizom molekularnym jeden z genów kandydujących, który koduje receptor rianodyny typu 1 (*RYR1*) i stwierdzono, że właśnie w tym genie występuje mutacja odpowiedzialna za ten zespół chorobowy [20]. W ślad za tym odkryciem wykonano badania molekularne świń podatnych na stres, tzn. homozygotycznie recesywnych w *locus Hal* i zidentyfikowano mutację sprawczą, którą okazała się jednonukleotydową substytucją C>T, zmieniającą argininę na cysteinę w pozycji 615 kodowanego polipeptydu, Arg615Cys [12].

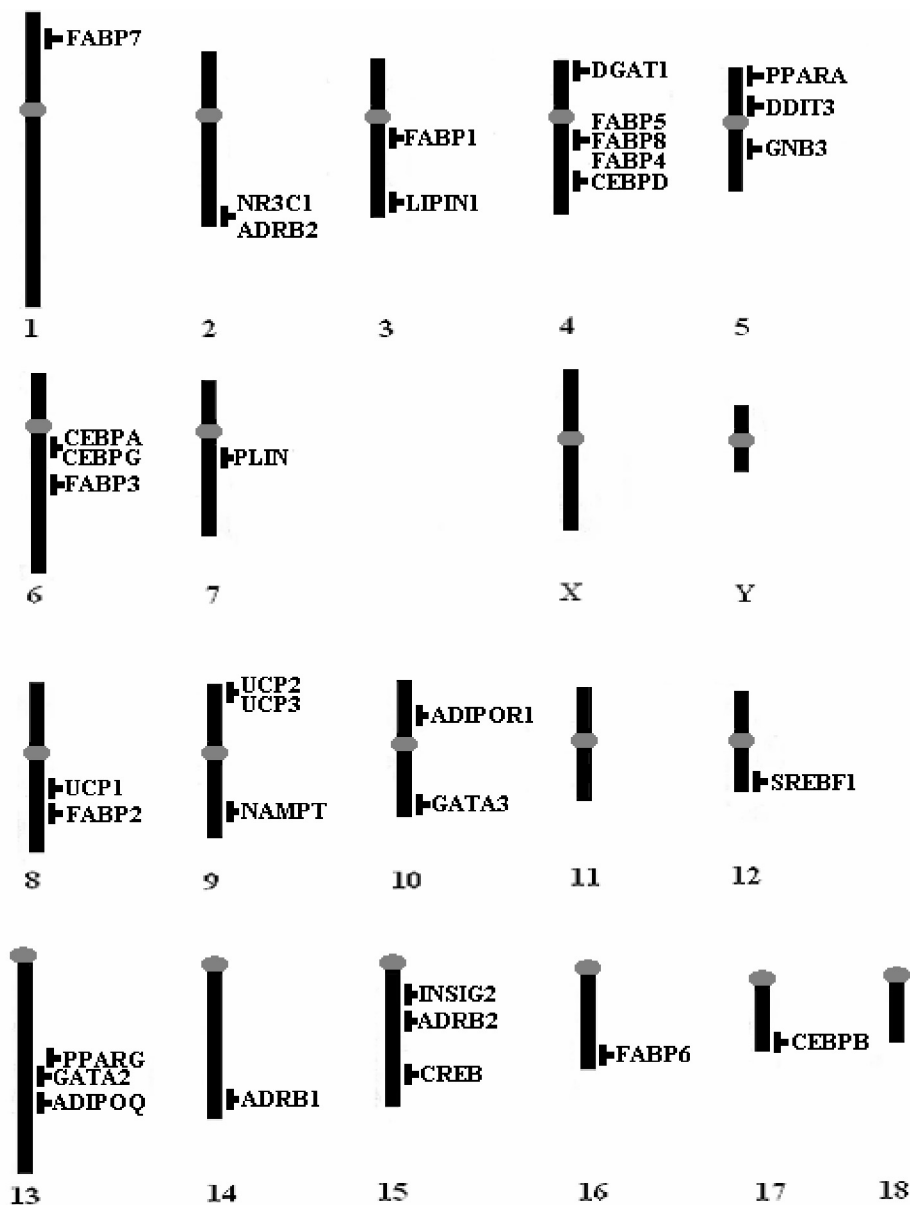
Wieloletnie badania ludzi, u których wystąpiły epizody gorączki złośliwej ujawniły ponad 90 polimorfizmów w genie *RYR1*, wśród których 25 odpowiedzialnych jest za wystąpienie choroby, jeśli pacjent był poddany anestezji wziewnej halotanem, sevofluranem, czy desfluranem [25]. Mutacje wywołujące MH ludzi wykazują charakterystyczne rozprzestrzenienie geograficzne. Przykładowo, wśród mutacji diagnozowanych w Niemczech najczęściej występowały dwie Arg614Cys i Thr2206Met, w Szwajcarii przeważała jedna – Val2168Met, a w Wielkiej Brytanii były to dwie inne mutacje – Gly341Arg i Gly2434Arg [25]. Na marginesie warto odnotować, że syndrom MH człowieka dziedziczony jest jak cecha autosomalna dominująca, a nie recesywna jak w przypadku świń.

Wrodzone wady rozwojowe układu rozrodczego, określane również jako obojnactwo czy interseksualizm są dość często przyczyną niepłodności człowieka i zwierząt domowych. Jedną z form tych nieprawidłowości jest obojnactwo objawiające się

występowaniem jąder lub jajniko-jąder, macicy i nasieniowodów oraz maskulizowanych zewnętrznych narządów płciowych (srom z silnie przerośniętą łechtaczką), któremu towarzyszy prawidłowy zestaw dwóch chromosomów X, a badania molekularne nie wykazują obecności genu *SRY*, który jest odpowiedzialny za przekształcenie niezróżnicowanych gonad płodowych w jądra. Ten typ obojactwa opisywany jest u ludzi i zwierząt domowych, wśród których szczególne znaczenie modelowe przypisywano kozie. W gatunku tym od dawna był znany tzw. obojnaczy zespół bezrożnych kóz (PIS – **p**ollidness **i**ntersexuality **s**ndrome). Prowadzone przez szereg lat poszukiwania podłoża molekularnego tego zburzenia najpierw doprowadziły do identyfikacji w chromosomie 1 markerów sprzężonych z *locus PIS*, a następnie ustalono, że mutacja sprawcza to delecja blisko 12 tysięcy par zasad w regionie znajdującym się w pobliżu dwóch genów zaangażowanych w determinację płci (*PISRT1* i *FOXL2*), która zakłóca ich ekspresję [22]. Wydawało się, że odkrycie to pozwoli na identyfikację mutacji odpowiedzialnej za klinicznie analogiczne zaburzenia rozwojowe u innych gatunków ssaków domowych (pies, świnia, koń), a także człowieka. Niestety dotychczasowe badania nie potwierdziły tych przypuszczeń, przynajmniej w przypadku psa. Analiza dziedziczenia markerów mikrosatelitarnych, położonych w sąsiedztwie genów *PIRST1* i *FOXL2*, w rodzinach referencyjnych, w których występowały chore psy, nie wskazała na obecność sprawczej mutacji w tym regionie [15]. Pomimo to, z badań przeprowadzonych na kozach, a także innych gatunkach zwierząt domowych, np. świnia [34], pies [36] i koń [7], wynika kilka istotnych, ogólnych wniosków. Po pierwsze, wada ta dziedziczy się zgodnie z modelem recesywnie autosomalnym. Po drugie, rozwija się wyłącznie u osobników z układem chromosomów XX, czyli w przypadku kojarzenia nosicieli mutacji prawdopodobieństwo urodzenia się potomka z wadą wynosi 12,5%. Wreszcie po trzecie, obserwacje te dowiodły niezbicie, że struktury męskiego układu rozrodczego mogą się rozwijać pod nieobecność genu *SRY*.

Bardzo trudnym obiektem badawczym są choroby o złożonym uwarunkowaniu, czyli zależne od genotypu w wielu *loci* oraz pozostające pod wpływem czynników środowiskowych. Przykładem może być otyłość oraz powiązany z nią zespół metaboliczny, które są uznawane za choroby cywilizacyjne człowieka. Chociaż otyłość w dużym stopniu zależy od diety i aktywności fizycznej, to jednak nie ulega wątpliwości, że udział komponentu genetycznego jest bardzo duży. Świadczy o tym m.in. to, że współczynnik odziedziczalności (h^2) zawiera się w przedziale od 0,3 do 0,7. Chociaż znane są przypadki dziedzicznej otyłości wywołane mutacjami pojedynczych genów, głównie receptora typu 4 melanokortyny (*MC4R*), to jednak poszukiwania koncentrują się na mutacjach jedynie predysponujących do otyłości. Jak dotąd przyniosły one niewiele spektakularnych odkryć.

Ostatnio wskazano m.in., że prosty polimorfizm typu SNP w intronie 1 genu *FTO* (fat mass and obesity-associated gene) wykazuje uchwytny związek z predyspozycją do otyłości [17]. W ślad za tymi doniesieniami przeprowadzono badania świń



Rysunek 1. Lokalizacja 34 genów kandydujących dla cech związanych z odkładaniem tkanki tłuszczowej w chromosomach świni [na podstawie [21, 28, 29, 30]]

i wstępne wyniki sugerują związek polimorfizmu (T276G) z zawartością tłuszczu śródmięśniowego u świń rasy duroc, przy jednoczesnym ich braku w sześciu innych badanych rasach [10]. Wyniki te wskazują, że prawdopodobnie w genie *FTO* świni (lub jego sąsiedztwie) nie występują polimorfizmy, które mają silny i powtarzalny – tzn. obserwowany we wszystkich rasach – związek z cechami otłuszczenia. Nie można zatem, przynajmniej na razie, uznać że polimorfizm tego genu ma uchwytny wpływ na cechy otłuszczenia świń. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku polimorfizmu *MC4R*. U ludzi, jak wcześniej już wspomniano, mutacje tego genu mogą być odpowiedzialne za dziedziczne, monogenowe formy otyłości. Stwierdzono jednak, że polimorfizmy *MC4R* mogą również odpowiadać za predyspozycje do rozwoju tzw. powszechnej formy otyłości, czyli o uwarunkowaniu złożonym [18]. Polimorfizm tego genu świni, prowadzący do zamiany aminokwasów Asp298Asn, był analizowany przez wielu autorów, jednak wyniki nie były w pełni powtarzalne. Okazało się, że związek polimorfizmu z dobowym przyrostem masy ciała i pobieraniem paszy jest powtarzalny, ale nie dotyczyło to grubości słoniny [26]. Powyższe przykłady wskazują, że przewidywanie związku polimorfizmu określonego genu z fenotypem, na podstawie obserwacji pochodzących z badań wykonanych dla innego gatunku, powinno być bardzo ostrożne.

Badania odkładania tkanki tłuszczowej przez świnię podyktowane są względami produkcyjnymi, z racji związku z opłacalnością tuczu (odkładanie tkanki tłuszczowej wymaga większych nakładów energetycznych) i jakością mięsa (cecha marmurkowości). Już w pierwszej połowie lat 90. XX wieku wskazano, na podstawie badania rodzin referencyjnych, wiele regionów QTL, w których przewidywana jest obecność mutacji wpływających na cechę otłuszczenia (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/pig.html>). Uzupełnieniem tych badań jest poszukiwanie polimorfizmu w wytypowanych genach kandydujących, które są położone w regionach QTL dla cech otłuszczenia oraz są funkcjonalnie powiązane z gospodarką lipidową. Dotychczas analizowano już wiele polimorfizmów, ale uzyskane zależności nie zawsze były zgodne. Rozbieżności takie, oprócz opisanego powyżej polimorfizmu genu *MC4R*, opisano m.in. w odniesieniu do genu *FABP4* (*A-FABP*) [9] oraz genu leptyny [27,31].

Liczba genów kandydujących, wskazanych także dzięki badaniom człowieka i myszy, których polimorfizm może mieć związek z cechami otłuszczenia jest duża. Stąd określenie ich położenia chromosomowego względem znanych regionów QTL dla cech otłuszczenia w genomie świni jest ważnym etapem wstępnym. Ostatnio zmapowano ponad 30 z tych genów, których lokalizację przedstawiono na rys. 1. Szczególnie interesującym, z punktu widzenia typowania genów kandydujących, wydaje się region QTL określany skrótem *FAT1*, który jest położony w chromosomie 4 świni. Początkowo wskazywano, że dobrymi genami kandydującymi są trzy geny z rodziny *FABP* (*FABP4*, *FABP5* i *FABP8*). Zawężenie regionu *FAT1* do obszaru o długości ok. 3 cM [4] oraz cytogenetyczne zmapowanie tych genów poza tym regionem [29] wykluczyły je jednak z grona genów kandydujących.

Podsumowanie

Osiągnięcia genomiki zwierząt domowych znacząco poszerzyły wiedzę o mapie i sekwencji genomów oraz budowie, polimorfizmie i ekspresji genów. Dzięki temu zwierzęta domowe traktowane są niejednokrotnie jako ważne organizmy modelowe w badaniach podłoża i terapii chorób dziedzicznych człowieka. Prowadzenie takich badań wymaga ścisłej współpracy między genetykami i hodowcami zwierząt oraz specjalistami z zakresu weterynarii oraz medycyny człowieka. Nieodłączną częścią takich badań, kiedy celem jest analiza podłoża molekularnego chorób dziedzicznych, jest gromadzenie danych oraz próbek biologicznych (m.in. na potrzeby analizy polimorfizmu DNA) od zwierząt chorych i ich zdrowego rodzeństwa oraz ich rodziców. W ten sposób budowane są tzw. rodziny referencyjne, w których analizowane jest dziedziczenie markerów genetycznych (sekwencje mikrosatelitarne, polimorfizmy SNP – w tym z wykorzystaniem mikromacierze SNP) w powiązaniu z występowaniem osobników chorych. W ten sposób identyfikuje się region chromosomowy, w którym spodziewana jest mutacja odpowiedzialna za rozwój choroby. Ostatecznym etapem jest identyfikacja wśród występujących polimorfizmów tego, który wywołuje chorobę. O znaczeniu tak prowadzonych badań modelowych może świadczyć między innymi i to, że wyniki wielu badań z tego zakresu, które przeprowadzono na modelowych zwierzętach domowych, zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z zakresu medycyny człowieka. Niestety zainteresowanie tym ważnym kierunkiem badawczym w Polsce stale nie jest zadawalające.

Literatura

- [1] Acland G.M., Aguirre G.D., Ray J., Zhang Q., Aleman T.S., Cideciyan A.V., Pearce-Kelling S.E., Anand V., Zeng Y., Maguire A.M., Jacobson S.G., Hauswirth W.W., Bennett J. 2001. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat. Genet.* 28: 92–95.
- [2] Acland G.M., Aguirre G.D., Bennett J., Aleman T.S., Cideciyan A.V., Bencicelli J., Dejneka N.S., Pearce-Kelling S.E., Maguire A.M., Palczewski K., Hauswirth W.W., Jacobson S.G. 2005. Long-term restoration of rod and cone vision by single dose rAAV-mediated gene transfer to the retina in a canine model of childhood blindness. *Mol. Ther.* 12: 1072–1082.
- [3] Bainbridge J.W., Ali R.R. 2008. Keeping an eye on clinical trials in 2008. *Gene Ther.* 15: 633–634.
- [4] Berg F., Stern S., Andersson K., Andersson L., Moller M. 2006. Refined localization of the FAT1 quantitative trait locus on pig chromosome 4 by marker-assisted backcrossing. *BMC Genet.* 7: 17.
- [5] Brandom B.W. 2006. Genetics of malignant hyperthermia. *Scientific World Journal* 6: 1722–1730.
- [6] Brockmann G.A., Bevova M.R. 2006. Using mouse models to dissect the genetics of obesity. *Trends Genet.* 18: 367–376.
- [7] Buoen L.C., Zhang T.Q., Weber A.F., Ruth G.R. 2000. SRY-negative, XX intersex horses: the need for pedigree studies to examine the mode of inheritance of the condition. *Equine Vet. J.* 32: 78–81.
- [8] Cerletti M., Negri T., Cozzi F., Colpo R., Andreetta F., Croci D., Davies K.E., Cornelio F., Pozza O., Karpati G., Gilbert R., Mora M. 2003. Dystrophic phenotype of canine X-linked muscular dystrophy is mitigated by adenovirus-mediated utrophin gene transfer. *Gene Ther.* 10: 750–757.

- [9] Chmurzyńska A., Maćkowski M., Szydłowski M., Melonek J., Kamyczek M., Eckert R., Różycki M., Świtoński M. 2004. Polymorphism of intronic microsatellites in the *A-FABP* and *LEPR* genes and its association with productive traits in the pig. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 615–624.
- [10] Fontanesi L., Scotti E., Buttazzoni L., Davoli R., Russo V. 2009. The porcine fat mass and obesity associated (FTO) gene is associated with fat deposition in Italian Duroc pigs. *Anim Genet.* 2008 Sep. 11. [Epub ahead of print]
- [11] Foster K., Foster H., Dickson J.G. 2006. Gene therapy progress and prospects: Duchenne muscular dystrophy. *Gene Ther.* 13: 1677–1685.
- [12] Fujii J., Otsu K., Zorzato F., de Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., MacLennan D.H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science* 253: 448–451.
- [13] Ibeagha-Awemu E.M., Kgwatalala P., Ibeagha A.E., Zhao X. 2008. A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *Mamm. Genome* 19: 226–245.
- [14] Jiang H., Lillcrap D., Patarroyo-White S., Liu T., Qian X., Scallan C.D., Powell S., Keller T., McMurray M., Labelle A., Nagy D., Vargas J.A., Zhou S., Couto L.B., Pierce G.F. 2006. Multiyear therapeutic benefit of AAV serotypes 2, 6, and 8 delivering factor VIII to hemophilia A mice and dogs. *Blood* 108: 107–115.
- [15] Kothapalli K.S., Kirkness E., Natale L.J., Meyers-Wallen V.N. 2003. Exclusion of PISRT1 as a candidate locus for canine Sry-negative XX sex reversal. *Anim. Genet.* 34: 467–479.
- [16] Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S. i in. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 438: 803–819.
- [17] Loos R.J., Bouchard C. 2008. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes. Rev.* 9: 246–250.
- [18] Loos R.J., Lindgren C.M., Li S., Wheeler E. i in. 2008. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 40: 768–775.
- [19] Lunney J.K. 2007. Advances in swine biomedical model genomics. *Int. J. Biol. Sci.* 3: 179–184.
- [20] MacLennan D.H., Duff C., Zorzato F., Fujii J., Phillips M., Korneluk R.G., Frodis W., Britt B.A., Worton R.G. 1990. Ryanodine receptor gene is a candidate for predisposition to malignant hyperthermia. *Nature* 343: 559–561.
- [21] Nowacka-Wozuk J., Szczerbal I., Fijak-Nowak H., Switonski M. 2008. Chromosomal localization of 13 candidate genes for human obesity in the pig genome. *J. Appl. Genet.* 49: 373–377.
- [22] Pailhoux E., Vigier B., Chaffaux S., Servel N., Taourit S., Furet J.P., Fellous M., Grosclaude F., Cribiu E.P., Cotinot C., Vaiman D. 2001. A 11.7-kb deletion triggers intersexuality and polledness in goats. *Nat. Genet.* 29: 453–458.
- [23] Ponder K.P., Melniczek J.R., Xu L., Weil M.A., O'Malley T.M., O'Donnell P.A., Knox V.W., Aguirre G.D., Mazrier H., Ellinwood N.M., Sleeper M., Maguire A.M., Volk S.W., Mango R.L., Zweigle J., Wolfe J.H., Haskins M.E. 2002. Therapeutic neonatal hepatic gene therapy in mucopolysaccharidosis VII dogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 13102–13107.
- [24] Reuser A.J., Drost M.R. 2006. Lysosomal dysfunction, cellular pathology and clinical symptoms: basic principles. *Acta Paediatr. Suppl.* 95: 77–82.
- [25] Rosenberg H., Davis M., James D., Pollock N., Stowell K. 2007. Malignant hyperthermia. *Orphanet J. Rare Dis.* 2: 21.
- [26] Stachowiak M., Szydłowski M., Obarzanek-Fojt M., Świtoński M. 2006. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful. *Anim. Genet.* 37: 55–57.
- [27] Stachowiak M., Maćkowski M., Madeja Z., Szydłowski M., Buszka A., Kaczmarek P., Rubiś B., Maćkowiak P., Nowak K.W., Świtoński M. 2007. Polymorphism of the porcine leptin gene promoter and analysis of its association with gene expression and fatness traits. *Biochem. Genet.* 45: 245–253.
- [28] Szczerbal I., Lin L., Stachowiak M., Chmurzyńska A., Maćkowski M., Winter A., Flisikowski K., Fries R., Świtoński M. 2007. Cytogenetic mapping of *DGAT1*, *PPARA*, *ADIPOR1* and *CREB* genes in the pig. *J. Appl. Genet.* 48: 73–77.
- [29] Szczerbal I., Chmurzyńska A., Świtoński M. 2007. Cytogenetic mapping of eight genes encoding fatty acid-binding proteins (FABPs) in the pig genome. *Cytogenet. Genome Res.* 118: 63–66.
- [30] Szczerbal I., Chmurzyńska A. 2008. Chromosomal localization of nine porcine genes encoding transcription factors involved in adipogenesis. *Cytogenet. Genome Res.* 121: 50–54.

- [31] Szydłowski M., Stachowiak M., Maćkowski M., Kamyczek M., Eckert R., Różycki M., Świtoński M. 2004. No major effect of the leptin gene polymorphism on porcine production traits. *J. Anim. Breed. Genet.* 121: 149–155.
- [32] Świtoński M. 2004. Gene mutations causing hereditary diseases in dogs. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 22: 131–134.
- [33] Świtoński M. 2008. Postępy genomiki zwierząt domowych. *Nauka* 1: 27–43.
- [34] Świtoński M., Jackowiak H., Godynicki S., Klukowska J., Borsiak K., Urbaniak K. 2002. Familial occurrence of pig intersexes (38,XX; SRY-negative) on a commercial fattening farm. *Anim. Reprod. Sci.* 69: 117–124.
- [35] Świtoński M., Konieczny P., Klukowska J., Janyga B., Aguirre G. 2002. Mikrodelecja w genie RPE65 wywołująca dziedziczną dystrofię siatkówki u polskiej populacji psów rasy briard. *Medycyna Wet.* 58: 946–949.
- [36] Świtoński M., Nowacka J., Skorzyczyk A., Chmurzyńska A., Niżanski W. 2004. Dziedziczny zespół odwróconej płci (78,XX; brak genu *SRY*) u dwóch szczeniąt owczarka niemieckiego. *Medycyna Wet.* 60: 705–707.
- [37] Świtoński M., Szczerbal I., Nowacka J. 2004. The dog genome map and its use in mammalian comparative genomics. *J. Appl. Genet.* 45: 195–214.
- [38] Thompson D.A., Gyűrűs P., Fleischer L.L., Bingham E.L., McHenry C.L., Apfelstedt-Sylla E., Zrenner E., Lorenz B., Richards J.E., Jacobson S.G., Sieving P.A., Gal A. 2000. Genetics and phenotypes of RPE65 mutations in inherited retinal degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41: 4293–4299.
- [39] Thyagarajan T., Totey S., Danton M.J., Kulkarni A.B. 2003. Genetically altered mouse models: the good, the bad, and the ugly. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 14: 154–74.
- [40] Tsai K.L., Clark L.A., Murphy K.E. 2007. Understanding hereditary diseases using the dog and human as companion model systems. *Mamm. Genome* 18: 444–451.
- [41] Wang B., Li J., Qiao C., Chen C., Hu P., Zhu X., Zhou L., Bogan J., Kornegay J., Xiao X. 2008. A canine minidystrophin is functional and therapeutic in mdx mice. *Gene Ther.* 15: 1099–1106.
- [42] Vainzof M., Ayub-Guerrieri D., Onofre P.C., Martins P.C., Lopes V.F., Zilberztajn D., Maia L.S., Sell K., Yamamoto L.U. 2008. Animal models for genetic neuromuscular diseases. *J. Mol. Neurosci.* 34: 241–348.
- [43] Veske A., Nilsson S.E., Narfström K., Gal A. 1999. Retinal dystrophy of Swedish briard/briard-beagle dogs is due to a 4-bp deletion in RPE65. *Genomics* 57: 57–61.

Domestic animals as models in studies on human hereditary diseases

Key words: mouse, dog, pig, gene therapy, gene knockout, malignant hyperthermia, lysosomal storage diseases, retinal dystrophies, intersexuality, obesity

Summary

Domestic animal genomics is a rapidly developing discipline. Presently, advanced marker genome maps and genome sequences are available for the dog, cat, cattle, horse, chicken and pig (full sequence will be ready in the middle of 2009). Also knowledge on domestic animal hereditary diseases is broad and among 2500 diseases specified in the OMIA (Online Mendelian Inheritance in Animals) database more than 1000 are considered as models for human diseases. Malignant hyperthermia (MH) was the first disease which molecular background was discovered due to knowledge on genetic markers linked with the MH locus in domestic animals (pig). The dog is the most extensively used model, specially in terms of gene therapy. In 2001 a successful

experiment on congenital stationary night blindness (CSNB) gene therapy in briard dogs was reported and following it in 2007 first clinical trial in children, suffering from Leber amaurosis (human counterpart of the CSNB), was undertaken in USA. Also canine lysosomal storage diseases were successfully corrected by gene therapy. It is foreseen that study of complex human diseases (e.g. obesity, metabolic syndrome) and intersexuality syndromes, with the use of domestic animal models (pig, goat, dog), may appear a useful approach.

Transgeniczne zwierzęta w hodowli, farmacji i biomedycynie*

Zdzisław Smorąg¹, Ryszard Słomski², Jacek Jura¹

¹*Dział Biotechnologii Rozrodu Zwierząt,
Instytut Zootechniki–Państwowy Instytut Badawczy, 32-083 Balice,
e-mail: zsmorag@izoo.krakow.pl*

²*Katedra Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy,
ul. Wołyńska 35, 60-635 Poznań
Instytut Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań,
e-mail: slomski@up.poznan.pl*

Słowa kluczowe: zwierzęta, transgeneza, konstrukcja genu, mikroiniekcja, zygota, komórki somatyczne, transfekcja, klonowanie, zwierzęta transgeniczne, hodowla zwierząt, biofarmaceutyki, biomedycyna, modele zwierzęce, ksenotransplantacja

Wstęp

Możliwość uzyskiwania transgenicznych ssaków, czyli zwierząt genetycznie modyfikowanych w wyniku wprowadzenia do ich genomu egzogennej DNA, pojawiła się w latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku. Pierwsze transgeniczne myszy otrzymane przez zespół badaczy amerykańskich pod kierunkiem Palmitera i in. [37] zapoczątkowały bardzo szybki rozwój transgenezy ssaków. Od końca lat osiemdziesiątych rozpoczęto zakrojone na coraz szerszą skalę prace dotyczące dużych ssaków, uzyskując w kolejnych latach transgeniczne króliki, owce, kozy, świnie czy bydło.

Wraz z rozwojem transgenezy coraz wyraźniej zaczęły się krystalizować kierunki i możliwości jej wykorzystania w praktyce. Pierwszym z nich jest wykorzystanie zwierząt transgenicznych jako modelu w badaniach dotyczących funkcji i regulacji genów oraz chorób człowieka. Drugi kierunek dotyczy wykorzystania transgenicznych zwierząt jako źródła wysokiej jakości biofarmaceutyków, takich jak np. rekombinowane białka.

* Referat przedstawiony na seminarium naukowym pt. „Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt”, zorganizowanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN oraz Komitet Nauk Zootechnicznych PAN w Warszawie, 26 listopada 2008 r.

binowane białka czy organy do ksenotransplantacji. Celem trzeciego kierunku badań nad transgenezą jest poprawa zdrowia zwierząt oraz jakości produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do konsumpcji. W artykule przedstawione zostaną zarówno metody uzyskiwania transgenicznych zwierząt, jak też kierunki ich wykorzystania w hodowli, farmacji i biomedycynie.

Metody uzyskiwania transgenicznych zwierząt

Zwierzęta gospodarskie modyfikuje się genetycznie za pomocą konstrukcji genowych, których ekspresja *in vivo* po wprowadzeniu do komórek i integracji z genomowym DNA gospodarza nadaje organizmowi nową cechę. Zastosowanie w konstrukcjach genowych specyficznych sekwencji regulatorowych pozwala ograniczyć ekspresję transgenu do określonego typu tkanki i odpowiedniego stadium rozwoju organizmu.

Obecnie transgeneza zwierząt dysponuje trzema głównymi metodami, które pozwalają na wprowadzenie do genomu organizmu określonej informacji genetycznej i jej trwałą integrację z genomem biocy. Są to: mikroiniekcja, wykorzystanie plemników jako wektorów oraz klonowanie somatyczne.

Mikroiniekcja DNA jest najstarszą metodą wprowadzania egzogennej informacji genetycznej. Po raz pierwszy technika ta została użyta w 1980 roku przez zespół Gordona i in. [19]. Z kolei w 1982 roku zespół kierowany przez Palmitera stosując tę technikę wprowadził szczurzy gen hormonu wzrostu połączony z promotorem mysiej metalotioneiny (Mt-rGH z ang. **M**etallotionein-**r**at **G**rowth **H**ormone) do zygota myszy. Uzyskano transgeniczną mysz, której masa ciała była prawie dwukrotnie większa niż nietransgenicznych osobników tego samego szczepu [19].

Mikroiniekcja DNA polega na mechanicznym wprowadzeniu konstrukcji genowej do przedjądra zapłodnionej komórki jajowej za pomocą szklanej mikropipety, dzięki czemu można wprowadzić około 2–5 pl roztworu DNA. Zabieg przeprowadza się mikromanipulatorami pod mikroskopem odwróconym, wyposażonym w system optyczny umożliwiający uzyskanie obrazu trójwymiarowego.

Efektywność transgenezy przy zastosowaniu mikroiniekcji DNA jest niska. Najwyższą efektywność, wynoszącą ok. 10% (liczoną w stosunku do zygot poddanych mikroiniekcji) można uzyskać u myszy. Efektywność dla zwierząt gospodarskich wynosi 4% u królika, 2% u świni, owcy, kozy, poniżej 1% u bydła. W znacznym stopniu zależy ona od rodzaju konstrukcji genowej, zastosowanego promotora, stadium rozwojowego zarodka poddanego transfekcji oraz umiejętności operatora. Metoda mikroiniekcji, mimo niskiej efektywności, nadal ma najszersze zastosowanie. Praktycznie zdecydowana większość transgenicznych ssaków, jakie do tej pory udało się uzyskać, otrzymano stosując tę technikę. Niewielką liczbę transgenicznych osobników (świnie, kozy i bydło) udało się uzyskać dzięki zastosowaniu rekombinacji homologicznej (knock-out) w połączeniu z klonowaniem.

Modyfikacjami standardowej techniki mikroiniekcji są:

- mikroiniekcja do obu przedjądrzy,
- mikroiniekcja do cytoplazmy,
- mikroiniekcja do pęcherzyka zarodkowego niedojrzałego oocytu (GV),
- mikroiniekcja do jąder komórkowych zarodka dwukomórkowego [20, 27, 36, 41].

Powyższe modyfikacje wprowadzono, aby poprawić efektywność transgenezy, jaką uzyskuje się stosując standardową metodę mikroiniekcji, tj. wprowadzenie egzogenego DNA do jednego z przedjądrzy zygoty. Jednakże w chwili obecnej żadna z wymienionych technik nie jest alternatywą dla metody standardowej.

Duże nadzieje wiąże się w ostatnich latach z wykorzystaniem do transformacji zygot najnowszej generacji konstrukcji genowych – wektorów lentiwirusowych. Wektory te mogą przenosić kilka genów, charakteryzują się umiarkowaną ekspresją, a w połączeniu z materiałem genetycznym gospodarza powodują długoterminową ekspresję genu [51]. Metoda ta ze względu na swe zalety może stać się głównym sposobem uzyskiwania transgenicznych zwierząt.

Plemniki jako nośniki egzogenego DNA

Już blisko 30 lat temu opublikowano pierwsze doniesienie o możliwości użycia plemników jako wektorów egzogenego DNA [4]. Stwierdzono wówczas, że plemniki mogą wiązać obce DNA i przekazywać je do oocytów w wyniku zapłodnienia. W następnych latach opublikowano szereg prac informujących o możliwości wiązania egzogenego DNA przez plemniki ssaków [8, 9, 18, 21].

Mimo wielu kontrowersji, metodę tę wciąż postrzega się jako obiecującą i stwarzającą możliwości mało skomplikowanej procedury uzyskiwania transgenicznych ssaków. Jej użycie jako niezawodnej techniki otrzymywania transgenicznych osobników uwarunkowane jest jednak wyeliminowaniem wielu jeszcze jej niedoskonałości, wśród których najważniejszy jest prawdopodobnie brak powtarzalnych wyników.

Klonowanie somatyczne jako metoda uzyskiwania transgenicznych zwierząt jest bardzo atrakcyjną propozycją. Stwarza możliwości wykorzystania transformowanych *in vitro* komórek somatycznych lub też komórek macierzystych po rekombinacji homologicznej. Do transformacji komórek somatycznych na ogół stosuje się trzy metody transfekcji: precypitację, elektroporację lub lipofekcję [26]. Każda z nich metod ma zarówno zalety jak i wady, które odnoszą się z jednej strony do ich wydajności, z drugiej zaś do ich inwazyjności. Lipofekcja charakteryzuje się średnią wydajnością oraz niewielką inwazyjnością. Dostępnych jest wiele zestawów (kitów) wykorzystujących tę technologię, dlatego też jest ona najczęściej stosowaną metodą transfekcji komórek somatycznych.

Komórki macierzyste uzyskane w hodowli *in vitro* zarodków, czyli zarodkowe komórki macierzyste, można również poddać transformacji przy użyciu jednej z wymienionych metod transfekcji, stosując konstrukcje genowe wyposażone w geny

reporterowe. Następnie wyselekcjonowane komórki, u których stwierdzono integrację wprowadzonego genu, można przeszczepić do jamy blastocelu. Wprowadzone komórki integrują się z embrioblastem i mogą brać udział w tworzeniu tkanek powstającego organizmu tworząc zwierzęta chimerowe. Jak do tej pory możliwość wykorzystania komórek macierzystych do uzyskiwania zwierząt transgenicznych odnosi się wyłącznie do myszy, gdyż tylko u tego gatunku opanowano metodę uzyskiwania komórek macierzystych.

Transgeniczne zwierzęta w hodowli

Dotychczasowe badania dotyczące transgenezy zwierząt gospodarskich modyfikowanych dla uzyskania szeroko rozumianej poprawy ich cech użytkowych koncentrowały się lub koncentrują się na zagadnieniach związanych z poprawą zdrowia zwierząt, zwiększeniem przyrostów, ukierunkowaną zmianą składu mleka i mięsa oraz produkcją i składem wełny, a także ochroną środowiska.

Pierwsze prace nad zmianą cech użytkowych zwierząt na drodze transgenezy dotyczyły wprowadzenia konstrukcji zawierającej gen hormonu wzrostu [31, 41, 48]. Inspiracją do tych badań były pionierskie prace Palmitera i in. [37], w których po wprowadzeniu konstrukcji genowej zawierającej gen hormonu wzrostu szczura uzyskano transgeniczne myszy wielkością i masą ciała znacznie przewyższające nietransgeniczne osobniki tego gatunku. Wkrótce okazało się jednak, że transgeniczne zwierzęta wykazujące ekspresję wprowadzonego genu obarczone były wieloma negatywnymi cechami dotyczącymi m.in. niedorozwoju aparatu ruchowego, zmian zwyrodnieniowych organów wewnętrznych czy obniżenia libido [2].

W innych badaniach uzyskano wprawdzie obniżenie zawartości tłuszczu w mięsie transgenicznych świń, ale z równoczesnym podniesieniem zawartości wody. W rezultacie efekty negatywne przewyższyły uzyskane zmiany pożądane [47]. W badaniach własnych z tego zakresu przeprowadzonych również na świniami użyto dwóch konstrukcji genowych: Mt-bGH-10Δ6 oraz Mt-bGH-8 [46]. Nie stwierdzono różnic w parametrach tuczu (dzienny przyrost, zużycie paszy na 1 kg masy ciała) między świniami transgenicznymi i nietransgenicznymi. Zaobserwowano natomiast m.in. istotnie większą powierzchnię oka polędwicy u świń transgenicznych dla konstrukcji Mt-bGH-10Δ6 niż u osobników transgenicznych Mt-bGH-8 [43].

Przedstawiony wyżej kierunek transgenezy w odniesieniu do dużych zwierząt hodowlanych został praktycznie zaniechany, sporym zainteresowaniem natomiast cieszą się nadal badania, których celem jest poprawa zdrowia zwierząt. Uzyskano już myszy, a prawdopodobnie w nieodległym terminie uzyskane zostaną także świnię, wykazujące ekspresję rozpuszczalnej formy wirusa pseudowścieklizny. Zwierzęta takie byłyby odporne na chorobę Aujeszkiego [22].

Inne prace koncentrują się na uzyskaniu bydła ze zinaktywowanym poprzez homologiczną rekombinację genem prionowym [24], co może skutkować ich niewrażliwością na chorobę prionową. Interesujące są badania zmierzające do uzyskania transgenicznych zwierząt, których mleko zawiera białka o właściwościach antibakteryjnych takich jak ludzka laktoferyna czy lysostafina [54]. Może ono chronić zarówno konsumenta jak i gruczoł mlekowy zwierzęcia przed infekcjami bakteryjnymi. W pracach własnych dotyczących użycia transgenezy do modyfikacji mleka koncentrowano się na zmianie struktury występujących w nim oligosacharydów, uczestniczących w wielu ważnych procesach biologicznych i patologicznych. Wcześniejsze badania Prieto i in. [40] wykazały, że istnieje możliwość uzyskania istotnych zmian w strukturze oligosacharydów i glikoprotein poprzez wprowadzenie genu heterologicznej glikozylotransferazy pod kontrolą promotora specyficznego dla laktacji. Wolne oligosacharydy obniżają adhezję patogennych bakterii do tkanek człowieka, co może sugerować ich przeciwwzpalne oddziaływanie u niemowląt. W badaniach własnych przeprowadzonych na świniami podjęto próbę określenia właściwości bakteriostatycznych mleka w kierunku *E. coli* 307 pochodzącego od transgenicznych loch. Stwierdzono pozytywny wynik, tj. wystąpienie strefy zahamowania wzrostu bakterii *E. coli* 307 w mleku na poziomie wynoszącym od ponad 25 do ok. 50% badanych próbek [46].

Sporo uwagi poświęca się transgenezie mającej na celu optymalizację przyswajania paszy. Uzyskano już świnie z ekspresją genu fitozyny w śliniankach [23]. Zwierzęta takie wydzielają o ok. 75% mniej fosforanów, co istotnie zmniejsza zanieczyszczenie środowiska.

Przedstawione kierunki transgenezy dużych zwierząt hodowlanych są z pewnością obiecujące, jednak są one wciąż w fazie badawczo-rozwojowej. Postęp w tych badaniach będzie obok wielu czynników zależny również od ich społecznej akceptacji, która jest, jak się wydaje, największa dla badań zorientowanych na poprawę zdrowia zwierząt oraz ochronę środowiska.

Transgeniczne zwierzęta w farmacji

Wykorzystanie modyfikowanych genetycznie zwierząt do wytworzenia biofarmaceutyków jest jednym z głównych kierunków transgenezy. Biofarmaceutyki można wprawdzie produkować także w innych systemach (bakterie, drożdże, grzyby, rośliny), przyjmuje się jednak, że tylko hodowle komórek zwierzęcych *in vitro* oraz zwierzęta transgeniczne jako swoiste bioreaktory umożliwiają powstanie funkcjonalnej formy białka naturalnie występującego w organizmie człowieka. Hodowla *in vitro* komórek zwierzęcych jako bioreaktorów jest znacznym stopniu ograniczona (trudności utrzymania w hodowli dużej liczby komórek). Takich ograniczeń nie mają transgeniczne zwierzęta wytwarzające rekombinowane białka we krwi, mleku, moczu, białku jaj oraz nasieniu. Najbardziej atrakcyjnym źródłem biofarmaceutyków

spośród wyżej wymienionych jest mleko. Transgeniczne zwierzęta wytwarzające w mleku rekombinowane białka uzyskano u wielu gatunków zwierząt gospodarskich. Główne kryterium wyboru gatunku zależy od skali zapotrzebowania na określone białko. Tak np. źródłem białek terapeutycznych, na które zapotrzebowanie nie przekracza 1 kg rocznie, mogą być transgeniczne króliki. Rekombinowane białka w mleku transgenicznych królików w stężeniu od kilku $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ do kilku $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ uzyskano w przypadku ISF-1 człowieka [6], interleukiny 2 [7], tkankowego aktywatora plazmiogenu [42], chymozyny [5], erytropoetyny [9], α -glukozydazy [1], czynnika NGF- β [12], białka C [10] i hormonu wzrostu [33]. Ekspresję czynnika IX krzepliwości krwi człowieka uzyskano w mleku transgenicznej owcy. Jednak stężenie białka nie przekraczało $25 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ [11]. Podobna konstrukcja genu umożliwiła uzyskanie w mleku owiec $35 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ α_1 -antytrypsyny człowieka [55]. W mleku transgenicznych owiec uzyskano również czynnik VIII krzepliwości krwi [35] oraz fibrynogen. Białko C człowieka konieczne do kontroli krzepnięcia krwi otrzymano natomiast w mleku transgenicznych świń w stężeniu $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ [52].

Transgeniczne bydło ze względu na bardzo wysoką w porównaniu z innymi gatunkami zwierząt hodowlanych wydajność mleczną jest atrakcyjnym gatunkiem do produkcji biofarmaceutyków. Negatywną stroną wykorzystania tego gatunku są zarówno koszty jak i czas, w jakim możemy uzyskać transgeniczne zwierzęta tego gatunku zdolne do produkcji mleka. Jednak już w 1989 roku urodził się transgeniczny buhaj z wprowadzoną do sekwencji genomowej konstrukcją genu obejmującą sekwencję cDNA kodującą laktoforynę człowieka pod promotorem α_{s1} -kazeiny [25] oraz konstrukcją zawierającą α -laktoalbuminę człowieka [16]. Uzyskano też transgeniczne krowy produkujące w mleku albuminę człowieka [15]. Badania dotyczące produkcji biofarmaceutyków w mleku zwierząt hodowlanych prowadzone są także przez nasze zespoły. W wyniku przeprowadzonych prac uzyskano m.in. transgeniczne króliki wytwarzające w mleku hormon wzrostu człowieka. Dokonano zmapowania transgeny, jak również określono ekspresję i oczyszczono rekombinowane białka [28, 33, 34, 49]. W innych badaniach prowadzonych przez Jurę i in. [27] uzyskano transgeniczne króliki wydzielające w mleku białko ALR (Augmenter of Liver Regeneration), które jest czynnikiem warunkującym proliferację i regenerację wątroby.

Alternatywnym dla mleka źródłem biofarmaceutyków pozyskiwanych od transgenicznych zwierząt jest mocz [29, 56, 57] oraz nasienie [14, 29]. Zaletą moczu jest to, że białka można uzyskiwać od wszystkich osobników przez okres całego życia. Zaletą nasienia jest łatwość jego uzyskiwania, a także duża produkcja u takich gatunków jak np. świnia.

Produkcja biofarmaceutyków w mleku, krwi, moczu czy nasieniu transgenicznych zwierząt jest z całą pewnością atrakcyjną, posiadającą wielki potencjał możliwości technologii. W wykorzystywanie tej technologii zaangażowanych jest wiele światowych firm biotechnologicznych. Z drugiej strony jest to technologia, gdzie uzyskiwanie finalnego produktu wymaga długiego czasu. W 2007 roku ukazał się na

rynku europejskim pierwszy produkt o nazwie ATryn® zawierający rekombinowaną antytrombinę człowieka wytworzoną w gruczole mlekowym transgenicznych kóz. Są przesłanki by przypuszczać, że jest to pierwszy produkt na liście biofarmaceutyków, która w najbliższych latach będzie się szybko powiększać.

Transgeniczne zwierzęta w biomedycynie

Obecnie istnieją dwa zasadnicze kierunki wykorzystania transgenezy zwierząt w biomedycynie. Pierwszy z nich ma na celu użycie transgenicznych zwierząt jako modeli badawczych chorób człowieka, drugi zaś stawia sobie za cel wykorzystanie komórek, tkanek i narządów pochodzących od transgenicznych świń w szeroko pojętej medycynie regeneracyjnej.

Transgeniczne zwierzęta jako modele badawcze chorób człowieka są bardzo ważnym narzędziem w poszukiwaniu i rozwijaniu nowych możliwości terapeutycznych. Z uwagi na fakt, że liczba chorób występujących u ludzi i u zwierząt jest stosunkowo niewielka, jedynie transgeneza zwierząt może wydatnie wydłużyć tę listę. Do niedawna jedynym gatunkiem transgenicznych ssaków wykorzystywanym jako model w badaniach biomedycznych była mysz. Było to uwarunkowane z jednej strony względną łatwością wytworzenia transgenicznego zwierzęcia tego gatunku, z drugiej zaś biologią rozrodu myszy pozwalającą na uzyskanie genetycznie jednolitej populacji w stosunkowo krótkim czasie. Jednakże mysz jest dalekim od ideału modelem badawczym chorób człowieka, a wyniki doświadczeń zakończonych sukcesem na myszach nie zawsze można przekładać bezpośrednio na człowieka [30, 44, 45]. Dlatego w badaniach biomedycznych coraz więcej uwagi poświęca się wytworzeniu transgenicznych zwierząt innych gatunków. Tak np. królik jest interesujący z uwagi na podobieństwo do człowieka pod względem metabolizmu tłuszczów. Z tego powodu uzyskano transgeniczne króliki, u których ekspresji ulegają gen lipazy wątrobowej, apolipoproteina A1, apolipoproteina B100, lecytyno-cholesterolowa transferaza acylu oraz apolipoproteina E i 5 lipoksygenaza [3, 17]. Innym gatunkiem zwierząt, który może się stać ze względu na podobieństwo anatomiczne i wielkość narządów oraz fizjologię bardzo wartościowym modelem badawczym dla biomedycyny jest świnia. Przykładem może służyć transgeniczna świnia ze zmutowanym genem rodopsyny [38] do badań barwnikowego zwyrodnienia siatkówki.

Obszarami biomedycyny, gdzie mogą być wykorzystane różne gatunki zwierząt są m.in. badania nad rozwijaniem terapii genowej, badania nad uwarunkowaniem genetycznym chorób człowieka oraz odpornością człowieka i zwierząt na choroby. Nieco inny kierunek to wykorzystanie transgenicznych zwierząt modelowych w badaniach toksykologicznych przy testowaniu leków.

Ksenotransplantacja, czyli przeszczepianie komórek, tkanek i narządów między różnymi gatunkami jest drugim zasadniczym kierunkiem wykorzystania transgenezy zwierząt w biomedycynie.

Pogłębiający się z każdym rokiem niedobór narządów zmusza do poszukiwania nowych i bardziej skutecznych metod ich pozyskiwania. Do najważniejszych z nich można zaliczyć inżynierię tkankową, wykorzystanie komórek macierzystych, terapię biohybrydową, tworzenie sztucznych narządów czy bioreaktorów, które będą pełniły ich funkcje. Szczególne nadzieje pokłada się w przeszczepianiu zmodyfikowanych metodami inżynierii genetycznej narządów pozyskiwanych od zwierząt.

Wybór dawcy zwierzęcego nie jest kwestią prostą. Narządy takiego zwierzęcia muszą w dużym stopniu być podobne do narządów człowieka. Pod uwagę bierze się małpy naczelne – pawiany i szympansy – a także świnię domową. Naczelne są najbliższej spokrewnionymi filogenetycznie z człowiekiem zwierzętami, dlatego początkowo szympansy i pawiany były brane pod uwagę jako potencjalni dawcy, choć problemem są małe rozmiary ich narządów, a tym samym niemożność ich wykorzystania, np. serca u ludzi dorosłych, a jedynie u dzieci oczekujących na właściwy alloprzeszczep. Pomimo dość owocnych wyników w badaniach klinicznych, przestały być brane pod uwagę jako potencjalni dawcy narządów dla ludzi z kilku powodów: małpy są trudne w hodowli, mają niską płodność, wydają na świat zazwyczaj tylko jednego potomka i to po dość długim okresie ciąży, późno osiągają dojrzałość płciową, zatem zastosowanie kliniczne pochodzących od nich narządów byłoby rozwiązaniem bardzo kosztownym. Ponadto filogenetyczna bliskość jest jednocześnie najsilniejszym atutem i największą barierą. Tak duże podobieństwo genetyczne sprawia, że znaczna część patogenów wirusowych pawianów i szympanów jest w stanie z powodzeniem zarażać ludzi.

U człowieka obecne są ksenoreaktywne przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi Gal świnii obecnemu na glikolipidach i glikoproteinach, co jest główną barierą uniemożliwiającą uzyskanie narządów nadających się do transplantacji międzygatunkowych [50]. Przeszczep narządu genetycznie zmienionej świnii pozbawionej enzymu $\alpha 1,3$ -galaktozylotransferazy, a zatem pozbawionego antygeny Gal, byłby tolerowany przy jednoczesnym podawaniu leków działających na inne mniej nasilone reakcje immunologiczne. Gen kodujący $\alpha 1,3$ -galaktozylotransferazę udało się inaktywować metodą rekombinacji homologicznej w komórkach fibroblastów płodowych świnii niezależnie od siebie dwóm grupom badawczym [13, 32]. W 2003 roku grupie naukowców związanych z firmą PPL Therapeutics udało się uzyskać homozygotyczne pod względem inaktywowanego genu zwierzęta transgeniczne [39].

Autorzy tej publikacji są współwykonawcami projektu krajowego, którego celem jest wyprodukowanie transgenicznych świń, których organy (serce, nerka, wątroba) mają być wykorzystywane w przyszłości do transplantacji u człowieka. W wyniku przeprowadzonych prac uzyskano transgenicznego knura. Jest to pierwsza w Polsce transgeniczna świnia, której genotyp zmodyfikowano na potrzeby ksenotransplantacji. Oczywiście jest, że jeden transgeniczny osobnik nie rozwiąże problemu niedoboru odpowiednich organów do transplantacji u ludzi. Ponadto, modyfikacja genomu jaką uzyskano dotyczy tylko pojedynczego genu, dlatego trwają prace nad uzyska-

niem transgenicznych świń, które będą miały genomy minimalizujące odrzut przeszczepionych organów. Wiemy już prawie wszystko o genomie człowieka i teoretycznie znajomość ta pozwala na zlokalizowanie i określenie budowy genów odpowiadających za większość cech układu immunologicznego człowieka. Główna przeszkoda w wykorzystaniu tej wiedzy jest natury technicznej. Wynika chociażby z faktu, że dostępne wektory (nośniki egzogennej informacji genetycznej) mają ograniczoną pojemność. Na obecnym etapie pozwalają na budowanie konstrukcji genowych, które mogą przenosić pojedyncze geny. Są one stale doskonalone. Podejmowane są próby wprowadzania mieszaniny konstrukcji genowych w jednakowych proporcjach, np. trzech uzupełniających się lub różnych genów. Efektywność takiego postępowania jest jednak niska. Geny integrują się z różną częstością, a uzyskanie osobnika o potwierdzonej ekspresji wszystkich wprowadzonych genów jest praktycznie niemożliwe [36, 53]. Uzyskany przez nas transgeniczny knur stał się ojcem dziesiątków transgenicznych świń, na których polskie zespoły medyczne mogą prowadzić doświadczenia mające m.in. wykazać, w jakim stopniu osiągnięte modyfikacje genetyczne „zhumanizowały” organy tych zwierząt.

Praktyczne wykorzystanie narządów odzwierzęcych, najprawdopodobniej świni, przyniesie z całą pewnością liczne korzyści terapeutyczne, należy jednak pamiętać o ryzyku związanym z tego rodzaju zabiegami. Szczególną uwagę należy zwrócić na niezgodność funkcjonalną przeszczepianych narządów świni w stosunku do organów człowieka oraz potencjalne możliwości przeniesienia infekcji na człowieka i jej skutki. Ze względu na małą liczbę doświadczeń klinicznych brak jest dostatecznych, rozstrzygających wyników potwierdzających bezpieczeństwo tego rodzaju zabiegów. Rozważając zagrożenia związane z możliwością przeniesienia zakażenia na człowieka, szczególną uwagę należy zwrócić na ekspozycję pacjenta na znane i nieznanne patogeny przy znacznym poziomie immunosupresji wymaganym w przeszczepianiu narządu odzwierzęcego.

Etapem przełomowym, który zapewne zdecyduje o dalszym rozwoju ksenotransplantacji, będą testy kliniczne.

Podsumowanie

Transgeneza zwierząt jest rozwijającą się technologią, której aplikacyjne znaczenie jest wciąż ograniczone m.in. jej niską efektywnością.

Biofarmacja, biomedycyna oraz hodowla zwierząt są kierunkami o największych możliwościach wykorzystania tej technologii.

Bardzo istotnym warunkiem praktycznego wykorzystania transgenezy zwierząt zwłaszcza w odniesieniu do hodowli i produkcji żywności będą sprzyjające regulacje prawne oraz akceptacja społeczna.

Literatura

- [1] Bijvoet A.G., van Hirtum H., Kroos M.A., van de Kamp E.H., Schoneveld O., Visser P., Brakenhoff J.P., Weggeman M., van Corven E.J., van der Ploeg A.T., Reuser A.J. 1999. Human acid alpha-glucosidase from rabbit milk has therapeutic effect in mice with glycogen storage disease type II. *Hum. Mol. Genet.* 8: 2145–2153.
- [2] Bleck G.T., White B.R., Miller D.J., Wheeler M.B. 1998. Production of bovine alpha-lactalbumin in the milk of transgenic pigs. *J. Anim. Sci.* 76: 3072–3078.
- [3] Bősze Z.S., Hiripi L., Carnawath J.W., Niemann H. 2003. The transgenic rabbit as model for human diseases and as a source of biologically active recombinant proteins. *Transgenic Res.* 12: 541–553.
- [4] Brackett B.G., Barańska W., Sawicki W., Koprowski H. 1971. Uptake of heterologous genome by mammalian spermatozoa and its transfer to ova through fertilization. *PNAS* 68: 353–357.
- [5] Brem G., Besenfelder U., Zinovieva N., Seregi J., Solti L., Hartl P. 1995. Mammary gland specific expression of chymosin constructs in transgenic rabbits. *Theriogenology* 43: 175.
- [6] Brem G., Hartl P., Besenfelder U., Wolf E., Zinovieva N., Pfaller R. 1994. Expression of synthetic cDNA sequences encoding human insulin-like growth factor-1 IGF-1 in the mammary gland of transgenic rabbits. *Gene* 149: 351–355.
- [7] Buhler T.A., Bruyere T., Went D.F., Stranzinger G., Burki K. 1990. Rabbit beta-casein promoter directs secretion of human interleukin-2 into the milk of transgenic rabbits. *Biotechnology* 8: 140–143.
- [8] Camaioni A., Russo M.A., Odorisio T., Gandolfi F., Fazio V.M., Siracusa G. 1992. Uptake of exogenous DNA by mammalian spermatozoa-specific localization of DNA on sperm heads. *J. Reprod. Fert.* 96: 203–212.
- [9] Castro F.O., Hernandez O., Uliver C., Solano R., Milanec C., Aguilar A., Perez A., de Armas R., Herrera L., de la Fuente J. 1990. Introduction of foreign DNA into spermatozoa of farm animals. *Theriogenology* 34: 1099–1110.
- [10] Chrenek D.D.V., Makarevich A., Gajarska T., Gastnerova I., Bulla J. 1999. Detection of human protein C integration in transgenic rabbits by polymerase chain reaction. *Vet. Med.* 44: 79–82.
- [11] Clark A.J., Bessos H., Bishop J.O., Brown P., Harris S., Lathe R., McClenaghan M., Prowse C., Simons J.P., Whitelaw C.B.A., Wilmut I. 1989. Expression of human anti-hemophilic factor IX in the milk of transgenic sheep. *Biotechnology* 7: 487–492.
- [12] Coulibaly S., Besenfelder U., Fleischmann M., Zinovieva N., Grossmann A., Wozny M., Bartke I., Togel M., Muller M., Brem G. 1999. Human nerve growth factor beta hNGF-beta: mammary gland specific expression and production in transgenic rabbits. *FEBS Lett.* 444: 111–116.
- [13] Dai Y., Vaught T.D., Boone J., Chen S.H., Phelps C.J., Ball S., Monahan J.A., Jobst P.M., McCreath K.J., Lamborn A.E., Cowell-Lucero J.L., Wells K.D., Colman A., Polajaeva I.A., Ayares D.L. 2002. Targeted disruption of the α -1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs. *Nat. Biotechnol.* 20: 251–255.
- [14] Dyck M.K., Gagne D., Ouellet M., Senechal J.F., Belanger E., Lacroix D., Sirard M.A., Pothier F. 1999. Seminal vesicle production and secretion of growth hormone into seminal fluid. *Nat. Biotechnol.* 17: 1087–1090.
- [15] Echelard Y., Destrempe M.M., Koster J.A., Blackwell C., Groen W., Pollock D., Williams J.L., Behboodi E., Pommer J., Meade H.M. 2002. Production of recombinant human serum albumin in the milk of transgenic cows. *Theriogenology* 57: 779.
- [16] Eyestone W.H. 1999. Production and breeding of transgenic cattle using in vitro embryo production technology. *Theriogenology* 51: 509–517.
- [17] Fan J., Watanabe T. 2003. Transgenic rabbits as therapeutic protein bioreactors and human disease models. *Pharmacology Therapeutics* 99: 261–282.
- [18] Francolini M., Lavitrano M., Lamia C.L., French D., Frati L., Cotelli F., Spadafora C. 1993. Evidence for nuclear internalization of exogenous DNA into mammalian sperm cells. *Mol. Reprod. Dev.* 34: 133–139.
- [19] Gordon J.W., Scangos G.A., Plotkin D.J., Barbosa J.A., Ruddle F.H. 1980. Gene transfer into mouse embryos: production of transgenic mice by pronuclear injection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77: 7380.
- [20] Hammer R.E., Pursel V.G., Rexroad C.E., Wall R.J., Bolt D.J., Ebert K.M., Palmiter R.D., Brinster R.L. 1985. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature* 315: 680–683.
- [21] Horan R., Powell R., McQuaid S., Gannon F., Houghton J.A. 1991. Association of foreign DNA with porcine spermatozoa. *Arch. Androl.* 26, 83–92.
- [22] Houdebine L.-M. 2005 Use of transgenic animals to improve human health and animal production. *Reproduction in Domestic Animals* 40(4): 269–281.
- [23] <http://www.albertapork.com/news.aspx?NavigationID=2506>.
- [24] http://www.innovations-report.com/html/reports/agricultural_sciences/report-24616.html.

- [25] Hyttinen J.M., Peura T., Tolvanen M., Aalto J., Alhonen L., Sinervirta R., Halmekyto M., Myohanen S., Janne J. 1994. Generation of transgenic dairy cattle from transgene-analyzed and sexed embryos produced in vitro. *Biotechnology* 12: 606–608.
- [26] Jura J., Jurkiewicz J. 2006. Methods for the production of transgenic animals. *Ann. Anim. Sci. Suppl.* 1: 29–38.
- [27] Jura J., Smorąg Z., Kańska L., Skrzyszowska M., Gajda B., Ryńska B. 1998. Czynniki wpływające na efektywność uzyskiwania potencjalnie transgenicznych zwierząt: bydło, królik. *Biotechnologia* 2(41): 101–110.
- [28] Kalak R., Lipiński D., Wielgus K., Jarmuż M., Jura J., Szalata M., Michalak E., Pławski A., Kaczmarek M., Nuc K., Korcz A., Groniek P., Smorąg Z., Pieńkowski M., Słomski R. 2004. Assessment of transgene inheritance and transgene mapping in rabbits producing the human growth hormone in milk. *Ann. Anim. Sci.* 4: 241–252.
- [29] Kerr D.E., Liang F., Bondioli K.R., Zhao H., Kreibich G., Wall R.J., Sun T.T. 1998. The bladder as a bioreactor: urothelium production and secretion of growth hormone into urine. *Nat. Biotechnol.* 16: 75–79.
- [30] Kim Y.S., Słomski R., Cohen E.P. 1991. Immunity to melanoma in mice immunized with transfected allogeneic mouse fibroblasts expressing melanoma-associated antigens. *Cancer Immunol. Immun.* 34: 163–168.
- [31] Kopchick J.J., Jura J., Mukerji P., Kelder B. 1995. Transgenic technology as it applies to animal agriculture. *Biotechnologia* 4(31): 36.
- [32] Lai L., Kolber-Simonds D., Park K.W., Cheong H.T., Greenstein J.L., Im G.S., Samuel M., Bonk A., Rieke A., Day B.N., Murphy C.N., Carter D.B., Hawley R.J., Parther R.S. 2002. Production of α -1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science* 295: 1089–1092.
- [33] Lipiński D., Jura J., Kalak R., Pławski A., Kala M., Szalata M., Jarmuż M., Korcz A., Słomska K., Jura J., Groniek P., Smorąg Z., Pienkowski M., Słomski R. 2003. Transgenic rabbit producing human growth hormone in milk. *J. Appl. Genet.* 44: 165–174.
- [34] Michalak E., Kańska-Książkiewicz L., Kalak R., Lipiński D., Wielgus K., Jarmuż M., Szalata M., Ryńska B., Smorąg Z., Słomski R. 2004. In vitro transfection of fibroblasts and evaluation of transgenesis in long-term cell cultures. *Ann. Anim. Sci.* 4: 233–240.
- [35] Niemann H., Halter R., Carnwath J.W., Herrmann D., Lemme E., Paul D. 1999. Expression of human blood clotting factor VIII in the mammary gland of transgenic sheep. *Transgenic Res.* 8: 237–247.
- [36] Overbeek P.A., Aguilar-Cordova E., Hanten G., Schaffner D.L., Patel P., Lebovitz R.M. 1991. Coinjection strategy for visual identification of transgenic mice. *Transgenic Res.* 1(1): 31–37.
- [37] Palmiter R.D., Brinster R.L., Hammer R.E., Trumbauer M.E., Rosenfeld M.G., Birnberg N.C., Evans R.M. 1982. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature* 300: 611–615.
- [38] Petters R.M. 1994. Transgenic livestock as genetic models of human disease. *Reprod. Fertil. Dev.* 6: 643–645.
- [39] Phelps C.J., Koike C., Vaught T.D., Boone J., Wells K.D., Chen S.H., Ball S., Specht S.M., Polejaeva I.A., Monahan J.A., Jobst P.M., Sharma S.B., Lamborn A.E., Garst A.S., Moore M., Demetris A.J., Rudert W.A., Bottino R., Bertera S., Trucco M., Starzl T.E., Dai Y., Ayares D.L. 2003. Production of α -1,3-galactosyltransferase-deficient pigs. *Science* 299: 411–414.
- [40] Prieto P.A., Mukerji P., Kelder B., Erney R., Gonzalez D., Yun J.S., Smith D.F., Moremen K.W., Nardeli Ch., Pierce M., Li Y., Chen X., Wagner T.E., Cummings R.D., Kopchick J.J. 1995. Remodeling of mouse milk glycoconjugates by transgenic expression of human glycosyltransferase. *J. Biol. Chem.* 270(49): 29515–29519.
- [41] Pursel V.G., Rexroad C.E.Jr. 1993. Status of research with transgenic farm animals. *J. Anim. Sci.* 71(suppl.3): 10–19.
- [42] Ramsoundar J.J., Machaty Z., Costa C., Williams B.L., Fodor W.L., Bondioli K.R. 2003. Production of α 1,3-galactosyltransferase-knockout cloned pigs expressing human α 1,2-fucosyltransferase. *Biol. Reprod.* 69: 437–445.
- [43] Różycki M., Smorąg Z., Kopchick J.J., Chen W.Y., Jura J., Pasięka J., Orzechowska B., Gajda B., Skrzyszowska M. 1999. Performance of transgenic pigs produced with the use of two different growth hormone gene constructs. *J. Applied Genetic* 40(1): 29–37.
- [44] Słomski R., Cohen E.P. 1980. Isolation and cell-free translation of mRNA specifying thymus-leukemia antigens. *Biochemistry* 19: 5659–5664.
- [45] Słomski R., Hagen K., Kim Y.S., Cohen E.P. 1987. Immunity to murine leukemia induced in susceptible mice by transfected mouse fibroblasts. *Leukemia* 1: 213–219.
- [46] Smorąg Z., Jura J., Kopchick J.J., Gajda B., Skrzyszowska M., Różycki M., Pasięka J. 1998. Transgeniczne świnię: uzyskiwanie oraz genetyczne modyfikacje. *Biotechnologia* 2(41): 145–153.
- [47] Solomon M.B., Pursel V.G. 1992. Partitioning of carcass components of transgenic pigs expressing a bovine growth hormone gene. *J. Anim. Sci. (Suppl.)* 69: 342.

- [48] Stice S.L., Robl J.M. 1988. Nuclear reprogramming in nuclear transplanted rabbit embryos. *Biol. Reprod.* 39: 657–664.
- [49] Szalata M., Lipiński D., Kalak R., Toboła P., Lehmann J., Wielgus K., Jura J., Smorąg Z., Pieńkowski M., Słomski R. 2004. Purification and characterization of the human growth hormone obtained in the milk of transgenic rabbits. *Ann. Anim. Sci.* 4: 351–362.
- [50] Tearle R.G., Tange M.J., Zannettino Z.L., Katerelos M., Shinkel T.A., Van Denderen B.J., Lonie A.J., Lyons I., Nottle M.B., Cox T., Becker C., Peura A.M., Wigley P.L., Crawford R.J., Robins A.J., Pearse M.J., d'Apice A.J. 1996. The α -1,3-galactosyltransferase knockout mouse. Implications for xenotransplantation. *Transplantation* 61: 13–19.
- [51] Tesson L., Cozzi J., Menoret S., Remy S., Usal C., Fraichard A., Anegon I. 2005. Transgenic modifications of the rat genome. *Transgenic Res.* 14(5): 531–546. Review.
- [52] Velander W.H., Johnson J.L., Page R.L., Russell C.G., Subramanian A., Wilkins T.D., Gwazdauskas F.C., Pittius C., Drohan W.N. 1992. High-level expression of a heterologous protein in the milk of transgenic swine using the cDNA encoding human protein C. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89: 12003–12007.
- [53] Wall R.J., Paleyanda R.K., Foster J.A., Powell A., Rexroad C., Lubon H. 2000. DNA preparation method can influence outcome of transgenic animal experiments. *Animal Biotechnology* 11(1): 19–32.
- [54] Wall R.J., Powell A.M., Paape M.J., Kerr D.E., Bannerman D.D., Pursell V.G., Wells K.D., Hawk H.W. 2005. Genetically enhanced cows resist intramammary *Staphylococcus aureus* infection. *Nature Biotechnology* 23: 445–451.
- [55] Woods G.L., White K.L., Vanderwall D.K., Li G.P., Aston K.I., Bunch T.D., Meerdo L.N., Pate B.J. 2003. A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer. *Science* 301: 1063.
- [56] Zbikowska H.M., Soukhareva N., Behnam R., Chang R., Drews R., Lubon H., Hammond D., Soukharev S. 2002. The use of the uromodulin promoter to target production of recombinant proteins into urine of transgenic animals. *Transgenic Res.* 11: 425–435.
- [57] Zbikowska H.M., Soukhareva N., Behnam R., Lubon H., Hammond D., Soukharev S. 2002. Uromodulin promoter directs high-level expression of biologically active human alpha1-antitrypsin into mouse urine. *Biochem J.* 365: 7–11.

Animal transgenesis in breeding, pharmacy and biomedicine

Key words: animals, transgenesis, gene construction, microinjection, zygota, somatic cells, transfection, cloning, transgenic animals, animal breeding, biopharmaceutics, bio-medicine, animal models, xenotransplantation

Summary

Methods of obtaining and application of transgenic farm animals were presented in the article. Presently, three main methods of transgenic animals production are applied: DNA microinjection into zygotes, somatic cloning using transfected somatic cells and use of spermatozoa as vectors of exogenous genetic information. Advantages and disadvantages of the methods are discussed. As far as application areas of transgenic animals are concerned: application possibilities in breeding and biomedicine/pharmacy were presented.

Furthermore, our own research in animal transgenesis for breeding biomedical and pharmaceutical purposes are presented.

Modyfikacje genetyczne – stan i perspektywy zastosowań w hodowli zwierząt gospodarskich*

Józef Bieniek

*Katedra Genetyki i Metod Doskonalenia Zwierząt
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie,
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków,
e-mail: rzbienie@cyf-kr.edu.pl*

Słowa kluczowe: organizmy zmodyfikowane genetycznie (GMO), zwierzęta gospodarskie, hodowla, cele i kierunki zastosowań

Tytułem wstępu – Zastosowania praktyczne i wyniki badań towarzyszących

Pod pojęciem organizmów zmodyfikowanych genetycznie (GMO) rozumie się organizmy, do genomu których w drodze manipulacji genetycznych wprowadzono geny wyposażające te organizmy w nowe, wcześniej u nich nie występujące, właściwości. Ustawa z dnia 22 czerwca 2001 r. (Dz. U. z 2007 r. Nr 36, poz. 233) o organizmach genetycznie zmodyfikowanych, w artykule 3. podaje następujące definicje organizmu i organizmu genetycznie zmodyfikowanego:

Ilekcroć w ustawie jest mowa o:

- 1) organizmie rozumie się przez to każdą jednostkę biologiczną, komórkową lub niekomórkową, zdolną do replikacji i przenoszenia materiału genetycznego, łącznie z wirusami i wiroidami;
- 2) organizmie genetycznie zmodyfikowanym rozumie się przez to organizm inny niż organizm człowieka, w którym materiał genetyczny został zmieniony w sposób niezachodzący w warunkach naturalnych wskutek krzyżowania lub naturalnej rekombinacji, w szczególności przy zastosowaniu:

* Referat przedstawiony na seminarium naukowym pt. „Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt”, zorganizowanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN oraz Komitet Nauk Zootechnicznych PAN w Warszawie, 26 listopada 2008 r.

- a) technik rekombinacji DNA z użyciem wektorów, w tym tworzeniu materiału genetycznego poprzez włączenie wirusa, plazmidu lub każdego innego wektora cząsteczek DNA wytworzonych poza organizmem i włączenia ich do organizmu biorcy, w którym w warunkach naturalnych nie występują, ale w którym są zdolne do ciągłego powielania,
- b) technik stosujących bezpośrednio włączenie materiału dziedzicznego przygotowanego poza organizmem, a w szczególności: mikroiniekcji, makroiniekcji i mikrokapsułkowania,
- c) metod niewystępujących w przyrodzie dla połączenia materiału genetycznego co najmniej dwóch różnych komórek, gdzie w wyniku zastosowanej procedury powstaje nowa komórka zdolna do przekazywania swego materiału genetycznego odmiennego od materiału wyjściowego komórkom potomnym.

Od samego początku GMO budzą wielkie emocje i wywołują kontrowersje, napotykając na mniej lub bardziej zdecydowany sprzeciw opinii społecznej. Jak w każdej kontrowersyjnej sprawie, którą chce się zainteresować szerokie kręgi społeczne, zagadnienie przedstawia się w dużym uproszczeniu, konkludując je jednoznacznie, czytelnie dla przeciętnego odbiorcy wnioskiem, nie wnikając głębiej w istotę problemu. W istocie rzeczy sprawa nie jest tak prosta i jednoznaczna jakby mogło wynikać z różnego rodzaju rewelacji. Często pojawiają się doniesienia o wytworzeniu w drodze manipulacji genetycznych zupełnie egzotycznych i budzących groźbę konstruktów genetycznych, nie mających jednak żadnego znaczenia praktycznego. Mimo tych wzmiankowanych wcześniej zastrzeżeń systematycznie powiększa się obszar uprawy roślin zmodyfikowanych genetycznie (GMO).

Trzeba sobie przy tym uzmysłowić, że zastosowania modyfikacji genetycznych nie ograniczają się wyłącznie do roślin, lecz GMO lub ich pochodne towarzyszą człowiekowi w wielu produktach spożywczych. Dla ilustracji przytoczono poniżej obszerną listę produktów spożywczych, przypraw i dodatków spożywczych, zestawioną na podstawie danych niemieckiej inicjatywy konsumenckiej [53] z zastrzeżeniem, że nie rości sobie ona prawa do kompletności.

Produkty spożywcze zawierające GMO lub ich pochodne: bułki, chipsy, chipsy ziemniaczane, chleb, cola, czekolada, desery, dodatki owocowe, frytki, guma do żucia, jogurt owocowy, ketchup pomidorowy, konfitury, konserwy rybne, lemoniada, likiery, lody, łosoś, majonez, makaron, margaryna, marmolada, mieszanki piekarnicze, miód, mrożonki, napój sojowy, odżywki dziecięce, pasta pomidorowa, pieczywo: chrupkie, cukiernicze, korzenne i pierniki, piwo, płatki kukurydziane, płyny orzeźwiający, produkty gotowe, proszek do pieczenia, przecier pomidorowy, przyprawy i przyprawy ziołowe, pudding, puree ziemniaczane, ryby, sałatki delikatesowe, sery twarde, słodycze, soki owocowe i warzywne, sos sojowy, sosy do mięsa i sałatek, szynka, tortilla, wędliny, wino, wódka, wyroby z ciasta, zupy gotowe.

Przyprawy i dodatki zawierające GMO lub z nich wytworzone: aminokwasy, aromat waniliowy i inne aromaty, beta-karoten, białko: jaja, mleka, roślinne i sojowe,

cukier, cukier: gronowy i karmelowy, cysteina, dekstroza, dekstryna, drożdże i drożdże spożywcze, ekstrakt drożdżowy, fenyloalanina, fruktoza, glutaminian sodu, grysik kukurydziany i sojowy, izolat sojowy, karmel, karotenoidy, kobalamina, kwas: askorbinowy, cytrynowy, glutaminowy, guanylowy, inozynowy i mlekowy, kwasy tłuszczowe, laktoflawina, lecytyna, lecytyna sojowa, leucyna, lizyna, maltoza, mączka sojowa, mąka zwykła i do panierowania, metionina, metyloceluloza, mono- i dwuglicerydy, nasiona lnu, olej: lniany, roślinny, rzepakowy, słonecznikowy, sojowy i z nasion bawełny, płatki drożdżowe, proszek serwatkowy, ryboflawina, skrobia: acetylowana, modyfikowana i natleniana, sorbit, spożywcze kwasy tłuszczowe, strukturalne białko sojowe, substancje słodzące, syrop: fruktozowy, glukozowy, maltozowy i sorbitowy, tłuszcz roślinny, tokoferol, treonina, tryptofan, witamina B₁₂, B₂, C, E, inne witaminy, wyroby z serwatki, żółtko jaja.

Wniosek wynikający z tych zestawień ująć można następująco. W sposób zupełnie niezauważalny dla przeciętnego konsumenta, GMO lub ich pochodne zadomowiły się na dobre w życiu codziennym. W związku z tym rodzi się pytanie czy obecnie jesteśmy w stanie obyć się bez produktów spożywczych, dodatków, środków uszlachetniających, itp. zawierających zmodyfikowane produkty, nieakceptowane przez dużą część ogółu.

Odpowiedź na to pytanie nie jest ani prosta ani też jednoznaczna, bowiem ocena i gotowość akceptacji ryzyka związanego z GMO jest bardzo problematyczna. Często minimalne zagrożenia klasyfikowane są jako szczególnie ryzykowne i na odwrót, a wysokie ryzyko jest całkowicie ignorowane. Przykładem może być chociażby ruch drogowy, przynoszący rocznie tysiące rannych i zabitych, ale mimo to powszechnie akceptowane jest użytkowanie prywatnych samochodów będących przyczyną tych zdarzeń. Z drugiej strony, minimalne chociażby zanieczyszczenie środków spożywczych prowadzi często do panikarskich reakcji. Jak wykazują badania socjologiczne, gotowość do akceptacji ryzyka związanego ze sposobem spędzania wolnego czasu, wybranym przez daną osobę, jest znacznie większa niż w stosunku do narzuconych czynników zewnętrznych, takich jak chociażby praca, czy szeroko rozumiane środowisko, którego ważnym elementem jest odżywianie się [2].

Na tej podstawie można wysnuć wniosek, że ocena ryzyka nie może być całkowicie obiektywna, lecz w dużym stopniu jest zależna od subiektywnej skali ocen. Stąd też potencjalne i rzeczywiste ryzyko powinno być nieustannie konfrontowane z rzeczywistymi korzyściami wynikającymi z wprowadzania innowacji [25].

Dobitnym przykładem może być tutaj stosowanie leków. Występujące przed laty gwałtowne protesty przeciwko lekom wytworzonym za pomocą GMO całkowicie ucichły, ponieważ korzyści społeczne przeważały w sposób oczywisty nad ewentualnymi zagrożeniami i w związku z tym zostało zaakceptowane potencjalne lub domniemane ryzyko związane z ich stosowaniem.

Natomiast w przypadku zmodyfikowanych genetycznie roślin konsument – ostateczny użytkownik tych modyfikacji – nie widzi dla siebie żadnych bezpośrednich

korzyści, ponieważ w dalszym ciągu korzyści te odnoszą głównie producenci, tj. rolnicy i przemysł.

Przeciwnicy stosowania GMO w rolnictwie oraz duża część opinii społecznej całkowicie ignorują fakt, że wdrażanie tych nowych, w stosunku do rolnictwa konwencjonalnego, rozwiązań korzystnie oddziałuje na środowisko.

W tym miejscu należy wyraźnie powiedzieć, że nie ma jednej inżynierii genetycznej. Biorąc pod uwagę rodzaje wprowadzonych modyfikacji, oraz źródło użytych do nich genów, jest niemożliwe, a wręcz niepoważne, pryncypialne odrzucanie lub też zalecanie każdej zmodyfikowanej genetycznie rośliny, ponieważ w każdym przypadku konieczne jest zastosowanie indywidualnych procedur badawczych. Dlatego też, do wydania zgody na wprowadzenie do środowiska GMO w wielu krajach, w tym w Polsce, wypracowano regulacje prawne pozwalające na indywidualną ocenę ryzyka. Regulacje te prowadzą w konsekwencji do dwóch następujących skutków:

1. Gdy jakiś GMO z określoną właściwością jest nieszkodliwy dla człowieka i środowiska, nie oznacza to automatycznie tego samego dla innych roślin z innymi zmienionymi cechami.
2. Publikowane negatywne informacje wywołują często duże publiczne poruszenie, w związku z tym należy zauważyć, że w razie gdy wystąpią szkodliwe właściwości jednej konkretnej linii roślinnej, nie stanowi to najmniejszej podstawy do określania wszystkich GMO jako niebezpiecznych.

Prowadzenie rzeczowej i sensownej dyskusji jest możliwe tylko wtedy, gdy weźmie się pod uwagę powyższe zasady. Oczywiście mogą się pojawić pytania typu: co stanie się, gdy ryzyko związane z GMO występuje, ale nie jest jeszcze znane, i dlatego nie może być ocenione?. Na tak postawione pytanie nie można rzeczowo odpowiedzieć, ponieważ nigdy nie można wykluczyć występowania zagrożeń. Wprawdzie zrozumiałe są oczekiwania kryjące się w pytaniu, co do bezspornego upewnienia się o całkowitym bezpieczeństwie danego środka spożywczego, jednak z wielu względów muszą one pozostać nierozwiązane. Przyjęcie zaś tego typu argumentacji prowadziło by w konsekwencji do zaniechania wprowadzania jakichkolwiek innowacji w dowolnej dziedzinie naukowo-technicznej, bowiem jak pokazuje historia badań naukowych i wynalazków, na początku ich stosowania, nie można było w pełni przewidzieć związanych z nimi zagrożeń i występującego ryzyka.

Drugie pytanie, a raczej zarzut jaki jest często formułowany, można ująć następująco: GMO jest wprowadzane tylko po to, aby zarabiać pieniądze. Takie postawienie sprawy jest niezrozumiałe, ponieważ celem każdej działalności gospodarczej (przedsiębiorczości) jest osiągnięcie zysków.

Podkreślić należy, że badania nad oceną stopnia zagrożeń wynikających z wprowadzania GMO prowadzone są wraz z badaniami towarzyszącymi, mającymi na celu możliwie wszechstronne oszacowanie potencjalnych skutków zastosowania GMO, szczególnie przy uprawie polowej w kontekście kompleksowości ekosystemów.

Proponowane przez krytyków GMO moratorium trwające aż do momentu zgromadzenia wystarczającej ilości danych, jest z praktycznego punktu widzenia niemożliwe do wprowadzenia, bowiem z jednej strony, nikłe są szanse na ustalenie co oznacza wystarczająco, z drugiej zaś doświadczenia wysadzeniowe prowadzone od 15 lat w warunkach polowych, nie dały żadnej podstawy do stwierdzenia występowania zagrożeń prowadzących do wykluczenia GMO [25, 53].

Dla konsumenta transgenicznych pokarmów roślinnych istotna jest odpowiedź na pytanie dotyczące persystencji pobranych kwasów nukleinowych w przewodzie pokarmowym, a szczególnie potencjalna możliwość przeniesienia genów odporności na florę bakteryjną. Wyniki wielu złożonych badań były negatywne i w związku z tym można przyjąć, że pobieranie z pokarmem DNA nie budzi zastrzeżeń, co nie powinno specjalnie dziwić, bowiem ludzie i zwierzęta systematycznie pobierają z pokarmem duże ilości obcego DNA. Przyjmuje się, że człowiek dziennie pobiera z pokarmem około jednego grama obcego DNA, które podobnie jak inne składniki pokarmu, jest rozkładane w przewodzie pokarmowym i nie stanowi żadnego potencjalnego zagrożenia. Gdyby faktycznie bakterie i komórki ciała często pobierały DNA, wtedy te obce sekwencje (fragmenty) DNA musiałyby się znaleźć w genomach człowieka, zwierząt i bakterii. Analiza zsekwencjonowanego w całości genomu bakterii *Escherichia coli* występującej w ludzkim przewodzie pokarmowym, nie dała żadnych przesłanek wskazujących na częste występowanie transferu genów [25].

W przypadku rolniczych roślin transgenicznych mamy do czynienia z organizmami od dawna występującymi w danym ekosystemie i rozpowszechnionymi w uprawach rolniczych, a jedyna różnica sprowadza się do zmiany pod względem jednej cechy. Stąd też nie można oczekiwać dramatycznego ich wpływu na rozprzestrzenienie się w ekosystemie. To jak określona roślina będzie się zachowywać, zależy w dużym stopniu od wprowadzonej właściwości i od tego czy właściwość ta daje zmodyfikowanej roślinie przewagę ekologiczną. W tym miejscu należy stwierdzić, że jak do tej pory nikt nie zgłasza zastrzeżeń w stosunku do roślin uprawnych wytworzonych w drodze hodowli konwencjonalnej, chociaż zasadniczo tam także występuje ryzyko nieograniczonego rozprzestrzenienia się.

Zagrożenia dla ludzi. Ten obszar ryzyka ma bardzo duże znaczenie dla ludzi jako konsumentów roślin transgenicznych lub produktów z nich wytworzonych. W tym kontekście, w odniesieniu do roślin transgenicznych, sformułować można następujące możliwe zakresy ryzyka:

- przenoszenie odporności na antybiotyki z roślin na patogenne organizmy jelitowe,
- możliwa toksyczność produktów genowych wskutek zastosowanych genów odporności,
- alergie wywołane produktami genowymi wprowadzonych transgenów,
- niepożądane substancje toksyczne w transgenicznych roślinach.

Zagadnienia te mają bardzo duże znaczenie z punktu widzenia potencjalnego konsumenta, bowiem wiele użytkowanych obecnie odmian roślin transgenicznych faktycznie zawiera geny odporności na antybiotyki, pochodzące m.in. z zastosowa-

nego jako wektor fragmentu *E. coli*. Należy jednak dodać, że stały postęp w metodach przenoszenia genów sprawia, że w przyszłych pokoleniach roślin transgenicznych, geny takie nie będą już obecne, co może istotnie podwyższyć stopień akceptacji roślin transgenicznych. DNA wprowadzone do organizmu z pokarmem jest rozkładane w przewodzie pokarmowym i staje się nieszkodliwe dla człowieka. Dotychczas nie stwierdzono, aby nastąpiło przeniesienie genu odporności na jelitową florę bakteryjną i przyjmuje się, że jest to w zasadzie nieprawdopodobne.

Często przywoływany przez krytyków scenariusz pojawienia się bakterii z genem odporności na antybiotyki wywołanej przez rośliny transgeniczne nie wytrzymuje krytyki z naukowego punktu widzenia. Ponadto trzeba sobie uzmysłowić, że dziennie człowiek spożywa wraz ze świeżymi warzywami bardzo duże ilości bakterii glebowych, które z natury mają geny odporności na antybiotyki, a do tego wiele z naturalnie występujących gatunków bakterii jelitowych także ma geny odporności [5, 25].

W ostatnich latach pojawiło się wiele doniesień o bakteriach odpornych na antybiotyki. Winę za to ponosi głównie nadmierne spożywanie (nieprawidłowe rozpoznanie, diagnozowanie, względnie tucz zwierząt), oraz niewłaściwe przyjmowanie antybiotyków (zbyt wczesne odstawianie leku przez pacjenta). Zasadniczo uważa się, że odporność taka powstaje wskutek stosowania antybiotyków, a nie poprzez przyjmowanie DNA.

Kolejne zagadnienie z obszaru ryzyka to alergie wywoływane przez produkty transgenów. Alergie są nadwrażliwymi reakcjami układu odpornościowego, które mogą być wywołane przez różnorodne substancje. Mechanizmy prowadzące do wyzwolenia reakcji alergicznych u ludzi nie są do tej pory całkowicie wyjaśnione.

Możliwość wystąpienia u ludzi alergii wywołanych spożyciem roślin transgenicznych często stanowi istotny punkt krytyki. Jednak w drodze odpowiednich eksperymentów można wykluczyć ewentualność, że zrekombinowane białka prowadzące w roślinach do wystąpienia odporności na antybiotyki, owady i herbicydy, wyzwalają alergie u ludzi. Jest to wysoce nieprawdopodobne, bowiem odpowiednie białka zostają strawione w soku żołądkowym w bardzo krótkim czasie (około 30 sekund). W przeciwieństwie do tego, znane proteiny wywołujące alergie zachowują stabilność w soku żołądkowym do 60 minut.

Nie można jednak wykluczyć, że rośliny transgeniczne, którym wprowadzono obcy gen, mogą mieć potencjał alergiczny powodowany przez produkt transgeny. Przykładem takiej potencjalnej możliwości może być fakt, że wiele ludzi wykazuje alergię przeciwko białku orzeszków ziemnych. Stąd też sklonowanie genu syntezy białka z orzeszka ziemnego do pomidorów, mogłoby uczynić te ostatnie niejadalnymi dla odnośnego rodzaju alergików. Ponieważ ewentualności takiej nie można całkowicie wykluczyć, wszystkie produkty transgeniczne, przez ich wprowadzeniem na rynek, poddawane są odpowiednim badaniom.

Od dawna są znane rośliny użytkowe o szczególnie wysokim potencjale alergicznym, np. orzeszki. Stąd też planując zastosowanie genów z takich roślin, należy koniecznie przeprowadzić badania wstępne. Inny przykład: podczas transformacji

nasion soi z genem odpowiedzialnym za białko paraorzeszka (2S Albumina) okazało się, że użyto wyłącznie białka wywołującego alergię, co można to było wykazać używając surowic alergików. W konsekwencji odpowiedni rodzaj soi nie został wprowadzony do upraw rolniczych. Przykład ten ukazuje ponadto bardzo wysoką sprawność działania wewnętrznych naukowych mechanizmów kontrolnych w firmach biotechnologicznych. Krytycy przytaczają ten przykład jako wyraz zagrożenia, jednak w tej sprawie można sobie wyrobić własny sąd.

Kończąc, trzeba dodać, że obowiązujące przepisy o znakowaniu produktów transgenicznych informują kupującego o pochodzeniu transgeny. Nie można także ignorować faktu, że także wiele normalnych środków spożywczych prowadzić może do ciężkich alergii, czasami zagrażających życiu. Wśród około 100 000 białek roślinnych, tylko 2% do 5% może wywoływać alergię. Białka z orzeszków ziemnych, mleka, jaj, ziaren soi, ryb, raków, małą i pszenicy odpowiedzialne są za około 90% wszystkich alergii.

Krytycy mówią często o tym, że poprzez inżynierię genetyczną do naszego pokarmu dostają się substancje, jakie nigdy tam nie były obecne. Zarzut ten nie do końca jest prawdziwy, dotyczy bowiem także owoców egzotycznych, cieszących się obecnie dużą popularnością.

Dobrym przykładem związanym z potencjalnym ryzykiem przy wprowadzaniu nowych, dotychczas nie używanych środków spożywczych jest owoc kiwi. Owoce te, wcześniej nieznanne w Europie, zostały sprowadzone z Nowej Zelandii dopiero w latach 60. Wtedy nie przeprowadzano testów bezpieczeństwa, a w międzyczasie okazało się, że owoc ten ma wysoki potencjał alergiczny. Z pewnym przekąsem można stwierdzić, że jest jednak bardzo mało prawdopodobne, aby porównywalny produkt transgeniczny mógł zostać w ogóle dopuszczony do obrotu komercyjnego.

GMO a zwierzęta

Istotnym uzupełnieniem powyższych informacji, będzie przedstawienie niektórych wyników badań towarzyszących, mających na celu weryfikację potocznych i dość mocno już utrwalonych opinii o szkodliwości stosowania GMO w hodowli zwierząt gospodarskich, stanowiących w wielu przypadkach przedostatnie ogniwo w łańcuchu pokarmowym człowieka.

Jak można oczekiwać, że względu na wagę tego zagadnienia, piśmiennictwo dotyczące badań towarzyszących nad skutkami zastosowania pasz zawierających GMO w hodowli zwierząt jest bardzo obszerne i dotyczy większości gatunków użytkowych. Tutaj przedstawione zostaną tylko niektóre zagadnienia najlepiej oddające istotę zagadnienia.

W doświadczeniu na kurach nioskach [1] badano zawartość składników pokarmowych i strawność ziarna kukurydzy odmiany tradycyjnej i odpornej na owady. Stwierdzono brak różnic w wartości odżywczej, strawności substancji organicznych

i energii metabolicznej paszy oraz masie ciała niosek. Nie stwierdzono też wpływu zmodyfikowanego ziarna kukurydzy (Bt) na śmiertelność, masę ciała i pobranie paszy przez broilery [4], jak też na przyrostyienne, wykorzystanie paszy i strawność białka [18] oraz przyrost masy i wartość odżywcza paszy [33]. Podobne też były wyniki badań wykonanych na wielu gatunkach zwierząt nad wpływem ziaren kukurydzy odpornej na herbicydy [20].

Badania przeprowadzone na bydło mlecznym i mięsnym prowadzą do podobnych konkluzji, o czym świadczą mogą najważniejsze wyniki z wybranych prac. W doświadczeniu żywieniowym z zieloną z transgenicznej kukurydzy (Bt) nie wykazano jej negatywnego wpływu na wydajność mleka, jego skład oraz zdrowotność wymienia [13], a także brak wpływu tej paszy na przebieg fermentacji w żwacu, produkcję mleka i jego skład [14]. Żywienie krów mlecznych kiszoną sporządzoną z roślin kukurydzy odpornych na herbicydy nie odbiło się negatywnie na zawartości suchej masy paszy, wydajności mleka, wydajności białka, laktozy i tłuszczu mleka jak też na jego składzie, tj. procentowej zawartości tłuszczu, białka i laktozy, oraz nie wpłynęło na wzrost liczby komórek somatycznych i zawartości mocznika [30].

W obszernym doświadczeniu nad wpływem żywienia krów mlecznych paszą zawierającą różne odmiany transgenicznej kukurydzy uzyskano podobne wyniki i także nie stwierdzono jej wpływu na wydajność mleka i jego skład oraz zawartość komórek somatycznych [17]. Badając wpływ żywienia wysokowydajnych przetokowanych krów rasy HF paszą treściwą zawierającą różne odmiany modyfikowanych genetycznie ziaren soi i kukurydzy wykazano, że zmodyfikowane genetycznie DNA paszy nie występuje w mleku [40]. Podobne są rezultaty modelowych badań nad wykrywaniem w mleku pochodnych zmodyfikowanej genetycznie paszy, gdzie także nie stwierdzono obecności transgenicznego DNA [41]. Jak wynika z tych badań, mimo pobierania przez krowy mleczne dużych ilości pasz treściwych DNA paszy podczas trawienia w przewodzie pokarmowym i podczas przemiany materii we krwi podlega tak intensywnej degradacji, że nawet gdyby jakieś jego ilości znalazły się w mleku to i tak leżą one znacznie poniżej granicy wykrywalności współczesnych metod analitycznych bazujących na PCR.

Z kolei dwuletnie badania na bydło mięsnym żywionym kukurydzą odporną na owady, wskazują na brak negatywnego oddziaływania pasz zawierających zmodyfikowane genetycznie rośliny lub ich ziarno na ilość pobranej paszy [14, 47]. Do tego kiszona modyfikowanej kukurydzy (Bt) miała tę samą, względnie nieco lepszą, od kiszunki z kukurydzy konwencjonalnej jakość wskaników przyswajalności i przyrostów dziennych przez bukaty. W innym dwuletnim eksperymencie [48] badano wpływ żywienia zmodyfikowaną kukurydzą na ciężarne krowy mięsne.

W syntezie wyników badań wielu autorów [30], przedstawiono trwające około 3 miesiące badania na 56 bukatkach rasy Angus i Simmental żywionych kiszoną z całych roślin i śrutą z ziaren z kukurydzy konwencjonalnej i odpornej na herbicydy. Także w tym przypadku nie wykazano różnic w średnich przyrostach dziennych,

pobraniu suchej masy i wykorzystaniu paszy. Także tuczniki żywione paszą zawierającą ziarno kukurydzy odpornej na owady (Bt) nie różniły się od grupy kontrolnej pod względem średnich przyrostów dziennych, pobrania i wykorzystania paszy oraz przebiegu wzrostu i składu tuszy.

W obszernej pracy przeglądowej Donkin i in. [12] dochodzą do wniosku, że zmodyfikowane genetycznie zboża są ekwiwalentne niezmodyfikowanym odmianom komercyjnym, a ich zmodyfikowane białka są bezpieczne dla ludzi, zwierząt i środowiska, bowiem wiele substancji spożywczych zawiera kompleksową mieszankę białek, lipidów, węglowodanów, kwasów nukleinowych, minerałów i witamin. Gdyby przyjąć, że ważąca około 600 kg krowa mleczna pobiera w dawce pokarmowej 40% suchej masy z kiszonki i dalsze 20% z ziarna kukurydzy, to z tymi składnikami dociera do jej organizmu tylko około 2,6 µg zmodyfikowanego genetycznie DNA. Natomiast dziennie krowa ta spożywa z pokarmem około 608 mg DNA. Stosunek ilościowy zmodyfikowanego DNA do konwencjonalnego wynosi zatem 1 : 234000 lub 0,00042%. Ponadto nie wykryto jak dotąd genów roślinnych lub ich fragmentów w genomie człowieka lub też w genomach zwierząt. Jest to wynikiem milionów lat ewolucji przy stałej ekspozycji tych gatunków na roślinne DNA, stąd też niepożądana integracja zmodyfikowanego DNA wydaje się wysoce nieprawdopodobna.

Konkludując można stwierdzić, że spożywanie mleka, mięsa i jaj wytwarzanych przez zwierzęta żywione zmodyfikowanymi roślinami jest w takim samym stopniu bezpieczne, jak pokarmów pochodzących z tradycyjnych sposobów wytwarzania.

Zwierzęta transgeniczne – cele i kierunki modyfikacji

Mimo rysujących się obiecujących możliwości zastosowania modyfikacji genetycznych zwierząt, jak do tej pory nie udało się doprowadzić do ich wdrożenia do praktyki produkcyjnej. W tym miejscu należy podkreślić, że cele hodowli zwierząt pozostają w istocie niezienne, bowiem nie zmieniły się oczekiwania w stosunku do nich, a przede wszystkim nie zmieniły się potrzeby konsumenta finalnego, jakim jest człowiek. Głównymi celami hodowli są: praca fizyczna, praca psychiczna (psy), środki pokarmowe (mleko, mięso, jaja), surowce odzieżowe (skóra, wełna, futra, jedwab, pióra), a także nawóz (obornik, opał), odpady (rogi, włosy, jelita) oraz surowce dla przemysłu farmaceutycznego i wytwarzanie odpowiednich linii i odmian zwierząt laboratoryjnych i doświadczalnych. Istotnym celem jest także zaspokajanie potrzeb sportowych i rekreacyjnych ludzi.

Przedstawione powyżej spektrum użytkowania zwierząt osiągane jest poprzez formułowanie określonych kierunków (celów) doskonalenia zwierząt, które można ująć w następujące grupy: wzrost wydajności zwierząt, wyższa jakość produktów zwierzęcych, lepsza efektywność ekonomiczna produkcji zwierzęcej, uzyskanie zdrowych, witalnych i odpornych zwierząt, oraz poprawa zdolności adaptacyjnych do środowiska.

Doskonalenie genetyczne zwierząt prowadzone metodami hodowli klasycznej obejmuje trzy zasadnicze etapy:

- 1) ocena wartości produkcyjnej / hodowlanej,
- 2) selekcja,
- 3) dobór do kojarzeń.

W tym miejscu postawić można pytanie, na ile powyższe oczekiwania udało się zrealizować przywołanymi już metodami hodowli klasycznej. Otóż trzeba stwierdzić, że osiągnięcia te są bardzo duże i w zasadzie tylko na przestrzeni ubiegłego wieku hodowla klasyczna doprowadziła do radykalnej poprawy najważniejszych cech użytkowych. I tak, u trzody chlewnej do podwyższenia liczebności miotu, zwiększenia przyrostów dziennych, skrócenia okresu tuczu, uzyskania wysokiej efektywności wykorzystania paszy, jak też poprawy wydajności rzeźnej i mięsności. U bydła mlecznego obserwujemy gwałtowny wzrost wydajności mlecznej, większą masę ciała krów i rodzonych przez nie cieląt. U bydła mięsnego natomiast znacznie lepsze tempo wzrostu (przyrostyienne), większą końcową masę ciała, wyższą wydajność rzeźną, lepszą mięsność oraz efektywniejsze wykorzystanie paszy. U kur nieśnych postęp hodowlany przejawia się w znacznie większej liczbie znoszonych jaj i poprawie efektywności wykorzystania paszy, a u brojlerów (użytkowanie mięsne) skróceniem okresu tuczu, lepszym wykorzystaniem paszy oraz wyższą mięsnością i wydajnością rzeźną.

Przedstawione tutaj hasłowo osiągnięcia hodowli klasycznej mają jednak także niekorzystne skutki prowadzące w konsekwencji do ograniczenia osiąganego z pokolenia na pokolenie postępu hodowlanego. Intensywna selekcja i sterowanie doбором zwierząt do kojarzeń doprowadziły w wielu wypadkach do wystąpienia wielu takich negatywnych zjawisk, spośród których do najważniejszych zaliczyć można:

- wyczerpanie naturalnej zmienności w populacjach (granice selekcji) różnych gatunków;
- osiągnięcie maksymalnej rozsądnej wartości cech (wydajności);
- wystąpienie chorób i zaburzeń fizjologicznych u wysokowydajnych zwierząt,
- skrócenie okresu użytkowania;
- pogarszanie się jakości produktów odzwierzęcych.

Powyższe skutki i zagrożenia znajdują odzwierciedlenie w konstrukcji programów hodowlanych, w których obecnie coraz większy nacisk kładzie się na szeroki zakres cech funkcjonalnych. W tym miejscu pojawia się miejsce dla metod inżynierii genetycznej, której zastosowanie mogłoby przyczynić się do swoistej „naprawy” niektórych niekorzystnych właściwości zwierząt i to szybciej i prościej niż przy zastosowaniu metod klasycznej hodowli. Jednak zagadnienie to nie jest ani tak proste, ani też bezsporne, bowiem w przeciwieństwie do zmodyfikowanych genetycznie roślin i ich zastosowań produkcyjnych opisanych w poprzedniej części referatu, transgeniczne zwierzęta wywołują dużo więcej kontrowersji i dyskusji. Jest to zrozumiałe, bowiem ingerencja w genom zwierzęcy budzi dużo więcej wątpliwości

i jest także znacznie trudniejsza. W dalszej części opracowania zostaną poruszone najważniejsze problemy związane z transgenicznymi zwierzętami.

Pierwszymi zwierzętami transgenicznymi były owce, świnie i króliki [19]. Później pojawiły się transgeniczne modyfikacje u bydła, kóz i drobiu oraz łącznie 35 gatunków ryb [32].

Modyfikacje dokonywane na zwierzętach gospodarskich utrzymywanych dla potrzeb rolnictwa i hodowli, w zasadzie ich cele odpowiadają tradycyjnym kierunkom hodowli, takim jak zwiększenie produktywności (wydajność), zmiana określonych właściwości produktów rolniczych, obniżenie podatności na choroby, poprawa pobrania paszy, względnie dopasowanie do określonych warunków środowiskowych. W niektórych przypadkach podejmowane są także badania nad wytworzeniem zwierząt będących indykatorami zanieczyszczeń środowiska lub nadających się do zwalczania gatunków inwazyjnych.

Badaniom nad zwierzętami transgenicznymi towarzyszą nadzieje dwójakiego rodzaju. Po pierwsze, możliwość osiągnięcia pożądanego rezultatu metodami genetycznymi szybciej niż za pomocą metod hodowli klasycznej. Po drugie przeniesienie określonych właściwości produktów rolniczych ponad naturalnymi granicami gatunkowymi. Trzeba jednak zaznaczyć, że jak do tej pory większość eksperymentów nad wytworzeniem zwierząt transgenicznych, za główny cel stawia sobie przede wszystkim wypracowanie metod przenoszenia genów i ich aktywacji lub też poprawę efektywności już dostępnych metod. Główne problemy, z jakimi się borykają badacze, to wysoki nakład kosztów i czasu oraz skrajnie wysokie „zużycie zwierząt”, jak też patologiczne zniekształcenia u transgenicznych zwierząt.

Podstawowe kierunki modyfikacji genetycznych u zwierząt można określić następująco:

1. **Wzrost wydajności.** Dotychczas przeprowadzono badania na świnich [6, 44], owcach [39, 45, 46], królikach [27, 31], łososiach [50], karpach [55] pstragu tęczowym [10]. Najczęściej przenoszono geny właściwe lub obce gatunkowo. Jak do tej pory największe sukcesy osiągnięto w przypadku łososi o wysokim tempie wzrostu. U świń wytworzono transgeniczne osobniki o szybszym tempie wzrostu i wytwarzających mięso o mniejszej zawartości tłuszczu [34]. Innym sposobem przyspieszenia wzrostu u świń jest wytworzenie transgenicznych macior wytwarzających więcej mleka [38], tak że karmione przez nie prosięta przyrastają szybciej w pierwszych tygodniach życia. U owiec wypróbowuje się różne sposoby podwyższenia wydajności wełny. Jednym z nich jest transfer genów kodujących hormon wzrostu [51]. Innym sposobem jest ukierunkowana poprawa zaopatrzenia owiec w cysteinę, aminokwas limitujący wzrost wełny, który nie jest syntetyzowany w organizmie owcy. W tym celu przetransferowano z bakterii gen syntezy enzymów niezbędnych do syntezy cysteiny [43], co sprawia że organizm takich zwierząt przez pewien okres może wytwarzać niewielkie ilości cysteiny.

2. **Modyfikacje określonych właściwości produktów rolniczych.** Koncepcja zmiany określonych właściwości dotyczy mleka, mięsa, jaj czy też wełny. Chodzi tu głównie o możliwość zmiany składu mleka krów, świń i owiec [56], w niektórych przypadkach została ona nawet zrealizowana. Pomysł zmierzający do wytworzenia mleka krowiego o obniżonej zawartości cukru mlekowego (laktozy) i o większej przyswajalności dla ludzi, został sprawdzony na myszach [24]. Inne cele to wytworzenie mleka chudego lub też mleka o podwyższonej zawartości witamin, białka lub wapnia. W kręgu zainteresowania mieści się też wytwarzanie mleka lepiej nadającego się do produkcji serów, jogurtu lub lodów. Brophy i in. [7] wytworzyli transgeniczne krowy dające mleko o podwyższonej zawartości dwóch rodzajów kazeiny. Produkcja mleka krowiego zawierającego występującą w mleku kobiet laktoferynę wiążącą żelazo, stała u podstawy wytworzenia przez kanadyjską firmę GenPharm transgenicznego buhaja Hermana [28]. Buhaj ten urodzony w 1990 roku przekazywał na swoje córki ludzki gen laktoferyny, co sprawiało, że mogły one wytwarzać niewielkie ilości laktoferyny w mleku. Także Berkel i in. [3] wytworzyli transgeniczne krowy produkujące laktoferynę. Inna kanadyjska firma Nexia Biotechnologie doniosła w styczniu 2000 roku o urodzeniu się dwóch kóz „BioSteel®”, którym implementowano gen jednego z gatunków pająka, odpowiedzialny za produkcję włókien białkowych, które miały być pozyskiwane z mleka tych kóz. U owiec eksperymentowano z modyfikacją prowadzącą do zmiany właściwości wełny [43]. W wyniku tego wykazano, że możliwe jest wprowadzenie zmian metodami inżynierii genetycznej, z tym że transgeniczne owce wykazywały tylko niektóre z pożądaných właściwości włókien wełny. Celem badań prowadzonych przez Teufel i in. [52] była poprawa właściwości jakościowych mięsa ryb, a szczególnie jego barwy, udziału tłuszczów i białka w mięsie, jak też poprawa właściwości organoleptycznych (smaku).
3. **Obniżenie podatności na choroby.** Choroby wysokowydajnych zwierząt użytkowych stanowią znaczący składnik kosztów w rolnictwie. Dotyczy to nie tylko epidemii wywołujących wielkie poruszenie, takich jak BSE, pryszczycy, grypa ptasia, lecz także wielu innych chorób. Efektywnym sposobem ich ograniczenia, jeśli nie eliminacji, mogłoby być wzmocnienie systemu immunologicznego, wprowadzenie genów odporności, immunizacja, jak też usuwanie genów wywołujących choroby [37]. Trzeba jednak stwierdzić, że eksperymenty w tym zakresie należą do rzadkości.

U świń i owiec podejmowano badania nad wprowadzeniem struktur genetycznych odpowiadających za immunoglobuliny [29], wskutek czego zwierzęta te miały się stać odporne na określone bakterie. Müller i in. [36] próbowali wprowadzić do genomu świni geny wzmacniające odporność przeciwko wirusowi grypy. Jednak obydwa te eksperymenty nie spełniły pokładanych w nich oczekiwań. W ramach poszukiwania metod zwalczania choroby „Scarpie” u owiec, atakującej centralny układ nerwowy, badano możliwość wytworzenia osobników odpornych na priony [11]. Kolejny eksperyment na owcach miał na celu wytworzenie

rzenie odporności na wirus Visna, wywołujący zapalenie płuc i uszkodzenie centralnego układu nerwowego [8].

U bydła próbowano wytworzyć zwierzęta wykazujące odporność na mastitis wywołwane przez *Staphylococcus aureus*. W tym celu Kerr i in. [26] wprowadzili do genomu myszy gen odpowiedzialny za wytwarzanie w mleku substancji antybakteryjnej (lizopatyny) zwalczającej tę bakterię.

U drobiu próbowano wytworzyć odporność na leukemię, występującą często u kur i nazywaną także ptasim nowotworem [49].

Badania nad wytworzeniem odporności przeprowadzono także u łososi, a ich celem było uzyskanie odporności na bakterię *Vibrio anguillarum* [23].

4. **Poprawa pobrania składników pokarmowych.** W żywieniu świń stosowane są głównie zboża, rzepak i soja. Przy takim żywieniu u zwierząt pojawiają się trudności z pobieraniem z paszy fosforu, występującego tam w trudno przyswajalnej formie. Golovan i in. [16] wytworzyli transgeniczne świny mogące syntetyzować enzym umożliwiający pobieranie fosforu z paszy. Przyczynić się to może do ograniczenia zawartości fosforu w paszy, co oprócz obniżki kosztów wpłynie pozytywnie na środowisko zmniejszając przenawożenie środowiska fosforem.
5. **Dopasowanie do warunków środowiska.** Wskutek procesów ewolucyjnych i działań hodowlanych każdy gatunek zwierząt gospodarskich dopasowany jest stosunkowo dobrze do określonych warunków środowiskowych, co w konsekwencji przekłada się na ograniczenia jego zasięgu terytorialnego. Próbując przełamać to ograniczenie podjęto w Kanadzie badania nad zwiększeniem tolerancji na niskie temperatury przez łososie [21].

Ryzyko związane z wprowadzeniem do obrotu zwierząt genetycznie zmodyfikowanych

Możliwe oddziaływania ekologiczne są bardzo różne u odmiennych grup zwierząt użytkowych. I tak u ssaków i drobiu występuje niebezpieczeństwo, że wskutek kojarzenia wbudowane geny rozprzestrzenić się mogą na populacje dzikie. Możliwe jest też przekrzyżowanie ze zwierzętami z innych stad hodowlanych. Trzeba jednak zaznaczyć, że ryzyko to jest zależne od transgenicznego gatunku, regionu, w którym jest on utrzymywany, i sposobu utrzymania. Nie zachodzi ono u bydła, bowiem jego dziki przodek (tur) już nie występuje, nieznaczne ryzyko może się pojawić w Azji i Afryce w odniesieniu do dziko żyjącego bawołu wodnego, jaka i gaura, będących potencjalnymi partnerami gatunkowymi do krzyżowania. Takie same zastrzeżenia dotyczą owiec i kóz. Potencjalne krzyżujące się gatunki, jak muflon, koza bezoarowa występują w niewielu regionach świata. W przypadku świń musi być brana pod uwagę ewentualność krzyżowania z dzikim przodkiem, tj. dzikiem. Także u transgenicznych królików występuje stosunkowo wysokie, w porównaniu z populacjami innych gatunków, potencjalne niebezpieczeństwo przekrzyżowania z dziko żyjącymi populacjami. Króliki mogą bowiem bardzo łatwo wyostać się różnego rodzaju zagród na wolnym

powietrzu, a do tego mają bardzo duży potencjał rozrodczy. Ryzyko takie może występować u kur, ale w tym przypadku jest ono regionalnie bardzo zróżnicowane.

Wymienione wyżej zagrożenia mogą być w znacznym stopniu wyeliminowane poprzez utrzymanie w pomieszczeniach i w żadnym razie zwierzęta transgeniczne nie powinny być utrzymywane na wolnym powietrzu, a tym samym także z tych powodów nie nadają się do gospodarstw ekologicznych.

Szczególnie wysoki potencjał ryzyka przedstawiają sobą transgeniczne ryby. Uwolnione do środowiska transgeniczne ryby stanowią wysoki potencjał ryzyka dla przedstawicieli własnego gatunku, jak też gatunków obcych. Dzikie populacje tego samego gatunku są szczególnie zagrożone przez imigrację do ich puli genowej, tzw. genów trojańskich [35]. W uproszczeniu można powiedzieć, że takie geny lub też grupy genów mają pozytywny wpływ na zdolności reprodukcyjne, ale negatywny na przeżywalność narybku, co przekłada się na kondycję całej populacji. Geny trojańskie mogą prowadzić do zaniku całych populacji. Natomiast populacje innych gatunków ryb mogą być zagrożone wskutek przewagi selekcyjnej transgenicznych konkurentów. Przykładowo, w przypadku wielu linii ryb, o tzw. turbowzroście obserwowane jest wzmożone pobranie pokarmu, co w konsekwencji może spowodować wyparcie miejscowych gatunków z ich pierwotnego siedliska. W skrajnych przypadkach ta nowa konkurencja spowodować może wymarcie pewnych gatunków.

Najlepszym sposobem uniknięcia wysokiego ryzyka związanego z możliwym przeniknięciem do środowiska ryb transgenicznych jest ich hodowla w głębi łądu w zainstalowanych na lądzie zbiornikach o zamkniętym obiegu [42]. Ponadto, celem minimalizacji ryzyka związanego z uwolnieniem transgenicznych ryb do środowiska, prowadzone są od pewnego czasu badania nad wytworzeniem sterylnych ryb transgenicznych, chociaż dotychczasowe wyniki nie dają stuprocentowej gwarancji.

Kolejny z poruszanych problemów dotyczy oddziaływania pożytków ze zwierząt transgenicznych na organizm konsumenta finalnego, jakim jest człowiek. Zasadniczo, przy spożywaniu produktów pochodzących z, względnie od transgenicznych zwierząt należy brać mimo wszystko pod uwagę ryzyko alergii pokarmowych. Można sobie przy tym wyobrazić, że transgeniczne zwierzęta mogą całkiem nieoczekiwanie wytwarzać toksyny, jak też mięso o zmienionym składzie chemicznym. Jak bowiem wynika z różnych badań, transgeniczne linie ryb mają w stosunku do konwencjonalnych zmieniony skład tuszy. Przejawia się to między innymi podwyższoną zawartością wody zmienionym składem aminokwasowym, obniżoną zawartością tłuszczu oraz podwyższoną zawartością białka. Fizjologiczno-żywnieniowe aspekty wpływu zmienionego składu mięsa nie są jak do tej pory przebadane. Z tego też powodu dalsze badania powinny się koncentrować na ocenie stopnia ryzyka powodowanego przez zmiany transgeniczne. Należy też pamiętać, że efekty zmian transgenicznych mogą być odmienne u różnych gatunków zwierząt. Podkreślić też należy, że dane uzyskane na podstawie badań jednej określonej linii nie mogą być wprost przenoszone na inną, ponieważ miejsce implementacji konstrukcji genowej w genomie zwierzęcia jest zmienne i przez to może powodować odmienne efekty.

Ostatni z omawianych aspektów dotyczy oddziaływania transgenezy na same zmodyfikowane zwierzęta. W tym przypadku jesteśmy konfrontowani z licznym doniesieniami o różnych negatywnych skutkach zdrowotnych modyfikacji genetycznych. Trzeba zaznaczyć, że modyfikacje genetyczne u wszystkich gatunków zwierząt użytkowych (ssaków) związane są z bardzo niską przeżywalnością embriionów transferowanych do organizmu matek biorczyń. Także wiele zwierząt transgenicznych rodzących się jako żywe, umiera przedwcześnie. Ponadto u wszystkich gatunków, transfer genów kodujących hormony wzrostu prowadzić może do zmian chorobowych. Oto niektóre z nich. Brem i Müller [6] donoszą, że u świń zaobserwowano zmiany patologiczne w żołądku, sercu i płucach, na skórze, a także obniżoną płodność. U transgenicznych królików geny hormonów wzrostu wywołują symptomy podobne do patologicznego gigantyzmu u ludzi [9]. U owiec zaś geny kodujące hormon wzrostu wywołują cukrzycę, upośledzają wątrobę, nerki i serce. Liczne doniesienia mówią także o niekorzystnych skutkach u ryb, co związane jest z nieoczekiwanymi efektami plejotropowymi transgenów.

Podsumowanie

Konkludując należy postawić sobie następujące pytania:

- Czy z etycznego punktu widzenia jest do przyjęcia wytwarzanie zwierząt transgenicznych z powodów gospodarczych? Biorąc przy tym pod uwagę opisane wyżej problemy. Jakie znaczenie w tych projektach ma zdrowie zwierząt?
- Jakie negatywne skutki społeczne i gospodarcze mogą takie projekty wywołać? W końcu kto będzie ostatecznym beneficjentem transgenicznych zwierząt? Jakie grupy społeczne mogą być wygrane, a jakie przegrane? Oraz jakie zmiany strukturalne może wywoływać wprowadzenie zwierząt transgenicznych do produkcji?
- Czy transgeniczne zwierzęta mogą się przyczynić do zaniku bioróżnorodności, a szczególnie do zaniku wielu lokalnych ras i odmian zwierząt użytkowych?
- Jakie mogą być skutki dotyczące świadomości człowieka i jego stosunku do natury?

Odpowiedź na te pytania jest niezwykle istotna dla wszystkich stron zaangażowanych w ten problem.

Oceniając dotychczasowy stan badań i prób wdrożenia do praktyki hodowlanej i produkcyjnej zmodyfikowanych genetycznie zwierząt oraz sformułowane powyżej zastrzeżenia i wątpliwości różnej natury, można stwierdzić, że przed badaczami stoi jeszcze wiele problemów, których rozwiązania nie należy się spodziewać w najbliższej perspektywie. W tym kontekście istotne jest podejmowanie udanych prób wykorzystania osiągnięć inżynierii genetycznej w hodowli, głównie w celu wspomaganie metod hodowli klasycznej i poprawy jej efektywności i rentowności. Z tym kierunkiem zastosowań nowych osiągnięć inżynierii genetycznej hodowcy wiążą wielkie oczekiwania.

Literatura

- [1] Aulrich K., Halle I., Flachowsky G. 1998. Inhaltsstoffe und Verdaulichkeit von Maiskornern der Sorte Cesar und der gentechnisch veränderten Bt-hybride bei Legehennen. in Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten Reihe: Kongressberichte. Giessen, Germany: 465–468
- [2] Berghofer E. 2001. Lebensmittelqualität und Lebensmittelsicherheit. *Ladändlicher Raum*. 3: 1–11.
- [3] Berkel van P.H.C., Wwww.nature.com/naturebiotechnologyyelling M.M., Geerts M., Venn van H.A., Ravensbergen B., Salaheddine M., Pauwels E.K.J., Pieper F., Nuijens J., Nibbering J. 2002. Large scale production of recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic cows. *Nature Biotechnology* 20: 484–487 (www.nature.com/naturebiotechnology).
- [4] Brake J., Vlachos D. 1998. Evaluation of transgenic event 176 Bt corn in broiler chickens. *Poultry Sci.* 77: 648–653.
- [5] Breever D.E., Kemp C.F. 2000. Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of scientific and regulatory procedures. *Nutrition Abstracts and Reviews Ser. Livestock Feeds and Feeding* 70(3): 175–182.
- [6] Brem G. Müller M. 1994. Large transgenic animals. W: Animals with novel genes. MacLean N. Cambridge University Press, Cambridge: 179–233.
- [7] Brophy B., Smolenski G., Wheeler T., Wells D., L’Huillier P., Laible G. Cloned transgenic cattle produce milk with higher levels of β -casein and κ -casein. *Nature Biotechnology* 21: 157–162 (www.nature.com/naturebiotechnology).
- [8] Clements J.E., Wall R.J., Narayan O., Hauer D., Schoborg R., Shefer D., Powell A., Carruth L.M., Zink M.C., Rexroad C.E. 1994. Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. *Virology* 200: 370–380.
- [9] Costa C., Solanes G., Visa J., Bosch F. 1998. Transgenic rabbits overexpressing growth hormone develop acromegaly and disbetis mellitus. *The FASEB J.* 12: 1455–1460.
- [10] Delvin R.H., Biagi C.A., Yesaki T.Y., Smailus D.E., Byatt J.C. 2001. Growth of domesticated transgenic fish. *Nature*. 409: 781–782.
- [11] Denning C., Burl S., Ainsline A., Bracekn J., Dinnes A., Flechter J., King T., Ritchie M., Ritchie W.A., Rollo M., De Sousa P., Travers A., Wilmot I., Clark A.J. 2001. Deletion of the $\alpha(1,3)$ galactosyl transferase (GGTA1) gene and the prion protein (PrP) gene in sheep. *Nature Biotechnology* 19: 559–562.
- [12] Donkin S.S., Velez J.C., Totten A.K., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. 2003. Effect of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 1781–1788.
- [13] Faust M., Miller L. 1997. Study finds no Bt in milk. Iowa State University Integrated Crop Management Newsletter IC-478, Special Livestock Edition, Ames.
- [14] Folmer J.D., Erickson C.E., Milton C.T., Klopfenstein T.J., Beck J.F. 2000. Utilization of Bt corn residue and corn silage for growing beef steers. *J. Anim. Sci.* 78(Suppl. 2): 85 (Abstr.).
- [15] Folmer J.D., Grant R.J., Milton C.T., Beck J.F. 2000. Effect of Bt corn silage on short-term lactational performance and ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 1182. (Abstr.)
- [16] Golovan S.P., Meidinger R.G., Ajakaiye A., Cottrill M., Wiederkehr M.Z., Barney D.J., Plante C., Pollard J.W., Fan M.Z., Hayes A. Laursen J., Hjorth J.P., Hacker R.R., Phillips J.P., Forsberg C.W. 2001. Pigs expressing salivary phytase produce low-phosphorus manure. *Nature Biotechnology*. 19: 741–745.
- [17] Grant R.J., Fanning K.C. Kleinschmidt D., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. 2003. Influence of glyphosate-tolerant (event nk603) and corn rootworm protected (event MON863) corn silage and grain on feed consumption and milk production in holstein cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 1707–1715.
- [18] Halle I., Aulrich K., Flachowsky G. 1998. Einsatz von Maiskörnern der Sorte Cesar und des gentechnisch veränderten Bt-hybriden in der Broilermast. Proc. 5. Tagung, Schweine- und Geflügelernährung. Wittenberg, Germany: 265–267.
- [19] Hammer R.E., Pursel V.G., Rexroad jr C.E., Wall R.J., Bolt D.J., Ebert K.M., Palmiter R.D., Brinster R.L. 1985. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature* 315: 680–683.
- [20] Hammond B.G., Vicini J.L., Hartnell G.F., Naylor M.W., Knight C.D., Robinson E.H., Fuchs R.L., Padgett S.R. 1996. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J. Nutr.* 126: 717–727.
- [21] Hew C.L., Fletcher G. 2001. The role of aquatic biotechnology in aquaculture. *Aquaculture* 197: 191–204.
- [22] James C. 2005. Executive summary of global status of commercialized biotech/GM crops: 2005. ISAAA Briefs No. 34. ISAAA, Ithaca, NY.

- [23] Jia X., Patrzykat A., Devlin R.H., Ackerman P.A., Iwama G.K., Hancock R.E.W. 2000. Antimicrobial peptides protect coho salmon from *Vibrio anguillarum* infections. *Applied and Environmental Microbiology* 66(5): 1928–1932.
- [24] Jost B., Vilotte J.-L., Duluc I., Rodeau J.-L., Freund J.N. 1999. Production of the low-lactose milk by ectopic expression of intestinal lactase in the mouse mammary gland. *Nature Biotechnology* 17: 170–174.
- [25] Kempken F., Kempken R. 2004. Gentechnik bei Pflanzen. 2. Auflage. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg New York.
- [26] Kerr D.E., Plaut K., Bramley A.J., Williamson C.M., Lax A.J., Moore K., Wells K.D., Wall R.J. 2001. Lysostaphin expression in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgenic mice. *Nature Biotechnology* 19: 66–69.
- [27] Koval T.Y., Khamidov D.K., Andreeva L.E., Gazaryn K.G. 1991. Influence of the expression of the human growth hormone releasing factor gene on the levels of hormones in transgenic rabbits. *Problemy Endokrinologii* 37(6): 51–54.
- [28] Krimpenfort P., Rademakers A., Eyestone W., Van De Schans A., Van Den Breck S., Kooiman P., Kootwijk E., Platenburg G., Pieper F., Strijker R., De Boer H.A. 1991. Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production. *Biotechnology* 9: 884–847.
- [29] Lo D., Pursel V., Linton P.J., Sandgren E., Behringer R., Rexroad C., Palmiter R.D., Brinster R.L. 1991. Expression of mouse IgA by transgenic mice, pigs and sheep. *European Journal of Immunology* 21: 1001–1006.
- [30] MacKenzie D., McLean Morven. 2002. Who is afraid of GM feed?. *Feed Mix*. 10(3): 16–20.
- [31] Medvedev S.Y., Kozikova L.V., Bavin V.G., Yakovlev A.F. 1995. Growth and development of transgenic rabbits and pigs with transferred gene of human growth hormone releasing factor. *Selskohozyajstvennaya Biologiya* 6: 43–48.
- [32] Meier M.S., Teufel J., Hilbeck A., Tappeser B. 2003. Transgene Tiere: Nutzung, Risiken und Möglichkeiten der Risikovermeidung. *Umweltbundesamt Texte*, Berlin.
- [33] Mireles jr. A., Kim S., Thompson R., Amundsen B. 2000: GMO (Bt) Corn is similar in composition and nutrient availability to broilers as non-GMO corn. *Poultry Sci.* 79 (Suppl.1), 285: 65–66 (Abstract).
- [34] Mitchell A.D., Pursell V.G. 2001. Effect of dietary conjugated linoleic acid on growth and body composition of control and IGF-1 transgenic pigs. *The FASEB J.* 15(5) A961.
- [35] Muir W.M., Howard R.D. 2002. Assessment of possible ecological risks and hazards of transgenic fish with implications for other sexually reproducing organisms. *Transgenic Research* 11: 101–114.
- [36] Müller W.M., Brenig B., Winnacker E.-L., Brem G. 1992. Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. *Gene* 121: 263–270.
- [37] Niemann H., Hahn J., Marquardt O. 1996. Entwicklungsstand und Anwendungsperspektiven der Gentechnologie in der Tierproduktion. Bio- und Gentechnologie in der Tierzucht. Ulmer Verlag, Stuttgart: 56.
- [38] Noble M.S., Rodriguez-Zas S., Cook J.B., Bleck G.T., Hurley W.L., Wheeler M.B. 2002. Lactational performance of first-parity transgenic gilts expressing bovine alpha-lactalbumin in their milk. *J. Anim. Sci.* 80: 1090–1096.
- [39] Nottle M.B., Nagashima H., Verma P.J., Du Z.T., Grupen C.G., McLifpatrick S.M., Ashman R.J., Harging M.P., Giannakis C., Wigley P.L., Lyons I.G., Harrison D.T., Luxford B.G., Campbell R.G., Crawford R.J., Robins A.J. 1999. Production and analysis of transgenic pigs containing a methionine porcine growth hormone gene construct W: Transgenic animals in agriculture, Murray J.D., Anderson G.M., Oberbaure A.M., McGloughlin M.M. CABI Publishing, University Press, Cambridge: 145–156.
- [40] Phipps R.H., Deaville E.R., Maddison B.C. 2003. Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 4070–4078.
- [41] Poms R.E., Foissy H. 2001. Modellversuche zur Nachweisbarkeit von GMO-Futtermitteln in Kuhmilch. *Ländlicher Raum*. 2: 1–5.
- [42] Pothoff C., Teufel J. 2003. Biologisch unsicher: Transgene Fische. *Genetischer Informationsdienst GID* 157: 3. Genethischer Netzwerk e.V. Berlin.
- [43] Powell B.C., Walker S.K., Badwen C.S., Sivaprasad A.V., Rogers G.E. 1994. Transgenic sheep and wool growth; Possibilities and current status. *Reproduction Fertility and Development* 6(6): 621.
- [44] Pursel V.G.M., Pinkert C.A., Miller K.F., Bolt D.J., Campbell R.G., Palmiter R.D., Brinster R.L., Hammer R.E. 1989. Genetic engineering of livestock. *Science* 244: 1281–1288.
- [45] Rexroad C.E., Hammer R.E., Bolt D.J., Elsasser T.H., Miller K.F., Behringer R.R. 1989. Production of transgenic sheep with growth relating genes. *Molecular Reproduction and Development* 1: 164–169.
- [46] Rexroad C.E., Mayo K., Bolt D.J., Elsasser T.H., Miller K.F., Behringer R.R., Palmiter R.D., Brinster R.L. 1991. Transferrin- and albumin-directed expression of growth-related peptides in transgenic sheep. *J. of Animal Sci.* 69: 2995–3004.

- [47] Russell J.R., Farnham D., Berryman R.K., Hersom M.J., Pugh A., Barrett K. 2000. Nutritive value of the crop residues from bt-corn hybrids and their effects on performance of grazing beef cows. W: 2000 Beef Research Report (A.S. Leaflet R1723), Iowa State University, Ames, IA: 56–61.
- [48] Russell J.R., Hersom M.J., Pugh A., Barrett K., Farnham D. 2000. Effects of grazing crop residues from Bt-corn hybrids on the performance of gestating beef cows. *J. Anim. Sci.* 78 (Suppl. 2):79 (Abstr.)
- [49] Salter D.W., Crittenden L.B. 1989. Transgenic chickens: Insertion of retroviral vectors into the chicken germline. *Theor. Appl. Genet.* 77: 457–461.
- [50] Sin F.Y.T. 1997. Transgenic fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7: 417–441.
- [51] Su H.-Y., Jay N.P., Gourley T.S., Kay G.W., Damak S. 1998. Wool production in transgenic sheep. Results from first-generation adults and second-generation lambs. *Animal Biotechnology* 9(2): 135–147.
- [52] Teufel J., Pdtzold F., Potthof C. 2002. Specifics research on transgenic fish considering especially the biology of trout salmon. Federal Environmental Agency (Umweltbundesamt) Textye 64/02. Berlin.
- [53] Transgen. 2005. Gentechnisch veränderte Lebensmittel. Eine sichere Sachez. Transparenz für Gentechnik bei Lebensmitteln. Transgen, Bachstrasse 62–64, Aachen: 1–5.
- [54] Transgen. 2006. Wo ist die Gentechnik drin?. Transparenz für Gentechnik bei Lebensmitteln. Transgen, Bachstrasse 62–64, Aachen: 1–5.
- [55] Venugopal T., Pandian T.J., Mathavan S., Sarandi N. 1998. Gene transfer in Indian major carps by electroporation. *Current Sciences* 74(7):. 636–638.
- [56] Wall R.J., Kerr D.E., Bondioli K.R. 1997. Transgenic dairy cattle:genetic engineering on a large scale. *J. of Dairy Sci.* 80: 2213–2224.

Genetic modifications in animal breeding – state of the art and future prospects

Key words: genetically modified organisms (GMO), farm animals, breeding, application aims and directions

Summary

Paper discussed the general state of research and applications of genetically modified organisms (GMO) in production of food and feeds as well as the perspectives for application of genetic engineering advances in breeding of farm animals. Genetically modified feed crops have been persistently introduced into animal production; at the same time genetic modification of the animals themselves (apart from fish) still did not achieve the stage qualifying to practical application. State and directions of the research on genetic modification of the animals were discussed including connected threats for animals themselves, for the environment and human. Thus, the practical application of genetic modifications to the animals seems to be quite far-away. Nevertheless, just at present the result of molecular studies on the animals are wider and wider utilized as information supporting traditional breeding methods. This direction of activity seems to be most successful in the future.

Bezpieczeństwo stosowania genetycznie modyfikowanych roślin w żywieniu zwierząt w świetle wyników dotychczasowych badań*

Zenon Zduńczyk¹, Jan Jankowski²

¹ *Institut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN,
ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn
e-mail: zez@pan.olsztyn.pl*

² *Katedra Drobiarstwa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn
e-mail: janj@uwm.edu.pl*

Słowa kluczowe: GMO, kierunki i produkty transgenezy roślin, żywienie zwierząt, równoważność składnikowa i żywieniowa, bezpieczeństwo produktów spożywczych

Wstęp

Uprawy roślin transgenicznych, wykorzystywanych głównie na cele paszowe, rozpoczęły się 13 lat temu, a pasze z tych upraw są obecne w Polsce od co najmniej 10 lat. W ostatnich latach prawie wszystkie przemysłowe mieszanki paszowe produkowane w Polsce zawierały poekstrakcyjną śrutę sojową, pozyskiwaną z roślin genetycznie modyfikowanych (GM). Decyduje o tym niższa cena i większa łatwość nabycia tego surowca paszowego. Z tego względu, zakaz stosowania w żywieniu zwierząt w Polsce soi GM, jaki miał wejść w życie w lipcu 2008 r., wywołał sprzeciw producentów pasz oraz większości związków hodowców i producentów zwierząt, zaniepokojonych możliwością znacznego zwiększenia kosztów żywienia zwierząt i załamania eksportu polskich produktów. Wprowadzona przez Sejm RP prolongata

* Referat przedstawiony na seminarium naukowym pt. „Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt”, zorganizowanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN oraz Komitet Nauk Zootechnicznych PAN w Warszawie, 26 listopada 2008 r.

dopuszczenia paszowego wykorzystania soi transgeniczej w żywieniu zwierząt do początku 2012 roku jest rozwiązaniem tymczasowym. W podjęciu ostatecznej decyzji w tej sprawie powinny być wykorzystane wiarygodne informacje uzyskane w toku licznych doświadczeń biologicznych, z użyciem zwierząt laboratoryjnych i gospodarskich. Upowszechnienie tych informacji jest niezbędne, aby ograniczyć obawy i niechęć społeczeństwa wobec produktów współczesnej biotechnologii, postrzeganych jako niebezpieczne dla zdrowia konsumentów.

Celem niniejszego opracowania jest podsumowanie wyników kilkunastoletnich doświadczeń ze stosowaniem pierwszych genetycznie zmodyfikowanych roślin paszowych (głównie soi o zwiększonej tolerancji na działanie herbicydów oraz kukurydzy odpornej na atak owadów), jak i wskazanie zakresu niezbędnych badań biologicznych, w odniesieniu do modyfikacji bardziej zaawansowanych, określanych jako GM2, tj. genetycznej modyfikacji drugiej generacji.

Stosunek Polaków do GMO

Sondaże, przeprowadzone przez krajowe ośrodki badania opinii publicznej, wskazują na sukcesywny spadek akceptacji Polaków dla obecności genetycznie zmodyfikowanych organizmów (GMO) w paszach i produktach spożywczych [67]. W 2005 r. 56% ankietowanych aprobowало celowość zastosowania osiągnięć współczesnej biotechnologii do pozyskania transgenicznych roślin odpornych na choroby i szkodniki, a przeciwnych temu było tylko 25% ankietowanych [64]. Wyraźnie mniej respondentów (46%) akceptowało wykorzystanie biotechnologii w produkcji żywności, a aż 32% była temu przeciwna, przy czym liczba ta wzrosła, w stosunku do badań sprzed dwóch lat. Takie nastroje odpowiadały, bądź też nawet były nasilane przez opinie ówczesnej koalicji w sejmie i rządzie RP, najpełniej wyrażonej w dokumencie „Ramowe stanowisko Polski dotyczące organizmów genetycznie zmodyfikowanych” z 3. kwietnia 2006 roku [54]. Opowiadając się za realizacją idei „Polska wolna od GMO” Rząd RP sprzeciwiał się, m.in., uprawie genetycznie zmodyfikowanej kukurydzy, buraka cukrowego, rzepaku i soi oraz dopuszczeniu do obrotu pasz z GMO. Następnym krokiem, podjętym z inicjatywy rządu, była nowelizacja ustaw („nasiennej” i „paszowej”), wprowadzające zakaz uprawy i obrotu paszami z GMO z dniem 1 lipca 2008 roku. Przed tą datą obie strony sporu, tj. zwolennicy i przeciwnicy wykorzystania roślin GM, konfrontowali swoje racje podczas licznych konferencji środowiska naukowego, politycznego i zrzeszeń producentów pasz i żywności. Ze strony nauki i praktyki żywienia zwierząt zwracano uwagę na brak realnej alternatywy dla zastosowania soi GM w mieszankach paszowych i groźbę kilkunastoprocentowego wzrostu kosztów produkcji mięsa drobiowego i wieprzowiny, wskutek wprowadzania alternatywnych surowców wysoko-białkowych do mieszanek [10, 62]. Argumentowano, że dotychczasowe żywienie zwierząt paszami z GMO nie przeszkodziło intensywnemu rozwojowi eksportu

produktów zwierzęcych, a dalszy wzrost, jako skutek wycofania soi GM, jest mało realny lub nawet (w przypadku wzrostu cen) niemożliwy [73]. Przeciwnicy GMO wskazywali na zagrożenia dla środowiska, a przede wszystkim zdrowia konsumentów żywności z GMO [75]. Takie obawy żywi większość ankietowanych Polaków przekonanych, że spożywanie żywności GM może być szkodliwe dla zdrowia.

Tabela 1. Stosunek Polaków do GMO [50]

Pytanie	Odpowiedź	
	TAK	NIE
Czy spożywanie żywności GM może być szkodliwe dla zdrowia?	60	40
Czy Polska powinna zakazać upraw GM, nawet jeśli będzie to oznaczać konflikt z Komisją Europejską?	45	37
Czy Polska powinna zakazać stosowania roślin GM, nawet jeśli spowoduje to wzrost cen żywności?	49	35
Czy uprawa GM w Polsce powinna być dozwolona?	30	55
Czy kupiłbyś produkt spożywczy genetycznie modyfikowany, jeśli jego cena byłaby znacząco niższa od porównywalnego produktu bez GMO?	24	66

Wyniki sondażu prezentowanego w tabeli 1. wskazują jednoznacznie, iż w powszechnej opinii Polaków żywność GM postrzegana jest jako szkodliwa i niepożądana. Większość konsumentów nie ma przy tym świadomości, że krajowe produkty zwierzęce nie należą do żywności GM, nie zawierają bowiem transgenicznego białka. Takie białko, w niewielkiej ilości, mogą zawierać wędliny, do których produkcji użyto grysu sojowego z soi GM. Konsumenty deklarują w sondażach gotowość kupna produktów pozbawionych transgenicznych składników nawet wówczas, gdy ich cena będzie wyższa. Taka deklaracja nie odzwierciedla realnego zachowania przeciętnego konsumenta na rynku, dla którego najważniejszym kryterium, determinującym zakup danego produktu, jest cena [64]. Z tego głównie powodu wartość zakupów najdroższego asortymentu produktów spożywczych, pochodzących z upraw ekologicznych, nie przekracza 1–2% globalnej sprzedaży. Znacznie więcej nabywców sięga po najtańsze produkty, niezależnie od okazjonalnie wyrażanych poglądów. Nawet wśród osób wyrażających zadowolenie z kondycji finansowej swoich rodzin, aż 78% potwierdza znaczenie ceny podczas podejmowania decyzji o zakupie danego produktu.

Wyniki przeprowadzonych sondaży oraz prezentowany w prasie przebieg publicznej dyskusji wskazuje, że jej uczestnicy często nie dysponują właściwą wiedzą o przedmiocie sporu. Można przypuszczać, iż to właśnie deficyt rzetelnej wiedzy przyczynia się do niekorzystnych opinii polskiego społeczeństwa wobec prowadzenia modyfikacji genetycznych [67]. Dotyczy to nie tylko Polski. W krajach „starej” Unii 51% Europejczyków jest przeciwnych obecności GMO, przy czym 24% Europejczyków obawia się, że spożycie GMO prowadzi do zmian genomu konsumenta, a aż 38% uważa, że żywność konwencjonalna (np. pomidor) nie zawiera genów [29].

Kierunki i komercyjne efekty transgenezy roślin

W 2007 r. areał światowych upraw transgenicznych przekroczył 114 mln ha i był zalewie o 6 mln ha mniejszy od powierzchni upraw polowych w Unii Europejskiej. W strukturze upraw transgenicznych dominowała soja HT, tj. o zwiększonej tolerancji na działanie herbicydów (tab. 2). Z powierzchnią 58 mln ha soja GM przekracza połowę światowych upraw transgenicznych. Pierwszą transgeniczną soją, wprowadzoną do polowej uprawy, była linia odporna na glifosat, substancję czynną herbicydów typu Roundup®, oznaczana symbolami RR (Roundup Ready) lub HT (herbicide tolerance). Wprowadzając do genomu kukurydzy specyficzny gen ze szczepu CP4 *Agrobacterium* zwiększono odporność roślin na herbicyd stosowany do ochrony plantacji soi przed chwastami, nie zmieniając znacząco zawartości składników pokarmowych (białka, cukrowców i tłuszczu) oraz substancji przeciwożywczych; inhibitorów trypsyny, lektyn, izoflawonów, fitynianów i oligosacharydów [48, 49]. Glifosat jest inhibitorem syntazy kwasu 5-enolopirogrono-3-fosfoszikiimowego (EPSPS), która odgrywa ważną rolę w procesach biosyntezy aminokwasów aromatycznych, witamin i wielu metabolitów wtórnych. Inhibicja EPSPS hamuje syntezę aminokwasów niezbędnych do biosyntezy białek i skutecznie blokuje wzrost rośliny, zarówno chwastów, jak i uprawy głównej. Wprowadzenie genu, który koduje syntezę enzymu EPSPS odpornego na glifosat zabezpiecza roślinę plonu głównego przed takim działaniem. Szybki wzrost upraw soi o zwiększonej tolerancji na herbicydy spowodował, że uprawy genetycznie modyfikowane (GM) przekraczają obecnie 64% całkowitego areału upraw soi w świecie.

Tabela 2. Struktura światowych upraw transgenicznych w 2007 r. [35]

Roślina	Dominującą modyfikacja	Powierzchnia [mln ha]	% upraw GM	% upraw danej rośliny
Soja	odporność na herbicydy	58	50,7	64
Kukurydza	odporność na owady i/lub herbicydy	36	31,5	24
Bawełna	odporność na herbicydy	15	13,1	43
Rzepak	odporność na herbicydy	5	4,4	20
Pozostałe	—	0,3	0,3	—
Razem	—	114,3	100	—

Pod względem powierzchni upraw, drugie miejsce zajmuje kukurydza o zwiększonej odporności na atak owadów błonkoskrzydłych oznaczona symbolem „Bt”. Zwiększoną odporność na insekty uzyskuje się poprzez wprowadzenie do genomu roślin specyficznego genu Bt, izolowanego z gramdodatnich bakterii *Bacillus thuringiensis*, kodującego białko Cry hamujące funkcje życiowe owadów. Dotychczas odkryto około 130 genów kodujących odpowiednie białka Cry, co umożliwi ich wybiórcze stosowanie do zwalczania poszczególnych gatunków owadów szkodników, ograniczając tym samym ich niekorzystne oddziaływanie na inne owady

bytujące w środowisku [44]. Dotychczas największe znaczenie mają transgeniczne odmiany kukurydzy odporne na omacnicę prosowiankę (*Ostrinia nubilalis*). Kukurydza genetycznie zmodyfikowana zajmuje zaledwie 1/4 część całkowitej powierzchni upraw tej rośliny. Znacznie mniejszą powierzchnię zajmuje uprawa genetycznie zmodyfikowanych upraw bawełny i rzepaku (Canoli) oraz mniej znaczących upraw, jak lucerna, papaja, pomidory, kabaczek, petunia i pieprz. Pod względem kierunku modyfikacji genetycznej dominują rośliny o zwiększonej odporności na działanie herbicydów (68% areалу upraw), mniejszą pozycję zajmują rośliny o zwiększonej odporności na atak owadów (18%) oraz rośliny o udoskonalonych obu cechach (13%). Niewielki odsetek wszystkich upraw transgenicznych, poniżej 100 tys. ha tj. mniej niż 1% upraw GM ogółem, stanowiły do niedawna rośliny modyfikowane w kierunku zwiększenia odporności na choroby wirusowe [34]. Odporność na choroby wirusowe uzyskuje się poprzez włączenie do genomu rośliny genu odpowiedzialnego za syntezę białka płaszczka (kapsydu) danego wirusa. W ten sposób uzyskano, m.in., transgeniczną odmianę ziemniaka odpornego na wirusy Y (PVY), testowaną w warunkach polowych [13, 26], a następnie ocenianą w doświadczeniach biologicznych w Polsce [71, 72].

Kryteria oceny bezpieczeństwa GMO

W ocenie bezpieczeństwa żywności produkowanej z surowców transgenicznych, jako kryterium wyjściowe, przyjęto koncepcję równoważności składnikowej (z ang. substantial equivalence), sformułowaną wcześniej przez amerykańską FDA, następnie przyjętą przez OECD [47] i popartą później przez FAO/WHO [22]. Koncepcja ta wynikała z założenia, że produkty konwencjonalne o znanej wartości odżywczej i długiej historii bezpiecznego stosowania w żywieniu, mogą służyć jako odpowiedniki w ocenie bezpieczeństwa i wartości odżywczej produktów genetycznie zmodyfikowanych [47]. Uznano, że jeżeli składem chemicznym produkt transgeniczny odpowiada tradycyjnemu, to ocena jego bezpieczeństwa zdrowotnego powinna przebiegać w myśl takich samych procedur, jak stosowanych wobec produktu konwencjonalnego. Nowy produkt lub jego składnik może zostać uznany za składnikowy odpowiednik tradycyjnego, jeżeli nie występują między nimi wyraźne różnice, przekraczające naturalną zmienność składu chemicznego surowców paszowych i spożywczych. Przyjęto, że ocena chemiczna uzyskanego GMO obejmuje najważniejsze składniki odżywcze (białka, tłuszcze, węglowodany, witaminy, składniki mineralne, substancje śladowe) i nieodżywcze (w tym substancje antyżywniowe i toksyczne), typowe dla modyfikowanego gatunku oraz źródła transgeny. Jeżeli badane surowce, transgeniczny i konwencjonalny, pozostają chemicznie podobne to można przyjąć, że oba są równie bezpieczne [47].

Koncepcja równoważności składnikowej wzbudziła wiele kontrowersji, zapoczątkowanych lub też nasilonych artykułem opublikowanym w „Nature”, wskazu-

jącym, że nie można wiarygodnie przewidzieć wszystkich biochemicznych, toksykologicznych i immunologicznych skutków konsumpcji produktów GM na podstawie wiedzy o ich składzie chemicznym, ponieważ związek między genotypem, charakterystyką chemiczną oraz ryzykiem toksykologicznym dla żywego organizmu pozostaje nieznany [46]. Autorzy postulowali, aby żywność produkowaną z surowców transgenicznych traktować w ten sam sposób, co farmaceutyki, pestycydy i chemiczne dodatki do żywności, z obowiązkiem prowadzenia przez producentów pełnych testów toksykologicznych, których wyniki posłużyłyby do wyznaczenia dopuszczalnego dobowego spożycia (ADI, z ang. **A**cceptable **D**aily **I**ntake).

Spór o bezpieczeństwo produkcji i stosowania GMO, m.in. toczony na łamach *Nature*, poważnie podzielił świat nauki. Z tego względu inne, równie prestiżowe, czasopismo naukowe *Science* uznało spór o bezpieczeństwo stosowania żywności z surowców genetycznie modyfikowanych za Naukową Kontrowersję 1999 Roku. W tym kontekście fałszywa jest teza, często głoszona przez oponentów GMO, o „zmowie nauki i nowych technologii przeciwko konsumentom”. Reprezentanci wielu dyscyplin naukowych, w tym zootechniki i nauki o żywności, oceniają produkty transgenezy oraz celowość ich stosowania z punktu widzenia potrzeb i bezpieczeństwa zwierząt i ludzi.

Europejski spór o GMO przyniósł pozytywny skutek w postaci nowych propozycji oceny bezpieczeństwa produktów transgenezy roślin. W kolejnych raportach FAO/WHO z 2000, 2001 i 2003 roku [23, 24, 25] wskazano ograniczenia równoważności składnikowej, jako kryterium bezpieczeństwa produktów transgenezy oraz uznano potrzebę badań *in vivo*, szczególnie w dwóch przypadkach: genetycznej modyfikacji surowców o znaczącej pozycji w diecie oraz modyfikacji wielokierunkowej, obejmującej kilka szlaków metabolicznych rośliny. Ten drugi aspekt jest szczególnie ważny, wyznaczający zakres niezbędnej oceny produktów o bardziej zaawansowanym zakresie modyfikacji, skrótowo oznaczanej jako GM2 [5, 27, 28]. Omówione wcześniej kierunki transgenezy, ukierunkowane na ochronę roślin przed niekorzystnym wpływem czynników środowiska, tj. stosowanych herbicydów, żerujących owadów oraz chorób bakteryjnych, grzybowych i wirusowych, są określane jako produkty genetycznej modyfikacji pierwszej generacji (GM1). Wynika to z faktu, że celem takiej modyfikacji nie są zmiany w składzie chemicznym jadalnych części roślin, a cele transgenezy uzyskuje się przy relatywnie małych zmianach w metabolizmie roślin. W ocenie skutków tych zmian autorzy wielu doświadczeń biologicznych za niezbędne przyjęli trzy kryteria; równoważność składnikową, równoważność odżywczą oraz analizę obecności rekombinowanych białek (rDNA) w produktach zwierzęcych (tab. 3). Tak sklasyfikowane parametry oceny były już stosowane w wielu doświadczeniach i pozwalają na ocenę wartości pokarmowej i bezpieczeństwa stosowania najważniejszych, z punktu widzenia aktualnych potrzeb producentów i konsumentów żywności w Polsce, produktów transgenezy, tj. *soi HT* i *kukurydzy Bt*.

Tabela 3. Parametry oceny produktów GM1 [za 5, 27, 28]

Kierunek badań	Przedmiot badań	Zakres badań
Równoważność składnikowa	pasze	składniki odżywcze składniki antyodżywcze mikotoksyny strawność in vitro
Równoważność odżywcza	zwierzęta	ilościowe i jakościowe parametry wzrostu status zdrowotny
Bezpieczeństwo produktów spożywczych	produkty zwierzęce (mleko, mięso, narządy wewnętrzne)	zmiany w tkankach losy rDNA i nowych białek

Wyniki badań produktów GM1 – soi HT i kukurydzy Bt

W okresie trzynastoletniej obecności soi HT na światowym rynku, w wielu krajach realizowano doświadczenia służące ocenie składu chemicznego i wartości pokarmowej nasion lub śruty poekstrakcyjnej oraz poznaniu losów transgenicznego białka w organizmie zwierząt. Wyniki tych badań były szczegółowo analizowane w wielu pracach przeglądowych, publikowanych w renomowanych czasopismach [5, 6, 7, 16, 27, 28, 70]. Najważniejsze wyniki tych badań przedstawiono w tabeli 4.

Większość doświadczeń, w których porównywano skład chemiczny nasion i poekstrakcyjnej śruty wykazały równoważność składnikową soi konwencjonalnej i transgenicznej [17, 32, 33, 49]. W jednym z doświadczeń stwierdzono jedynie, że soja HT zawierała mniej izoflawonów [43], co z paszowego punktu widzenia nie ma negatywnego znaczenia. W pierwszym cyklu doświadczeń, przeprowadzonym na szczurach, drobiu, rybach i krowach, efekty żywienia zwierząt były zbliżone zarówno jeśli mieszanka paszowa zawierała od 25 do 40% poekstrakcyjnej śruty z soi konwencjonalnej, jak i soi transgenicznej [32].

Wyniki zdecydowanej większości późniejszych doświadczeń żywieniowych, prezentowanych w tabeli 4, podsumowano wnioskiem, że soja HT była równoważna pod względem wartości pokarmowej z soją konwencjonalną. Wśród badań in vivo, ważnych z punktu widzenia bezpieczeństwa stosowania produktów GM, istotne miejsce zajmują doświadczenia ukierunkowane na poznania losu transgenów w organizmie zwierząt. Pozwalają one na weryfikację obaw o możliwość niekontrolowanej integracji obcego kwasu nukleinowego z DNA komórek zwierząt, żywionych paszami zawierającymi GMO, a także z DNA komórek człowieka i mikroflory jego przewodu pokarmowego. Jak wskazują informacje zamieszczone w tabeli 4, w pierwszym doświadczeniu Klotz i Einspaniera [37] stwierdzono fragmenty roślinnego DNA w leukocytach krwi, natomiast nie wykryto roślinnego, w tym transgenicznego DNA, we krwi i mleku krów otrzymujących w diecie soję HT. W innych doświadczeniach również nie wykryto rDNA w mleku i mięsie zwierząt, a zawartość trans-

genicznego DNA malała w treści kolejnych odcinków przewodu pokarmowego tak, że w kale nie była już wykrywalna. Phipps i in. [52], stosując czułą metodę z wykrywalnością $7,5 \mu\text{g} \cdot \text{dcm}^{-3}$, nie stwierdzili fragmentów transgenicznego DNA w mleku krów żywionych paszą, w której do 26,1% suchej masy stanowiła soja HT. W późniejszym doświadczeniu ci sami autorzy stwierdzili, że jest możliwe przenikanie do mleka drobnych fragmentów roślinnego DNA [53]. Inni autorzy, analizujący mleko

Tabela 4. Badania składu chemicznego, wartości pokarmowej i losów transgenicznego białka soi odpornej na działanie herbicydów (HT)

Układ i zakres badań	Najważniejsze wyniki	Źródło	
Analiza chemiczna	składniki odżywcze i nieodżywcze (inhibitory trypsyny, lektyny, izoflawony, oligosacharydy, fitinyiany)	nasiona i śruta poekstrakcyjna z soi HT były składnikowo równoważne z soją konwencjonalną	17, 32, 33, 49
Doświadczenie żywieniowe	kurczęta przez 6 tygodni żywione mieszanką starter i growing zawierającymi odpowiednio 33% i 27% soi HT	nie stwierdzono różnic w spożyciu diet, masie ciała i wskaźnikach jakości ci tusz	32
	krowy w drugim trymestrze laktacji, otrzymujące 40% soi HT w dobowej dawce	produkcja mleka i jego skład były zbliżone w grupie doświadczalnej i kontrolnej	32
	100 tuczników żywionych mieszankami o zawartości 24,3, 19,1 oraz 14% soi HT, odpowiednio w przedziałach wagowych 24–55, 55–87, 87–111 kg MC	nie stwierdzono różnic w przyrostach masy ciała, chemicznych wskaźnikach jakości tusz oraz sensorycznej ocenie mięsa	17
	łososie przez 6 tygodni otrzymujące w diecie 17,2% soi	wyniki żywienia ryb były zbliżone w grupach z soją HT i soją konwencjonalną	59
	długotrwale, trzynastotygodniowe żywienie szczurów dietą, w której soja Ht stanowiła 30, 60 i 90% mieszanki paszowej	brak różnic we wskaźnikach wzrostu zwierząt, parametrach hematologicznych oraz wskaźnikach biochemicznych moczu i krwi	74
Losy rDNA	krowy żywiono mieszanką treściwą soją Ht, jako jedynym komponentem wysoko białkowym	stwierdzono fragmenty roślinnego DNA w leukocytach krwi, nie wykryto transgenicznego DNA we krwi i mleku, nie oznaczono fragmentów roślinnego DNA w mleku	37
	krowy o wydajności 25,3 kg mleka żywione dietą z zawartością 55% suchej masy z soi HT	nie wykryto transgenicznego DNA w mleku	52
	krowy o wydajności 46,7 kg mleka otrzymujące diety z zawartością 39% suchej masy z soi	oznaczono transgeniczne DNA w żwaczu i treści jelit, nie wykryto rDNA w kale i mleku	53
	tuczniaki żywione mieszankami o zawartości 24, 19 oraz 14% soi HT, odpowiednio w przedziałach wagowych 24–55, 55–87, 87–111 kg	nie wykryto rDNA w mięśni najdłuższym grzbiecie świń	36
	łososie przez 6 tygodni otrzymujące w diecie 17,2% soi	nie stwierdzono rDNA w wątrobie, mięśniach i mózgu ryb	59
	długotrwale (13 tygodni) żywienie szczurów dietą, w której soja Ht stanowiła 30, 60 i 90% mieszanki paszowej	nie stwierdzono obecności rDNA z soi w mięśniach szczurów	74

krów otrzymujących soję HT nie stwierdzili takiego zdarzenia [11, 36]. W innych doświadczeniach mięso łososia [59] oraz tkanki szczura [74] były wolne od rekombinowanego DNA. W tym ostatnim przypadku było to długotrwałe doświadczenie żywieniowe (13 tygodni), a zawartość soi HT w diecie szczurów wynosiła nawet 90% [74].

Tabela 5. Badania składu chemicznego, wartości pokarmowej i losów transgenicznego DNA kukurydzy odpornej na atak owadów (Bt)

Zakres badań	Najważniejsze wyniki	Źródło	
Analiza chemiczna	zawartość białka, tłuszczu, skrobi, włókna, składników mineralnych. W niektórych badaniach również skład aminokwasowy białka, zawartość fitynianów i witamin	nie stwierdzono różnic w składzie chemicznym kukurydzy transgenicznej i konwencjonalnej	4, 9, 30, 57, 65
Doświadczenie żywieniowe	tucz kurcząt brojlerów mieszanką zawierającą od 50% do ponad 70% kukurydzy Bt lub konwencjonalnej	nie stwierdzono istotnych różnic w składzie chemicznym nasion i wynikach odchowu brojlerów.	1, 8, 9, 58, 65, 66
	trzytygodniowe żywienie kur niosek mieszanką z zawartością 56,67% kukurydzy	nie stwierdzono różnic we wskaźnikach nieśności oraz jakości jaj	55
	żywienie tuczników od masy początkowej 35 kg mieszanką z zawartością 70% kukurydzy Bt lub tradycyjnej	zbliżone spożycie paszy i przyrosty masy ciała, podobne współczynniki strawności białka i wyrównany poziom energii metabolicznej	57
	krowy żywiono kiszonką i mieszanką treściwą sporządzoną z transgenicznej lub konwencjonalnej kukurydzy	wydajność mleka krów w obu grupach była zbliżona (ponad 28 kg na dzień) a mleko nie zawierało DNA roślinnego	51
Losy rDNA	246 dni buhajkom o masie początkowej 188 kg podawano 20 kg kiszonki z transgenicznej i izogenicznej kukurydzy	nie stwierdzono różnic w strawności składników pokarmowych, przyrostach masy ciała i wydajności rzeźnej	18
	buhajki opasowe żywione do woli kiszonką z kukurydzy	nie wykryto roślinnego DNA w wątrobie, nerkach, śledzionie i mięsie buhajków	20
	krowy o różnej wydajności mleka (25 i 53 kg) żywione pełonoporcjowym zestawem paszowym z kiszonką kukurydzy Bt	nie stwierdzono rDNA w mleku krów	52, 53
	kurczęta i kury nioski otrzymujące mieszanki z zawartością od 50% do ponad 70% kukurydzy Bt	w tkankach kurcząt oznaczono krótkie fragmenty chloroplastów natomiast nie stwierdzono rDNA oraz DNA roślinnego w jajach	20, 66, 68, 69
	świnie przez okres tuczu od 24 do 108 kg żywione mieszanką z zawartością 70% kukurydzy Bt	nie stwierdzono obecności rDNA we krwi, narządach wewnętrznych i mięśniach	56
	świnie o masie 40 kg przez 4 tygodnie były żywione mieszanką z zawartością 60% kukurydzy Bt	oznaczono fragmenty DNA w przewodzie pokarmowym. Nie wykryto DNA we krwi	14
	cielęta przez 90 dni były żywione mieszanką z zawartością 43,3% kukurydzy	nie stwierdzono rDNA w mięsie cieląt	15
kury nioski i kurczęta brojlery żywione mieszanką z zawartością 60% kukurydzy	nie stwierdzono rDNA w narządach wewnętrznych, mięśniach ptaków oraz jajach	1	

Wyniki licznych doświadczeń prezentowane w tabeli 5 wskazują, że nasiona lub kiszonka z kukurydzy o zwiększonej odporności na atak owadów (kukurydza Bt), w porównaniu z kukurydzą konwencjonalną, były składnikowo i odżywczo równoważne. Analiza tkanek różnych gatunków i grup zwierząt nie wykazała też, aby transgeniczne białko było obecne w produktach zwierzęcych. Podobnie jak w przypadku doświadczeń z soją HT, w większości doświadczeń nie stwierdzono transferu transgenu *cry1Ab* z kukurydzy Bt do tkanek drobiu, świń i bydła. Nie wykryto roślinnego DNA we krwi, wątrobie, śledzionie, węzłach chłonnych i mięśniach świń spożywających 0,5 kg [38], jak też i 1,82 kg kukurydzy Bt dziennie [56]. W tym drugim przypadku obecność fragmentów transgenicznego konstruktów stwierdzano w treści jelitowej świń do 48 godzin od ostatniego żywienia, natomiast organy wewnętrzne były wolne od DNA kukurydzy zmodyfikowanej genetycznie. W innych badaniach [1] stwierdzono obecność fragmentów niemodyfikowanego roślinnego DNA w próbkach krwi, mięśni, wątroby i śledziony drobiu, natomiast nie stwierdzając ich w jajach. U kurcząt żywionych mieszanką z zawartości 60% kukurydzy jaja kur nie zawierały transgenu *bla*, występującego w kukurydzy Bt 176.

Reuter i Aulrich [56] wykryli fragmenty endogennego DNA chloroplastów w przewodzie pokarmowym, krwi, wątrobie, węzłach chłonnych, śledzionie, nerwach, jajnikach i mięśniach świń. Z tego względu nie można wykluczyć, że małe fragmenty pochodzące z paszy DNA przechodzą przez nabłonek jelita i trafiają do narządów wewnętrznych i tkanek konsumenta, a wykrycie tych fragmentów może być jedynie kwestią czułości zastosowanych metod [1]. Nie ma przy tym podstaw do założenia, że transgeniczne DNA zachowuje się w organizmie konsumenta w jakikolwiek inny sposób, niż DNA pochodzące z konwencjonalnych źródeł [28]. Nie stwierdzono dotychczas, aby zjawisko to miało negatywny wpływ na zwierzęta, zarówno w przypadku obecności DNA endogennego, jak też i DNA transgenicznego [2]. Doświadczenia prowadzone przez Jennings i in. [36] oraz Ash i in. [3] pozwoliły stwierdzić, iż nowe białka transgenicznej soi o zwiększonej odporności na herbicydy, podlegały rozkładowi w przewodzie pokarmowym zwierząt w takim samym stopniu jak białka konwencjonalnej soi. Prawdopodobieństwo transferu transgenicznego DNA do tkanek ocenia się przy tym jako nadzwyczaj niskie [52], szczególnie przy niezbyt dużym spożyciu produktów GM. Ocenia się, że w dobowej dawce pokarmowej krów, w której jest 40% kiszonki i 20% ziaren kukurydzy Bt, zawartość transgenicznego DNA wynosi 0,000094% całkowitej ilości DNA diety [50]. Przeciętna zawartość białka *Cry1Ab* w zielonce z kukurydzy MON 810 wynosi $0,31 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki, a w nasionach $4,76 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ [63].

W opinii ekspertów FAO/WHO [21] spożywanie transgenicznych kwasów nukleinowych nie zagraża zdrowiu konsumentów, ponieważ DNA pochodzące od wszystkich organizmów żywych jest strukturalnie podobne. Zarówno transgeniczne, jak i niemodyfikowane DNA, jest zbudowane z takich samych podjednostek i podlega tym samym procesom trawienia [1]. Podczas hydrolizy w niskim pH żołądka i enzy-

matycznego rozkładu w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego, DNA jest skracane do mniejszych fragmentów, nukleotydów i nukleozydów [50]. Wiadomo, że zwierzęta od wieków spożywają w diecie obcy materiał genetyczny i taka ekspozycja przewodu pokarmowego ssaków na egzogenne DNA jest uznawana za naturalną i bezpieczną. Z tych, względów w opinii European Food Safety Authority (EFSA) omawiane produkty transgenezy pierwszego stopnia są równie bezpieczne, lub też równie niebezpieczne, jak produkty klasycznej biotechnologii [19].

Rośliny GM2: ryzyko niezamierzonego efektu

W odróżnieniu od wcześniej omówionych produktów transgenezy roślin ukierunkowanej na ochronę plonów (GM1), genetyczna modyfikacja drugiej generacji (GM2) jest ukierunkowana na poprawę cech użytkowych plonu, tj. wartości odżywczej, jakości zdrowotnej i/lub właściwości technologicznych. Najczęściej celem takiej modyfikacji jest zwiększenia syntezy jednego lub kilku pożądaných składników (np. białka, aminokwasów, flawonoidów, witamin, enzymów) lub też usunięcie składników niepożądanych, wykazujących właściwości antyodżywcze lub toksyczne [27]. Tego typu modyfikacje głębiej ingerują w metabolizm rośliny i zazwyczaj wymagają modyfikacji jednego lub kilku szlaków metabolizmu. Z tego powodu, zamierzonemu celowi transgenezy może towarzyszyć efekt niezamierzony. Wynika to między innymi z faktu, że techniki stosowane w celu przeniesienia obcego genu do genomu biorcy, nie pozwalają przewidzieć, które miejsce w jego łańcuchu DNA zostanie zmienione. Ponadto wprowadzony fragment DNA może wpłynąć na ekspresję genów kodujących ważną cechę funkcjonalną, bądź spowodować ujawnienie cechy pozostającej dotychczas „w uśpieniu” [44]. W efekcie, zamierzonej zmianie zawartości jednego składnika (funkcji rośliny) może towarzyszyć zmiana przypadkowa. Przykłady takich sytuacji, szerzej omówione w pracy Cellini i in. [11], zaprezentowano w tabeli 6. W niektórych z podanych przykładów transgenezy roślin były to efekty pozytywne, np. zwiększenie zawartości witaminy B lub obniżenie zawartości glikoalkaloidów, w innych przypadkach były to skutki negatywne, np. zaburzenia w transporcie węglowodanów i zmiany nekrotyczne w roślinie. W nielicznych przypadkach transgenezy roślin, przeprowadzonych w polskich laboratoriach, produkty GM1 były składnikowo równoważne roślinom konwencjonalnym, a produkty klasyfikowane jako GM2 różniły się od roślin wyjściowych zarówno zawartością składnika będącego celem modyfikacji, jak też składników z celem transgenezy nie związanych. Przykładem pierwszego przypadku były transgeniczne linie ziemniaka odpornego na wirusy Y (PVY^N), uzyskane w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN, a następnie testowane w warunkach polowych w Instytucie Hodowli Aklimatyzacji i Hodowli Roślin [13, 26]. Stwierdzono, że składem chemicznym i wartością pokarmową bulwy z linii transgenicznych były zbliżone do wartości bulw tradycyjnej odmiany Irga [71], a trzytygodniowe stosowanie diet z dużą zawartością suszu z tych

Tabela 6. Niezamierzone efekty genetycznej modyfikacji roślin [11]

Roślina	Cel transgenezy	Niezamierzony efekt
Ryż	synteza glicyny sojowej	o 50% więcej witaminy B
Ziemniak	synteza inwertazy drożdżowej	o 16–18% mniej glikoalkaloidów
Ryż	zwiększona synteza karotenoidów	nowe pochodne, β -karotenu, luteiny i zeoksantyny
Rzepak	nadekspresja syntazy fitynowej	zmiany w metabolizmie tokoferolu i kwasów tłuszczowych
Ziemniak	zwiększona synteza skrobi	zaburzenia transportu węglowodanów
Pszenica	ekspresja syntazy fosfatydyloseryny	zmiany nekrotyczne
Pszenica	ekspresja oksydazy glukozowej	fitotoksyczność

bulw (40%) nie spowodowało negatywnych następstw fizjologicznych i zdrowotnych u szczurów [72]. Pod względem składu chemicznego bulw odmienne wyniki przyniosła transgeneza ukierunkowana na zwiększenie odporności ziemniaków na czynniki środowiska, dzięki podwyższonej zawartości związków polifenolowych. Indukowana genetycznie nadekspresja enzymów szlaku syntezy flawonoidów (izomerzy chalkonu, reduktazy dihydroflawonu i transferazy glukozowej) spowodowała zarówno wzrost zawartości polifenoli, jak też spadek zawartości białka ogólnego (z poprawą składu aminokwasowego), obniżenie zawartości witaminy C i podwyższenie zawartości glikoalkaloidów steroidowych [40]. Podobną tendencję stwierdzono w przypadku ziemniaków z represją lizoform *a* i *c* białka 14-3-3. W bulwach ziemniaków transgenicznych stwierdzono obniżenie zawartości białka i niektórych składników mineralnych (Ca, P, Fe) oraz wzrost zawartości skrobi [39].

Z przytoczonych wyżej względów, ocena produktów GM2 powinna być szersza i bardziej kompleksowa, m.in. obejmująca zachowanie produktu podczas procesów przetwarzania i obróbki kulinarnej, właściwości fizykochemiczne i zdrowotne produktu GM, a także ocenę możliwych pożądanych i niepożądanych zmian w składzie chemicznym [42]. W odniesieniu do oceny produktów GM2, koncepcja równoważności składnikowej nie znajduje zastosowania, a kluczowym elementem oceny powinna być równoważność odżywcza [28]. Wiadomo też, że wykrycie niezamierzonych efektów transgenezy jest bardzo trudne przy użyciu klasycznej, ukierunkowanej analityki. Ujawnienie i zdefiniowanie niezamierzonych efektów transgenezy umożliwiają najnowsze narzędzia badawcze, rozwijane na użytek proteomiki i metabolomiki, pozwalające na analizy globalne, tj. wszystkich białek komórki (proteomu) lub wszystkich metabolitów danego lub kilku szlaków metabolizmu (metabolomu) [11, 41]. Wykorzystanie tych technik w ocenie zmian składu chemicznego roślin poddanych modyfikacji genetycznej było celem jednego z europejskich programów badawczych GMOCARE [31]. Zastosowanie technik metabolomiki pozwoliło wykłuzić ewentualność wystąpienia niezamierzonego efektu transgenezy w ziemniakach o zwiększonej zawartości fruktanów typu inuliny [12]. Ze względu na złożone procedury analityczne i wysoki koszt takich badań, szersze zastosowanie narzędzi proteomiki i metabolomiki w analizie genetycznie modyfikowanych surowców paszowych, w polskich warunkach, jest zagadnieniem odległym.

Podsumowanie

Wyniki ponad 100 przeprowadzonych badań *in vivo* z produktami GM1 nie wykazały obniżenia wartości pokarmowej tych pasz oraz pogorszenia efektów produkcyjnych i/lub stanu zdrowia drobiu, świń i bydła. Z tego powodu, jest mało prawdopodobne, aby w czasie prolongaty zakazu stosowania pasz z GMO uzyskano naukowe dowody na negatywne następstwa stosowania w żywieniu zwierząt produktów transgenezy roślin, tj. soi HT i kukurydzy Bt. Bez takich naukowych argumentów próby zamykania granic przed tymi paszami będą sprzeczne z prawem wspólnotowym.

Wyniki większości doświadczeń ze stosowaniem soi HT i kukurydzy Bt dowodzą, że produkty pochodzenia zwierzęcego, tj. mleko, mięso i jaja, są wolne od transgenicznego białka. Nie ma naukowych podstaw do uznania, że fragmenty transgenicznego DNA, jakie były wykrywane w narządach wewnętrznych zwierząt w nielicznych doświadczeniach, zagrażają zdrowiu tych zwierząt lub też zdrowiu konsumentów produktów zwierzęcych.

Wyniki dotychczasowych doświadczeń, dotyczących soi HT i kukurydzy Bt nie dają podstaw do oceny wartości pokarmowej i bezpieczeństwa stosowania innych produktów transgenezy, szczególnie produktów GM2, będących następstwem modyfikacji wielu szlaków metabolicznych w roślinie. Każdy z tych produktów wymaga wnikliwych, wieloaspektowych badań *in vivo*.

Literatura

- [1] Aeschbacher K., Messikommer R., Meile L., Wenk C. 2005. Bt176 Corn in poultry nutrition: Physiological characteristics and fate of recombinant plant DNA in chickens. *Poultry Sci.* 84: 385–394.
- [2] Alexander T.W., Reuter T., Aulrich K., Sharma R., Okine E.K., Dixon W.T., McAllister T.A. 2007. A review of the detection and fate of novel plant molecules derived from biotechnology in livestock production. *Anim. Feed Sci. Tech.* 133: 31–62.
- [3] Ash J.A., Scheideler S.E., Novak C.L. 2000. The destiny of genetically modified protein from roundup ready soybeans in the laying hen. *Poultry Sci.* 79(1): 111.
- [4] Aulrich K., Böhme H., Daenicke R., Halle I., Flachowsky G. 2001. Genetically modified feeds in animal nutrition. 1stn Com.: bacillus thuringiensis (Bt) corn in poultry, pig and ruminant nutrition. *Arch. Anim. Nutr.* 54: 183–195.
- [5] Aumaitre A., Aulrich K., Chesson A., Flachowsky G., Piva G. 2002. New feeds from genetically modified plants: substantial equivalence, nutritional equivalence, digestibility, and safety for animals and the food chain. *Livest. Prod. Sci.* 74: 223–238.
- [6] Aumaitre A. 2004. Safety assessment and feeding value for pigs, poultry and ruminant animals of pest protected(Bt) plants and herbicide tolerant (glyphosate, glufosinate) plants: interpretation of experimental results observed worldwide on GM plants. *Ital. J. Anim. Sci.* 3: 107–121.
- [7] Beever D.E., Kemp C.F. 2000. Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of scientific and regulatory procedures. *Nutr. Abstr. Rev.* 70: 175–182.
- [8] Brake J., Vlachos D. 1998. Evaluation of transgenic event 176 „Bt” corn in broiler chickens. *Poultry Sci.* 77: 648–653.
- [9] Brake J., Faust M.A., Stein J. 2003. Evaluation of transgenic event Bt 11 hybrid corn in broiler chickens. *Poultry Sci.* 82: 551–559.

- [10] Brzóska F., Korol W., Koreleski J. 2008. Skutki prawne, organizacyjne, produkcyjne i ekonomiczne zakazu stosowania materiałów paszowych GMO w Polsce, Ogólnopolska Konferencja Programowa „Polska wolna od GMO” – Materiały konferencyjne, Warszawa, 5 marca 2008.
- [11] Cellini F., Chesson A., Colquhoun I., Constable A., Davies H.V. Engel K.H., Gatehouse A.M.R., Karenlampi S., Kok E.J., Leguay J.-J., Lehesranta S., Noteborn H.P.J.M., Pedersen J., Smith M. 2004. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food Chem. Tox.* 42(7): 1089–1125.
- [12] Catchpole G.S., Beckmann M., Enot D.P., Mondhe M., Zywicki B., Taylor J., Hardy N., Smith A., King R.D., Kell D.B., Fiehn O., Draper J. 2005. Hierarchical metabolomics demonstrates substantial compositional similarity between genetically modified and conventional potato crops. *Proc. Nation. Acad. Sci.* 102(40): 14458–14462.
- [13] Chachulska A.M., Chrzanowska M., Flis B., Krzymowska M., Lipska-Dwuznik A., Robaglia C., Zagórski W. 1997. Potato and tobacco cultivars transformation towards potato virus resistance. *Biotechnology* 4(39): 48–54.
- [14] Chowdhury E.H., Kuribara G., Hino A., Sultana P., Mikami O., Shimada N., Guruge K.S., Saito M., Nakajima Y. 2003. Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt 11. *J. Anim. Sci.* 81: 2546–2551.
- [15] Chowdhury E.H., Mikami O., Murata H., Sultana P., Shimada N., Yoshioka M., Guruge K.S., Yamamoto S., Miyazaki S., Yamanaka N., Nakajima Y. 2004. Fate of maize intrinsic and recombinant genes in calves fed genetically modified maize Bt11. *J. Food Protec.* 67: 365–370.
- [16] Clarke J.H., Ipharraguerre R. 2001. Livestock performance: feeding biotech crops. *J. Dairy Sci.* 84(Suppl. E): E9–E18.
- [17] Cromwell G.L., Lindemann M.D., Randolph J.H., Parker G.R., Coffey R.D., Laurent K.M., Armstrong C.L., Mikel W.B., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. 2002. Soybean meal from Roundup Ready or conventional soybeans in diets for growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 80: 708–715.
- [18] Daenicke R., Aulrich K., Flachowsky G. 1999. GVO in der Fütterung. *Maise* 27: 135–137.
- [19] EFSA. 2006. Guidance document of the scientific panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. EFSA Journal 2004 (Updated on 7 December 2005, edited version of 28 April 2006). 99: 1–94.
- [20] Einspanier R., Klotz A., Kraft J., Aulrich K., Poser R., Schwaegle F., Jahreis G., Flachowsky G. 2001. The fate of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. *Eur. Food Res. Tech.* 212: 129–134.
- [21] FAO/WHO. 1991. Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Geneva, 1991.
- [22] FAO/WHO. 1996. Biotechnology and food safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Rome, 30 September–4 October 1996.
- [23] FAO/WHO. 2000. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation of Foods Derived from Biotechnology. Geneva, 29 May–2 June 2000.
- [24] FAO/WHO. 2001. Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Twenty-fourth Session, Geneva, 2001.
- [25] FAO/WHO. 2003. Codex Alimentarius Commission. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Twenty-sixth Session, Rome, 2003.
- [26] Flis B., Zimnoch-Guzowska E. 2000. Field performance of transgenic clones obtained from potato cv. Irga. *J. Appl. Genet.* 41: 81–90.
- [27] Flachowsky G., Aulrich K. 2001. Nutritional assessment of feeds from genetically modified organism. *J. Anim. Feed Sci.* 10 (Suppl. 1): 181–194.
- [28] Flachowsky G., Chesson A., Aulrich K. 2005. Animal nutrition with feeds from genetically modified plants. *Arch. Anim. Nutr.* 59(1): 1–40.
- [29] Gaskell G., Allum N., Bauer M., Durant J., Allansdottir A., Bonfadelli H., Boy D., de Cheveigne S., Fjaestad B., Gutteling J.M., Hampel J., Jolsoe E., Jesuino J.C., Kohring M., Kronberger N., Midden C., Nielsen T.H., Przystalski A., Rusanen T., Sakellaris G., Torgersen H., Twardowski T. 2000. Biotechnology and the European Public. *Nature Biotechnol* 18: 935–938.
- [30] George C., Ridley W.P., Obert J.C., Nemeth M.A., Breeze M.L., Astwood J.D. 2004. Composition of grain and forage from corn rootworm-protected corn event MON 863 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.* 52: 4149–4158.
- [31] GMOCARE 2003; European project. New methodologies for assessing the potential of unintended effect in genetically modified food crops. www.entransfood.nl/RTDprojects/

- [32] Hammond B.G., Vicini J.L., Hartnell G.F., Naylor M.W., Knight Ch.D., Robinson E.H., Fuchs R.L., Padgett S.R. 1996. The feeding value of soybean fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J. Nutr.* 126: 717–727.
- [33] Harrigan G.G., Ridley W.P., Riordan S.G., Nemeth M.A., Sorbet R., Trujillo W.A., Breeze M.L., Schneider R.W. 2007. Chemical composition of glyphosate-tolerant soybean 40-3-2 grown in europe remains equivalent with that of conventional soybean (*Glycine max* L.). *J. Agric. Food Chem.* 55: 6160–6168.
- [34] James C. 2005. Global Review of Commercialized Biotech/GM Crops: 2005, ISAAA Briefs No. 34-2005.
- [35] James C. 2007. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007, ISAAA Briefs No. 37-2007.
- [36] Jennings J.C., Kolwyck D.C., Kays S.B., Whetsell A.J., Sruber J.B., Cromwell G.L., Lirette R.P., Glenn K.C. 2003. Determining whether transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein are detectable in muscle from swine fed Roundup Ready soybean meal. *J. Anim. Sci.* 81: 1447–1455.
- [37] Klotz A., Einspanier R. 1998. Nachweis von „Novel-Feed“ im Tier? *Mais.* 3: 109–111.
- [38] Klotz A., Meyer I., Einspanier R. 2002. Degradation and possible carry over of feed DNA monitored in pigs and poultry. *Eur. Food Res. Technol.* 214: 271–275.
- [39] Kosieradzka I., Sawosz E., Szopa J., Vasko V. 2008. Potato genetically modified by 14-3-3 protein regression in growing rats diets. Part I: Chemical composition and digestibility of nutrients. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 58(1): 125–129.
- [40] Kosieradzka I. 2008. Transgeniczne ziemniaki z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów jako żywieniowe źródło substancji bioaktywnych. Wydawnictwo SGGW, Rozprawy Naukowe i Monografie, Warszawa 2008, 175.
- [41] Kuiper H.A., Kok E.J., Engel K-H. 2003. Exploitation of molecular profiling techniques for GM food safety assessment. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14: 238–243.
- [42] Kuiper H.A., Kleter G.A. 2003. The scientific risk assessment and regulation of genetically modified foods. *Trends in Food Sci. Techn.* 14: 277–293.
- [43] Lappe M.A., Bailey E.B., Childress C.C., Setchell K.D. 1999. Alternations in clinically important phytoestrogens in genetically modified herbicide-tolerant soybean. *J. Med. Food.* 1: 241–245.
- [44] Malepszy S. 2001. *Biotechnologia roślin*, PWN Warszawa.
- [45] Mazza R., Soave M., Morlacchini M., Piva G., Morocco A. 2005. Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Res.* 14: 775–784.
- [46] Millstone E., Brunner E., Mayer S. 1999. Beyond „substantial equivalence“. *Nature* 401: 525–526.
- [47] OECD 1993. Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology: concepts and principles. Paris, 1993.
- [48] Padgett S.R., Kolacz K.H., Delannay X., Re D.B., LaVallee B.J., Tinius C.N., Rhodes W.K., Otero Y.I., Barry G.F., Eicholz D.A., Peschke V.M., Nida D.L., Taylor N.B., Kishore G.M. 1995. Development, identification and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Sci.* 35: 1451–1461.
- [49] Padgett S.R., Taylor N.B., Nida D.L., Bailey M.R., MacDonald J., Holden L.R., Fuchs R.L. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J. Nutr.* 126: 702–716.
- [50] PBS DGA. 2008: www.pbssopot.com.pl
- [51] Phipps R.H., Beever D.E. 2000. New technology: Issues relating to the use of genetically modified crops. *J. Anim. Feed Sci.* 9: 543–561.
- [52] Phipps R.H., Beever D.E., Humphries D.J. 2002. Detection of transgenic DNA in milk from cows receiving herbicide tolerant (CP4EPSPS) soyabean meal. *Livestock Prod. Sci.* 74: 269–273.
- [53] Phipps R.H., Deaville E.R., Maddison B.C. 2003. Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and faeces of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 4070–4078.
- [54] Ramowe stanowisko Polski dotyczące organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO), wersja z uwzględnieniem uwag Rady Ministrów, 3 kwietnia 2006.
- [55] Rasumussen M.A., Cutler S.A., Wilhelms K., Scanes C.G. 2007. Effect of Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn on reproductive performance in adult laying hens. *Int. J. Poultry Sci.* 6(3): 169–171.
- [56] Reuter T., Aulrich K. 2003. Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fate of feed-ingested foreign DNA in pig bodies. *Eur. Food Res. Technol.* 216: 185–192.
- [57] Reuter T., Aulrich K., Berk A., Flachowsky G. 2002. Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: chemical composition and nutritional evaluation. *Arch. Anim. Nutr.* 56: 23–31.
- [58] Rossi F., Morlacchini M., Fusconi G., Pietri G., Mazza R., Piva G. 2005. Effect of Bt corn on broiler growth performance and destiny of feed derived DNA in the digestive tract. *Poultry Sci.* 84: 1022–1030.

- [59] Sanden M., Bruce I.J., Azizur Rahman M., Gro-Ingunn H. 2004. The fate of transgenic sequences present in genetically modified plant products in fish feed, investigating the survival of GM soybean DNA fragments during feeding trials in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* 237: 391–405.
- [60] Schubert R., Lettmann C., Doerfler W. 1994. Ingested foreign (phage M 13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Mol. Genet.* 242: 495–504.
- [61] Schubert R., Renz D., Schmitz B., Doerfler W. 1997. Foreign (M 13) DNA injected by mice reaches peripheral leucocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 961–966.
- [62] Seremak-Bulge J., Hryszko K. 2008. Ekonomiczne skutki potencjalnego zakazu stosowania genetycznie zmodyfikowanych roślinnych surowców paszowych ze szczególnym uwzględnieniem śrutu sojowej. Ogólnopolska Konferencja Programowa „Polska wolna od GMO” – Materiały konferencyjne, Warszawa, 5 marca 2008.
- [63] Stave J.W. 2002. Protein immunoassay methods for detection of biotech crops: applications, limitations, and practical considerations. *J. of AOAC Intern.* 85: 780–786.
- [64] Szczurowska T. 2005. Polacy o biotechnologii i inżynierii genetycznej. TNS OBOP, Styczeń 2005.
- [65] Taylor M.L., Parnell G., Nemeth M., Karunanandaa K., George B. 2005. Comparison broiler performance when fed diets containing corn grain with insect-protected (Corn Rootworm and European Corn Borer) and Herbicide-Tolerant (Glyphosate) traits, control corn, or commercial reference corn – revisited. *Poultry Sci.* 84: 1893–1899.
- [66] Tony M.A., Butschke A., Broll H., Grohmann L., Zagon J., Halle I., Daenicke S., Schauzu M., Hafez H.M., Flachowsky G. 2003. Safety assessment of Bt 176 maize in broiler nutrition: degradation of maize-DNA and its metabolic fate. *Arch. Anim. Nutr.* 57(4): 235–252.
- [67] Twardowski T. 2007. Opinia publiczna a GMO. *Biotechnologia* 3(78): 45–65.
- [68] Yonemochi C., Fujisaki H., Harada C., Hanazumi M. 2007. Evaluation of transgenic event CBH 351 (Starlink) corn in broiler chicks. *J. Anim. Sci.* 73: 221–228.
- [69] Yonemochi C., Ikeda T., Harada C., Kusama T., Hanazumi M. 2003. Influence of transgenic corn (CBH 351, named Starlink) on health condition of dairy cows and transfer of Cry9C protein and cry9C gene to milk, blood, liver and muscle. *J. Anim. Sci.* 74: 81–88.
- [70] Zduńczyk Z. 2001. In vivo experiments in the safety evaluation of GM components of feeds and foods. *J. Anim. Feed Sci.* 10(1): 195–210.
- [71] Zduńczyk Z., Frejnagel S., Fornal J., Flis M., Palacios M.C., Flis B., Zagórski-Ostoja W. 2004. Biological response of rat fed diets with high tuber content of conventionally bred and transgenic potato resistant to necrotic strain of Potato Virus Y (PVY^N). Part. I. Chemical composition of tubers and nutritional value of diets. *Food Control* 16: 761–766.
- [72] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Fornal J., Mazur-Gonkowska B., Koncicki A., Flis B., Zimnoch-Guzowska E., Zagórski-Ostoja W. 2004. Biological response of rat fed diets with high tuber content of conventionally bred and transgenic potato resistant to necrotic strain of Potato Virus Y (PVY^N). Part. II. Caecal metabolism, serum enzymes and indices of non-specific defence of rats. *Food Control* 16: 767–772.
- [73] Zduńczyk Z., Jankowski J. 2008. Ekonomiczne i społeczne przesłanki do uchylecia zakazu stosowania pasz GMO. *Polskie Drobniarstwo* 5/08: 2–6.
- [74] Zhu Y., Defa L., Fenglai W., Jingdong Y., Hong J. 2004. Nutritional assessment and fate of DNA of soybean meal from Roundup Ready or conventional soybeans using rats. *Arch. Animal Nutr.* 58(4): 295–310.
- [75] Żarski T.P. 2008. GMO – Inżynieria genetyczna; Fakty i mity, Ogólnopolska Konferencja Programowa „Polska wolna od GMO” – Materiały konferencyjne, Warszawa, 5 marca 2008.

Safety aspects in the use of genetically modified plants in animal nutrition on the basis of actual knowledge

Key words: GMO, plant transgene directions and products, animal nutrition, nutritional equivalence, component equivalence, safety of nutrition products

Summary

Paper presents the results of investigations conducted during last several years concerning the use of first genetically modified feed plants, mainly soybean with increased tolerance to herbicides (HT) and insect resistant maize (Bt). Data obtained from more than a hundred *in vivo* studies on transgenic plant have not displayed any adverse impact on nutritive value of these crops nor on productivity effectiveness and/or the health of farm animals. As it was revealed by the majority of studies on HT soybean and Bt maize application, the animal products such as milk, eggs and meat, were free of transgenic protein. There are no scientific evidence that fragments of transgenic DNA, that have been found in the internal organs of animals in some experiments, are harmful for these animals or for the consumers of animal products. Actual knowledge concerning HT soybean and Bt maize does not give basis to assess the nutritive value and safety of different transgenic product applications, especially GM2 ones, which are the results of many metabolic pathway modifications in plant. Each of these products require profound and comprehensive studies *in vivo*.

Krajowe doświadczenia in vivo w ocenie wartości odżywczej i dietetycznej wybranych roślin transgenicznych*

Iwona Kosieradzka

*Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego,
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa
e-mail: iwona_kosieradzka@sggw.pl*

Słowa kluczowe: rośliny genetycznie modyfikowane, skład chemiczny, wartość odżywcza i dietetyczna, bezpieczeństwo, badania in vivo

Wstęp

Postępującej urbanizacji i zmniejszaniu się powierzchni ziem uprawnych na świecie towarzyszy rosnące zapotrzebowanie na żywność i pasze wynikające z dynamiki wzrostu populacji ludzkiej i zmian preferencji dotyczących składu diety [8, 28]. Genetyczna modyfikacja roślin stwarza możliwość zwiększenia produktywności roślin przeznaczanych na pasze i żywność, a także umożliwia zmianę ich wartości odżywczej i dietetycznej. Modyfikacja prowadząca do korzystnej zmiany cech wpływających na jakość pozyskiwanej żywności lub paszy może mieć szczególne znaczenie w krajach europejskich, gdzie zapotrzebowanie na wiele produktów rolnych jest ograniczone. Polskie społeczeństwo jest jednak zdecydowanie sceptyczne w stosunku do produktów zawierających genetycznie modyfikowane organizmy (GMO). Wydaje się, że brak akceptacji może wynikać z małej dostępności informacji, niewystarczającego upowszechnienia wyników wiarygodnych, niezależnych badań naukowych, czego efektem jest stosunkowo niewielka wiedza społeczeństwa na ten temat.

* Referat przedstawiony na seminarium naukowym pt. „Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt”, zorganizowanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN oraz Komitet Nauk Zootechnicznych PAN w Warszawie, 26 listopada 2008 r.

Możliwość komercjalizacji roślin genetycznie modyfikowanych (GM) 1. generacji, bardziej wydajnych, odpornych na stropy biotyczne i abiotyczne, a także tych, w których wywołano ekspresję deficytowych składników pokarmowych i substancji biologicznie czynnych o charakterze farmakologicznym (GM 2. generacji) jest rozważane przede wszystkim w kontekście ich bezpieczeństwa w łańcuchu żywnościowym. Procedura żywnościowej oceny, stale weryfikowana i uzupełniana przez ośrodki naukowe, organizacje i agendy zajmujące się problemem bezpieczeństwa GMO, obejmuje dwa zasadnicze etapy: porównanie składu chemicznego roślin linii transgenicznych i nietransgenicznych linii rodzicielskich oraz ocenę wartości odżywczej i dietetycznej *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach modelowych.

Uprawa i badania GM roślin prowadzone w ponad 60 krajach obejmują kilkadziesiąt gatunków przeznaczonych na paszę, żywność i wykorzystywanych w celach przemysłowych. Badania bezpieczeństwa GMO obejmują procedury służące weryfikacji hipotezy, zgodnie z którą wartość odżywcza rośliny transgenicznej może ulec zmianie na skutek modyfikacji jej metabolizmu pod wpływem produktu transgeny, w wyniku ekspresji transgenicznego białka lub wystąpienia plejotropowego efektu transgenezy. W roślinach GM 2. generacji zmiana metabolizmu prowadząca do podniesienia wartości odżywczej na skutek zwiększenia lub zmniejszenia zawartości istotnych z punktu widzenia diety substancji w jadalnej części rośliny jest zamierzonym celem modyfikacji. Przewidywane zmiany koncentracji substancji zaangażowanych w metabolizm, pierwotnych i wtórnych metabolitów rośliny poddanej modyfikacji, mogą wywołać także nieoczekiwany, niezamierzony (plejotropowy) efekt wpływający na wartość odżywczą i dietetyczną GMO [3, 5]. Istnieje rozważana hipotetycznie możliwość pojawienia się toksyn czy alergenów. Zmiana składu chemicznego, wartości odżywczej i dietetycznej rośliny transgenicznej może z kolei modyfikować metabolizm i wybrane parametry stanu zdrowia konsumenta. Analiza składu chemicznego, określenie koncentracji wtórnych i pierwotnych metabolitów, podstawowych składników pokarmowych i substancji charakterystycznych dla badanej rośliny jest jedynie punktem wyjścia do badań żywnościowych na zwierzętach [4, 6, 7, 26], których naturalną kontynuację stanowią badania *in vivo*.

Eksperymenty z wykorzystaniem zwierzęcego modelu żywnościowego służą szacowaniu ryzyka wystąpienia nieoczekiwanych, niezamierzonych efektów transgenezy, ekspresji w roślinie transgenicznej aktywnych farmakologicznie substancji [6, 25]. Żywnościowa ocena bezpieczeństwa uwzględniająca wpływ GM roślin paszowych i konsumpcyjnych na stan zdrowia obejmuje m.in. ocenę toksyczności i alergenicności, badanie jakości produktów pochodzenia zwierzęcego i trawienia transgenicznego DNA, oraz problem potencjalnej możliwości wystąpienia antybiotykooporności związany z transferem genów markerowych potwierdzających efektywność modyfikacji [6].

Krajowe badania in vivo genetycznie modyfikowanych roślin wyhodowanych w polskich jednostkach naukowych

W Polsce badania GM roślin prowadzą za zgodą Ministerstwa Środowiska (zamknięte użycie GMO) nieliczne jednostki naukowe: Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (ziemniaki, pszenżyto), Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego (ogórki, pomidory), Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Wrocławskiego (ziemniaki, len), Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa (śliwa). W próbach polowych testowane są także odmiany transgenicznej kukurydzy odpornej na owady (omacnicę prosowiankę) i herbicydy oparte na glifosacie.

Eksperymenty służące żywieniowej ocenie in vivo transgenicznych roślin prowadzone są od 2000 roku w Katedrze Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej (KŻZiGP), SGGW. Obejmują one kompleksową ocenę fizykochemiczną jadalnych części roślin transgenicznych i ich konwencjonalnych odpowiedników oraz ocenę wielu parametrów zdrowia i produktywności zwierząt modelowych żywionych mieszankami o znacznym udziale GMO. Materiałem doświadczalnym zastosowanym w prowadzonych badaniach wartości żywieniowej GMO były:

- Ziemniaki z modyfikacją (nadekspresją lub represją) regulatorowego białka 14-3-3, kontrolującego m.in. aktywność reduktazy azotanowej, syntazy skrobiowej i sacharozowej, wpływającego na asymilację N i C, modyfikującego syntezę aminokwasów, antocyjanów, kwasów fenolowych.
- Ziemniaki z nadekspresją kluczowych enzymów szlaku syntezy flawonoidów (syntazy i izomeryzy chalconu, reduktazy dihydroflawonolu) oraz transferazy glukozowej modyfikującej końcowy produkt tego szlaku.
- Nasiona lnu z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów syntazy i izomeryzy chalconu, reduktazy dihydroflawonolu.
- Pomidory o opóźnionym dojrzewaniu, wykazujące ekspresję słodkiego białka – taumatyny.
- Ogórki z ekspresją taumatyny.

Transgeniczne rośliny ziemniaka i lnu oraz ich izogeniczne odpowiedniki wyhodowano w Instytucie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Wrocławskiego. Rośliny pomidora i ogórka GM wyhodowano w SGGW, w Katedrze Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin [11, 16, 20, 23, 29].

W Instytucie Rozrodu i Badań Żywności (IRiBŻ) PAN w Olsztynie przeprowadzono badania żywieniowe oceniające wartość i bezpieczeństwo stosowania w diecie ziemniaków o zwiększonej odporności na nekrotyczny szczep wirusa Y (PVY^N). Genetycznie modyfikowane rośliny ziemniaka i ich izogeniczne odpowiedniki pochodziły z hodowli Instytutu Biochemii i Biofizyki (IBB) [10, 32, 33].

Zespół Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt (IGiHZ) PAN w Jastrzębcu przeprowadził doświadczenie oceniające wpływ diet zawierających transgeniczne, odporne na herbicyd pszenżyto, na wzrost 5 generacji myszy. Transgeniczne rośliny pszenżyta odporne na herbicyd zawierający fosfonitricinę jako substancję aktywną wyhodowano w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (IHAR) w Radzikowie [1].

Wybrane wyniki badań bezpieczeństwa

Porównanie składu chemicznego

Porównanie składu chemicznego roślin transgenicznych i nietransgenicznych w badaniach GM ziemniaków, lnu, pomidorów i ogórków stanowiących materiał doświadczalny w badaniach KZZiGP SGGW obejmowało analizę zawartości, podstawowych składników pokarmowych, frakcji węglowodanów (włókno metodą Van Soesta, skrobia, cukry rozpuszczalne), określenie: profilu aminokwasowego białka, kwasów tłuszczowych, składu mineralnego i zawartości jonów (Zn, Mn, Cu, Na, Ca, Mg, K, P, Fe, Ca, Cd, Cr, Ni, Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-}) itp. Istotnym elementem oceny żywieniowej było oznaczenie koncentracji, w liofilizacie jadalnej części rośliny, charakterystycznych substancji biologicznie czynnych (np. likopen, beta karoten, flawonoidy, glikoalkaloidy steroidowe, kwas askorbinowy i in.) szczególnie istotnych z punktu widzenia jakości diety.

Zarówno wyniki badań prowadzonych w KZZiGP jak i eksperymenty innych zespołów zajmujących się wybranymi transformantami wykazały różnicowanie koncentracji składników pokarmowych a zmianom ilościowym często towarzyszyły zmiany jakościowe. Każde GMO wymaga oczywiście odrębnej analizy oczekiwanych i niezamierzonych zmian w składzie. Ze względu na ograniczone ramy niniejszego opracowania przedstawione zostaną jedynie wybrane przykłady, cechy badanych transgenicznych roślin powtarzające się w kolejnych latach eksperymentów. W roślinach stanowiących materiał doświadczalny w omawianych badaniach prowadzonych w KZZiGP, oczekiwanym, zamierzonym celem modyfikacji była zmiana koncentracji metabolitów wpływająca zarówno na cechy agrotechniczne jak i wartość odżywczą.

Modyfikacja ekspresji białka 14-3-3, jak i nadekspresja syntazy i izomerazy chalkonu, reduktazy dihydroflawonolu i transferazy glukozy, prowadziła do intensyfikacji syntezy flawonoidów [11, 29]. Związki te odgrywają w roślinie rolę fitoaleksyn, zwiększają oporność na patogenny i inne czynniki stresowe, ale jednocześnie są uznawane za semiegzogenne substancje determinujące wartość odżywczą i dietetyczną ziemniaka. Wykazują różnicowane funkcje biologiczne, przede wszystkim pełnią rolę antyoksydantów, ale mogą oddziaływać na organizm konsumenta w bardzo różny sposób [9].

Efektom represji białka 14-3-3 okazał się wzrost syntezy skrobi i wyższy stosunek rozpuszczalnych cukrów do skrobi w bulwach ziemniaków transgenicznych [15, 30]. Liofilizat ziemniaków z nadekspresją transferazy glukozy, enzymu modyfikującego końcowy produkt szlaku syntezy flawonoidów, zawierał więcej skrobi a badania mikroskopowe (mikroskop skaningowy i transmisyjny) wykazały odmienną budowę, różnicowanie wielkości ziaren. Zwiększonej intensywności syntezy skrobi w bulwach ziemniaków o wzmocnionej ekspresji enzymów szlaku syntezy flawonoidów towarzyszyła redukcja zawartości cukrów redukujących [11]. Jednak korelację

między intensywnością syntezy flawonoidów a metabolizmem węglowodanów w roślinach transgenicznych uznano za niejasną [11, 23]. Bulwy ziemniaków z represją białka 14-3-3, podobnie jak ziemniaki z modyfikacją ekspresji enzymów zaangażowanych w proces syntezy flawonoidów, zawierały nieco mniej białka ogólnego niż bulwy roślin nietransgenicznych, ale białko to miało większą wartość biologiczną, zawierało więcej aminokwasów egzogennych [15].

Koncentracja polifenoli ogółem, szczególnie antocyjanów w bulwach ziemniaków z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów, okazała się większa niż w bulwach ziemniaków nietransgenicznych tej samej odmiany [11, 14, 22, 29]. W badaniach mikroskopowych stwierdzono jednak zwiększoną koncentrację wakuoli zawierających flawonoidy wykazujące fluorescencje w promieniach UV jedynie w perydermalnej warstwie bulwy, warstwie zwyczajowo usuwanej przed konsumpcją [14].

Kilkuletnie badania wykazały, że w przypadku niektórych linii transgenicznych (np. ziemniaków z nadekspresją enzymów transferazy glukozy i reduktazy dihydroflawonolu), zwiększeniu koncentracji substancji o znaczeniu prozdrowotnym, m.in. działających antyoksydacyjnie związków z grupy polifenoli, towarzyszy zmniejszenie zawartości innych ważnych dla wartości dietetycznej rośliny substancji, np. witaminy C (sumy kwasów askorbinowego i dezoksyaskorbinowego). Większa zawartość polifenoli w przypadku ziemniaków z nadekspresją transferazy glukozy jest związana z większą zawartością glikoalkaloidów steroidowych – substancji antyodżywczych, negatywnie wpływających na wartość odżywczą i dietetyczną ziemniaków [11]. Zarówno flawonoidy, których wzmocnienie syntezy było celem modyfikacji, jak i glikoalkaloidy są substancjami powstającymi w roślinie w odpowiedzi na stres. Efektem modyfikacji szlaku syntezy flawonoidów jest więc nie tylko oczekiwane zwiększenie zawartości flawonoidów, ale także niezamierzone zróżnicowanie zawartości glikoalkaloidów steroidowych [11, 29].

Nadekspresja enzymów szlaku syntezy flawonoidów (syntazy i izomerazy chalconu, reduktazy dihydroflawonolu) wiązała się ze wzrostem pojemności antyoksydacyjnej wszystkich roślin, w których przeprowadzono taką modyfikację. Badania nasion lnu pochodzących z roślin transgenicznych wykazały, że zawierają one co prawda więcej jednonienasyconych kwasów tłuszczowych niż nasiona roślin nietransgenicznych, ale jednocześnie zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych jest w nich mniejsza. Rośliny ziemniaka i lnu, w których metodami inżynierii genetycznej wzmocniono ekspresję enzymów odpowiedzialnych za syntezę flawonoidów zawierały więcej metali ciężkich, kadmu, chromu i ołowiu [11, niepublikowane badania własne].

Pomidory z ekspresją słodkiego białka taumatyny zawierały nieco mniej likopenu ale więcej innej substancji o właściwościach antyoksydacyjnych – betakarotenu. Transgeniczne pomidory i ogórki z taumatyną charakteryzowała zwiększona zawartość włókna surowego, a szczególnie ligniny (ADL), w stosunku do ich nietransgenicznych odpowiedników, [niepublikowane badania własne], co może zapewniać roślinom większą odporność na atak patogenów.

W żadnym z opisanych powyżej przypadków różnice zawartości składników pokarmowych, składników mineralnych i wybranych substancji biologicznie czynnych w tkance jadalnej części roślin transgenicznych i nietransgenicznych, nie były większe niż różnice w ich zawartości w konwencjonalnych roślinach różnych odmian tego samego gatunku, a ponadto nie odbiegały znacząco od wartości tabelarycznych [11, 12, 15, 16, 17] i wartości podawanych w dostępnej literaturze [24, 27].

Podobny wniosek wyciągnięto z badań składu i wartości odżywczej ziemniaków o zwiększonej odporności na nekrotyczny szczep wirusa Y (PVY^N), roślin GM 1. generacji, stanowiących materiał w badaniach prowadzonych w IRiBŻ PAN. Stwierdzono brak wpływu modyfikacji między innymi na zawartość białka, skrobi, włókna pokarmowego, aminokwasów. Różnice w składzie chemicznym i wartości odżywczej badanych ziemniaków transgenicznych i ich izogenicznych odpowiedników, w przypadku wielu parametrów, okazały się mniejsze niż różnice między kilkoma innymi włączonymi do doświadczenia odmianami tej rośliny [32].

Także poddane ocenie żywieniowej w IGiHZ PAN genetycznie modyfikowane pszenżyto, odporne na herbicyd, nie różniło się zawartością składników pokarmowych od ziarna roślin nietransgenicznych [1].

Wnioski z krajowych badań GM roślin wyhodowanych w polskich jednostkach naukowych są więc zgodne z wynikami badań innych zespołów stwierdzających, że metabolom roślin, uzyskanych konwencjonalnymi metodami hodowlanymi może wykazywać większe zróżnicowanie niż metabolom roślin GM, w których różnice koncentracji metabolitów są wywołane nieoczekiwanym, niezamierzonym efektem transgenezy [2].

Badania *in vivo* na zwierzętach modelowych

Wpływ GMO na rozwój i metabolizm zwierząt. Wpływ podawania diet zawierających badane w KŻZiGP SGGW rośliny transgeniczne oceniano w eksperymentach żywieniowych na rosnących szczurach laboratoryjnych. 4–6-tygodniowe doświadczenia wzrostowe i bilansowo-strawnościowe prowadzono w standardowych warunkach. Przeprowadzono także doświadczenie pokoleniowe, w którym mieszanką zawierającą transgeniczną ziemniaki żywiono szczury z pokolenia F0 przez cały okres wzrostu i dojrzewania, kojarzenia, ciąży, karmienia młodych. Po odsadzeniu mioty szczurów F1 otrzymano mieszanki zawierające GMO do zakończenia wzrostu i osiągnięcia dojrzałości (ok. 6 tyg). W każdym z doświadczeń szczury żywiono mieszankami zbilansowanymi wg NRC, zawierającymi liofilizat jednej z roślin transgenicznych lub (grupy kontrolne) izobiałkowe mieszanki zawierające konwencjonalny, izogeniczny odpowiednik rośliny transgenicznej, wyhodowany w identycznych warunkach i poddany takiej samej obróbce. Po zakończeniu doświadczeń zwierzęta usypiano i pobierano materiał do analiz.

Poza dynamiką wzrostu, stałą obserwacją zachowania i stanu zdrowia zwierząt badano strawność i wykorzystanie składników pokarmowych diet zawierających

GMO i ich konwencjonalne odpowiedniki. Podawanie diet zawierających 10–30% s.m. liofilizatu roślin transgenicznych w większości doświadczeń nie wpłynęło na tempo wzrostu, rozwój zwierząt oraz strawność składników pokarmowych izobiałkowych diet [11, 15, 17]. Jedynie dodatek ziemniaków z nadekspresji transferazy glukozowej, linii o największej koncentracji glikoalkaloidów steroidowych, powodował pogorszenie wskaźników wzrostowych szczurów, a białko mieszanek z liofilizatem tych bulw było gorzej trawione. W doświadczeniu pokoleniowym oceniono wskaźniki reprodukcji, plenność, mleczość samic i nie wykazano wpływu diety z GMO (ziemniakami z nadekspresji transferazy glukozowej) na parametry odchowu, plenność i mleczość szczurów [11].

Status zdrowotny zwierząt określano między innymi za pomocą parametrów biochemicznych (TP, ALB, GLOB, CREA, AST, ALT, GLU, CHOL, HDL, TRIG) i hematologicznych (m.in. RBC, HCT, MCV, HGB, WBC). Wskaźniki biochemiczne oznaczone we krwi szczurów żywionych dietami zawierającymi rośliny transgeniczne nie różniły się istotnie od analogicznych wskaźników oznaczanych we krwi szczurów otrzymujących diety z roślinami nietransgenicznymi i mieściły się w zakresie wartości prawidłowych dla tego gatunku [11, 12, 13, 16, 17, 18, badania niepublikowane]. Podawanie mieszanek z ziemniakami o wzmocnionej syntezie flawonoidów wpływało korzystnie na profil lipidowy krwi [11]. Odnotowano jedynie niewielkie zróżnicowanie parametrów morfologicznych krwi zwierząt żywionych dietami z dodatkiem badanych GMO i roślin nietrasgenicznych.

Potencjalną alergenicność, wpływ na system immunologiczny, opisywano parametrami odporności nieswoistej, określano koncentrację immunoglobulin IgE, IgA, IgM, IgG i wybranych cytokin. Nie wykazano alergenicności białek diet zawierających badane GMO. Koncentracja immunoglobulin IgE-total powstających w odpowiedzi na obecność czynnika alergennego w diecie oraz IgG, IgM, IgA nie różniła się istotnie w grupach żywieniowych. W niektórych doświadczeniach stwierdzono niewielką zmienność aktywności fagocytarnej monocytów i bójczej neutrofilii krwi wskazującą na uwrażliwienie zwierząt na składniki diety i niewielkie pobudzenie systemu immunologicznego [11, 31, 20, 21, niepublikowane badania własne].

Elementem badań bezpieczeństwa stosowania roślin transgenicznych w diecie była ocena potencjalnej kancerogenności, równowagi procesów red-ox, stanu oksydacyjno-antyoksydacyjnego organizmu. Oznaczono koncentrację produktów oksydacyjnej degradacji lipidów (substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym – TBA-RS), białek (NO₂, NO₃) i DNA (8-oxo-2'-deoxyguanozyny) oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych we krwi i wybranych tkankach. Obecność transgenicznych roślin w mieszance dla szczurów tylko w niewielkim stopniu modyfikowała stan antyoksydacyjny ich organizmu, co może świadczyć o nieobecności substancji działających toksycznie, stymulujących powstawanie reaktywnych form tlenu. Dieta zawierająca GMO nie powodowała zwiększenia tempa degradacji białek i lipidów oraz powstawania uszkodzeń DNA. W większości badań nie stwierdzono też różnic w wartości TBA-RS, stężeniu NO₂, NO₃ i 8-oxo-2'-deoxyguanozyny we krwi i tkan-

kach szczurów żywionych dietami z GMO lub ich nietransgenicznymi odpowiednikami. Jednak koncentracja adduktu DNA w wątrobie szczurów otrzymujących ziemniaki z represją P 14-3-3 czy ziemniaki z nadekspresją transferazy glukozowej była większa niż analogiczny parametr w tkance zwierząt otrzymujących diety nie zawierające GMO [11, 13, 19].

Ocena wpływu podawania badanych roślin transgenicznych w diecie na stan zwierząt modelowych obejmowała określenie aktywności wybranych hormonów o kluczowym znaczeniu dla metabolizmu (T3, T4, GH, DHEA, insulina, kortyzol), ale w większości doświadczeń nie stwierdzono znacznych różnic ich aktywności we krwi szczurów kontrolnych i doświadczalnych [11, 18, niepublikowane badania własne].

W ramach badań bezpieczeństwa GMO prowadzono pomiary morfometryczne i badania histologiczne organów szczurów z grup doświadczalnych i kontrolnych. Podawanie diet z ocenianym GMO nie wpływało na względną masę organów i powstawanie zmian patologicznych w tkankach. Jedynie względna masa jelita cienkiego szczurów żywionych ziemniakami z nadekspresją glukotransferazy była większa niż szczurów kontrolnych, a ocena histopatologiczna wątroby wykazała większą liczbę hepatocytów martwiczych u zwierząt żywionych ziemniakami z taką modyfikacją [11]. Nie odnotowano negatywnego wpływu diety z GMO na skład mikroflory i pH treści jelita szczurów, masę jelita w żadnym z doświadczeń [11, 17, niepublikowane badania własne].

W doświadczeniach z GM ziemniakami o zwiększonej odporności na nekrotyczny szczep wirusa Y (PVY^N) prowadzonych w IRIŻ PAN, w których szczurom podawano diety z 40% udziałem suszu bulw roślin transgenicznych, nie zaobserwowano istotnych różnic w tempie wzrostu, wielkości pobrania i wykorzystania paszy przez zwierzęta w grupach doświadczalnych i kontrolnych, żywionych dietami zawierającymi nie transgeniczne odpowiedniki transformantów. Stwierdzono brak negatywnego wpływu składu chemicznego i właściwości odżywczych bulw na masę i ekosystem jelita cienkiego, aktywność enzymów bakteryjnych (alfa- i beta-glukozydaz, alfa- i beta-galaktozydaz, beta-glukuronidaz), enzymów wątrobowych (aminotransferaz, fosfatazy alkalicznej, dehydrogenazy mleczanowej, kinazy kreatynowej) oraz wartość wskaźników odporności nieswoistej zwierząt [10, 32, 33].

Badania transgenicznego pszenżyta opornego na herbicyd fosfonitricinę, przeprowadzone przez zespół IGIHZ PAN, nie wykazały wpływu diet zawierających 20% ziarna roślin GM na wzrost i rozwój myszy otrzymujących przez 5 pokoleń mieszanki z GMO. Masa kluczowych dla metabolizmu organów wewnętrznych myszy kontrolnych i doświadczalnych nie różniła się istotnie. Nie odnotowano symptomów alergicznej reakcji organizmu [1].

Potencjalna możliwość horyzontalnego transferu genów. Ocena potencjalnego zagrożenia związanego z konsumpcją transgenicznego białka i transgenicznego DNA, możliwości transferu transgenicznego DNA do organów konsumenta były celem jednego z eksperymentów prowadzonych w KZZiGP SGGW. W doświadczeniu z zastosowaniem owoców transgenicznych ogórków wykazujących

ekspresję taumatyny przez 4 tygodnie podawano szczurom diety z 30% udziałem liofizatu owoców roślin GM lub owoców roślin nietransgeniczných. Na wyizolowanym z organów (m.in. wątroby i nerek), pobranych po zakończeniu doświadczenia, DNA genomowym przeprowadzono reakcję PCR. Nie stwierdzono obecności transgenicznego DNA, genu taumatyny, w tkankach organów szczurów. Nie stwierdzono także obecności transgenicznego białka (taumatyny) w treści jelit i kale zwierząt doświadczalnych. Taumatyna produkowana przez rośliny GM uległa rozkładowi (trawieniu).

Transgenicznego DNA nie wykryto też we krwi, nerkach, śledzionie, wątrobie, mięśniach myszy żywionych przez 5 pokoleń mieszankami z 20% udziałem GM pszenżyta opornego na działanie herbicydu w doświadczeniu przeprowadzonym przez zespół naukowców z Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN i Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin [1].

Możliwość wykształcenia oporności na antybiotyk przez mikroflorę przewodu pokarmowego zwierząt, wynikająca z obecności genów *nptII* w diecie, badano w KŻZiGP SGGW w doświadczeniu z zastosowaniem owoców transgeniczných roślin pomidora wykazujących ekspresję słodkiego białka taumatyny. W procesie modyfikacji roślin pomidora wykorzystano geny *nptII* (fosfotransferazy neomycyny) stanowiące marker potwierdzający skuteczność transformacji. Po 4 tygodniach żywienia zwierząt dietami z 30% udziałem owoców roślin transgeniczných lub ich konwencjonalnych odpowiedników pobierano treść jelita cienkiego i wysiewano na płytki Petriego z podłożem agarowym zawierającym dodatek roztworu neomycyny (*neomycini sulfas*). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w liczbie kolonii mikroorganizmów na płytkach, których pojawienie się mogłoby wskazywać na możliwość, transferu genu markerowego (*npt II*) z roślin transgeniczných do organizmów bytujących w przewodzie pokarmowym zwierząt doświadczalnych. Zrezygnowano z badań DNA mikroflory, ponieważ mikroflora zwierząt doświadczalnych i kontrolnych wykazywała jednakową wrażliwość na antybiotyk [niepublikowane badania własne].

Podsumowanie

Zróżnicowanie w wyniku transgenezy składu chemicznego jadalnej części badanych roślin transgeniczných i ich konwencjonalnych odpowiedników nie powodowało pogorszenia ich właściwości odżywczych. W badaniach in vivo skarmianie znacznych ilości GMO nie miało w większości przypadków istotnego wpływu na wzrost zwierząt modelowych i jedynie w niewielkim stopniu modyfikowało ich metabolizm nieznacznie zmieniając status zdrowotny.

Brak różnic w wartości wielu ocenianých parametrów świadczy o prawidłowym przebiegu funkcji życiowych zwierząt modelowych. Nie stwierdzono jednoznacznie

negatywnego oddziaływania składników diety, w której zmiana koncentracji substancji biologicznie czynnych mogłaby być niezamierzonym efektem transgenezy.

W badaniach bezpieczeństwa GMO wartość niemal wszystkich ocenianych parametrów stanu zdrowia zwierząt mieściła się w zakresie wartości charakterystycznych dla osobników zdrowych, mimo długotrwałego skarmiania roślin transgenicznych w ilości znacznie przekraczającej prawdopodobne dzienne pobranie przez zwierzęta i ludzi.

Biologiczna odpowiedź szczurów żywionych badanymi GMO – ziemniakami z modyfikacją P 14-3-3, ziemniakami z nadekspresją syntezy chalkonu, izomerazy chalkonu, reduktazy dihydroflawonolu i transferazy glukozy, pomidorami i ogórkami z ekspresją taumatyny, ziemniakami o zwiększonej odporności na nekrotyczny szczep wirusa Y (PVY^N), ziarnem pszenżyta opornego na herbicyd – oraz ich izogenicznymi odpowiednikami nie różniła się znacząco. Uznano, że „normalne”, prawdopodobne, zbliżone do zwyczajowego spożycie GMO nie będzie powodowało niekorzystnych skutków dla zdrowia. Transgeniczne rośliny uznano za bezpieczny dla konsumenta składnik diety konsumenta.

Wydaje się jednak, że jednoznaczne uznanie transgenicznej rośliny za bezpieczny składnik diety wymaga każdorazowo potwierdzenia w długoterminowych, wielopokoleniowych badaniach żywieniowych, a możliwość jej komercyjnego wykorzystania nie powinna być rozpatrywana w oderwaniu od kontekstu środowiskowego, społecznego i ekonomicznego.

Literatura

- [1] Baranowski A., Rosochacki S., Parada R., Jaszczak K., Zimny J., Połozynowicz J. 2006. The effect of diet containing genetically modified triticale on growth and transgenic DNA fate in selected tissues of mice. *Anim. Sci. Papers Reports* 24(2): 129–142.
- [2] Catchpole G.S., Beckmann M., Enot D.P., Mondhe M., Zywicki B., Taylor J., Hardy N., Smith A., King R.D., Kell D.B., Fiehn O., Draper J. 2005. Hierarchical metabolomics demonstrates substantial compositional similarity between genetically modified and conventional potato crops. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102/40: 14458–14462.
- [3] Cellini F., Chesson A., Colquhoun I., Constable A., Davies H.V., Engel K.H., Gatehouse A.M.R., Kärenlampih S., Koki E.J., Leguay J.-J., Lehesranta S., Noteborni H.P.J.M., Pedersen J., Smith M. 2004. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food Chem. Toxicol.* 42: 1089–1125.
- [4] Clark J., Ipharraguerre I.R. 2000. Livestock performance: feeding biotech crops. Agricultural Biotechnology in the Global Marketplace. Symposium held in conjunction with American Dairy Science Association and American Society of Animal Science Meeting. Baltimore, USA.
- [5] Conner A.J., Jacobs J.M.E. 1999. Genetic engineering of crops as potential source of genetic hazard in the human diet. *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagenes* 443: 223–234.
- [6] Flachowsky G., Aulrich K. 2001. Nutritional assessment of feeds from genetically modified organism. *J. Anim. Feed Sci.* 10 (Suppl 1): 181–194.
- [7] Flachowsky G., Chesson A., Aulrich K. 2005. Animal nutrition feeds from genetically modified plants. *Arch. Anim. Nutri.* 59(1): 1–40.
- [8] Gwarza C., Stover P. 2003. General introduction. The role of science in identifying common ground in the debate on genetic modification of foods. *Trends Food Sci. Tech.* 14: 182–190.
- [9] Jackson M.J., Papa S., Bolanos J., Bruckdorfer R., Carlsen H., Elliott R., Flier J., Griffiths H., Heales S., Holst B., Lorusso M., Lund E., Moskaug J., Moser U., Di Paola M., Polidori M., Signorile A., Stahl W., Vina-Ribes J.,

- Astley S. 2002. Antioxidants, Reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function. *Mol. Asp. Med.* 23: 209–285.
- [10] Juśkiewicz J., Zduńczyk Z., Fornal J. 2005. Nutritional properties of tubers of conventionally bred and transgenic N lines of potato resistant to necrotic strain of Potato virus Y (PVY). *Acta Biochimica Polonica* 52(3): 725–729.
- [11] Kosieradzka I. 2008. Transgenicne ziemniaki z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów jako żywieniowe źródło substancji bioaktywnych. Rozprawy naukowe i monografie. Wyd. SGGW: 173 ss.
- [12] Kosieradzka I., Sawosz E., Pastuszewska B., Szwacka S., Malepszy S., Bielecki W., Czumińska K. 2001. The effect of feeding diets with genetically modified cucumbers on the growth and health status of rats. *J. Anim. Feed Sci.* 10 supl. 2: 7–13.
- [13] Kosieradzka I., Sawosz E., Szopa J., Bielecki W. 2008. Potato genetically modified by 14-3-3 protein repression in growing rat diets Part 2: Health status of experimental animals. *J. Food Nutr. Sci.* 58(3): 377–382.
- [14] Kosieradzka I., Borucki W., Matysiak-Kata I., Szopa J., Sawosz E. 2004. Localization of phenolics in peridermis of transgenic potato tubers. *J. Anim. Feed Sci.* 13. Supl. 2: 87–92.
- [15] Kosieradzka I., Sawosz E., Szopa J., Vasko V. 2008. Potato genetically modified by 14-3-3 protein repression in growing rat diets. Part 1: chemical composition and digestibility of nutritional compounds. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 58(1): 124–129.
- [16] Kosieradzka I., Sawosz E., Malepszy S., Pastuszewska B., Kluciński W. 2003. Effect of supplemental cucumber fruits, modified in terms of the level of sweet protein thaumatin on the health parameters in rats. *Ann. Anim. Sci.* Supl. 2: 277–281.
- [17] Kosieradzka I., Sawosz E., Pastuszewska B., Żuk M., Szopa J., Bielecki W. 2004. Effect of feeding potato tubers modified by 14-3-3 protein overexpression on metabolism and health status of rats. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 329–339.
- [18] Kosieradzka I., Sawosz E., Skomiał J., Szopa J. 2005. Transgenic potato tubers with overexpression of 14-3-3 protein in growing rat diets. 1. Selected hormone activities and liver function status. *J. Anim. Feed Sci.* 14, Supl. 1: 545–548.
- [19] Kosieradzka I., Sawosz E., Skomiał J., Szopa J., Dudkowska I., Pastuszewska B. 2005. Transgenic potato tubers with overexpression of 14-3-3 protein in growing rat diets. 2. Redox indices in blood and brain. *J. Anim. Feed Sci.* 14, Supl. 1: 549–552.
- [20] Kosieradzka I., Sawosz E., Winnicka A., Kluciński W., Malepszy S., Szwacka M., Pastuszewska B. 2004. The effect of transgenic cucumbers expressing thaumatin on selected immunity parameters in rats. *J. Anim. Feed Sci.* 13. Supl. 2: 95–98.
- [21] Kosieradzka I., Winnicka W., Kluciński W., Sawosz E., Szopa J. 2003. Effect of diets containing tubers of genetically modified potatoes on parameters of non-specific resistance in rats. *Ann. Anim. Science.* Supl. 2: 281–285.
- [22] Lorenc-Kukuła K., Jafra S., Oszmiański J., Szopa J. 2005. Ectopic expression of anthocyanin 5-o-glucosyl-transferase in potato tuber causes increased resistance to bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 53: 272–281.
- [23] Łukaszewicz M., Matysiak-Kata I., Skała J., Fecka I., Cisowski W., Szopa J. 2004. Antioxidant capacity manipulation in transgenic potato tuber by changes in phenolic compounds content. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1526–1533.
- [24] Machado R.M.D, Toledo M.C.F., Garcia L.C. 2007. Effect of light and temperature on the formation of glycoalkaloids in potato tubers. *Food Control* 18: 503–508.
- [25] Malarkey T. 2003. Human health concerns with GM crops. *Mutation. Res.* 544: 217–221.
- [26] OECD. 2003. Considerations for the safety assessment of animal feedstuffs derived from genetically modified plants. <http://www.oecd.org/dataoecd/>
- [27] Pęksa A., Gołubowska G., Rytel E., Lisińska G., Aniołowski K. 2002. Influence of harvest date on glycoalkaloid contents of three potato varieties. *Food Chem.* 78: 313–317.
- [28] Shoemaker R., Harwood J., Rubenstein K., Dunahay T., Heisey P., McBride W., Fernandez-Cornejo J. 2001. Economic Issues in Agricultural Biotechnology. Economics Research Service. Washington, DC, Biuletyn 762. Washington, DC: Economic Research Service, US Department of Agriculture.
- [29] Stobiecki M., Matysiak-Kata I., Frański R., Skała J., Szopa J. 2003. Monitoring changes in anthocyanin and steroid alkaloid glycoside content in lines of transgenic potato plants using liquid chromatography/mass spectrometry. *Phytochemistry* 62: 959–969.
- [30] Świądrych A., Prescha A., Matysiak-Kata I., Biernat J., Szopa J. 2002. Repression of the 14-3-3 gene affects the amino acid and mineral composition of potato tubers. *J. Agr. Food Chem.* 50: 2137–2141.

- [31] Winnicka A., Sawosz E., Kluciński W., Kosieradzka I., Szopa J., Malepszy S., Pastuszewska B. 2001. A note of effect of feeding genetically modified potatoes on selected indices of non-specific resistance in rats. *J. Anim. Feed Sci.* 2: 13–19.
- [32] Zdunczyk Z., Frejnagel S., Fornal J., Flis M., Palacios M.C., Flis B., Zagorski-Ostoja W. 2005. Biological response of rat fed diets with high tuber content of conventionally bred and transgenic potato resistant to N necrotic strain of potato virus (PVY). Part I. Chemical composition of tubers and nutritional value of diets. *Food Control* 16(8): 761–766.
- [33] Zdunczyk Z., Juskiewicz J., Fornal J., Mazur-Gonkowska B., Koncicki A., Flis B., Zimnoch-Guzowska E., Zagorski-Ostoja W. 2005. Biological response of rat fed diets with high tuber content of conventionally bred and transgenic potato resistant N to necrotic strain of potato virus (PVY). Part II. Caecal metabolism, serum enzymes and indices of non-specific defence of rats. *Food Control* 16(8): 767–772.

Polish in vivo experiments in evaluation of nutritional and dietetic value of selected transgenic crops

Key words: genetically modified plant, chemical composition, nutritional value, safety, in vivo experiments

Summary

In vivo experimental works with GM plants developed in local laboratories are conducted at very few research centers in Poland. Evaluation of nutritional safety in in vivo trials was applied to the following plants: potatoes with modification of 14-3-3 protein, potatoes with overexpression of the enzymes of flavonoids synthesis pathway, tomatoes and cucumbers with the expression of thaumatin, potatoes with increased resistance to necrotic virus strain of Y (PVY^N) and triticale seeds tolerant to herbicide containing phosphonitricine.

Resulting from transgenesis change in chemical composition of the edible parts of investigated transgenic plants and their conventional counterparts did not cause any worsening of nutritional values. The values of almost all evaluated animal health parameters stayed within the limits typical for healthy individuals, despite long lasting feeding of transgenic plants in quantities much higher than likely daily intake of the animals and people. Biological response of the bodies in animals fed experimental plants and their conventional counterparts did not differ significantly. It was concluded that „normal GMO intake” would not cause any adverse effects in the consumer’s health. The transgenic plants were considered equally safe as their non-transgenic counterparts.

Skutki wprowadzenia zakazu stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt*

Franciszek Brzoška¹, Jerzy Koreleski¹, Waldemar Korol²

Dział Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa,

¹ *Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy,
ul. Krakowska 1, 32-083 Balice/Kraków*

Krajowe Laboratorium Pasz,

² *Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy,
ul. Chmielna 2, 20-079 Lublin*

e-mail: fbroska@izoo.krakow.pl

Słowa kluczowe: pasze GMO, zakaz stosowania, skutki dla bilansu pasz, możliwości substytucji, skutki ekonomiczne i społeczne

GMO w żywieniu zwierząt – rozwiązania prawne

Ustawa Paszowa z 22 lipca 2006 r. (Dz. U. Nr 144, poz. 1045) przejęta przez Sejm RP w paragrafie 65 wprowadziła zapis zakazu wytwarzania, wprowadzania do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt pasz genetycznie zmodyfikowanych oraz organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego. Wobec burzliwych dyskusji medialnych i sprzeciwu sektora paszowego oraz hodowców zwierząt popierających pasze zmodyfikowane genetycznie, Rada Ministrów dnia 12 maja 2008 r. przyjęła projekt ustawy o zmianie ustawy o paszach, która zmienia termin wejścia w życie zakazu, przesuując go do dnia 1 stycznia 2013 r. Projekt ustawy uchylił ważność zezwoleń wydanych przez Ministerstwo Środowiska w latach 2002–2003 na import produktów genetycznie zmodyfikowanych. Zapis w ustawie paszowej z 22 lipca 2006 r. wynika ze stanowiska przyjętego przez Radę Ministrów w marcu 2006 r. w dokumencie pt. „Ramowe stanowisko Polski dotyczące organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO)”, w którym opowiedziała się

* Referat przedstawiony na seminarium naukowym pt. „Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt”, zorganizowanym przez Wydział Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN oraz Komitet Nauk Zootechnicznych PAN w Warszawie, 26 listopada 2008 r.

przeciwko wprowadzaniu pasz genetycznie zmodyfikowanych do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt oraz przeciwko wprowadzaniu do uprawy genetycznie zmodyfikowanych: kukurydzy, rzepaku, buraka cukrowego, ziemniaków i soi [2].

Spośród zarejestrowanych obecnie w Unii Europejskiej, a tym samym dopuszczonych do żywienia zwierząt, a także ludzi, znajduje się m.in. ziarno soi i śruta sojowa poekstrakcyjna oraz odmiany kukurydzy uprawianej na kiszonkę i ziarno. Odmiany tych roślin odporne są na herbicydy stosowane w uprawie soi oraz uodparniają rośliny kukurydzy na szkodnika omacnicę prosowiankę, powodującego znaczne straty w uprawie kukurydzy. Śruta sojowa jest podstawową paszą białkową w żywieniu zwierząt monogastrycznych, w tym drobiu. Rośliny kukurydzy są natomiast podstawowym materiałem do produkcji kiszzonek, najważniejszej paszy objętościowej w żywieniu bydła, w tym krów mlecznych. Kukurydza jest ponadto rośliną uprawianą na ziarno, które jest ważną i dominującą w dietach dla drobiu paszą energetyczną.

Zapis Ustawy Paszowej w paragrafie 65, a także „Ramowe stanowisko Polski dotyczące organizmów zmodyfikowanych (GMO)” niezgodne jest z prawem obowiązującym w Unii Europejskiej. W Unii Europejskiej stosowanie pasz otrzymanych z roślin pastewnych zmodyfikowanych genetycznie i zarejestrowanych przez Unię Europejską dozwolone jest do stosowania w żywieniu zwierząt, w tym pasze z soi GMO i kukurydzy GMO. Wszystkie kraje Unii Europejskiej stosują śrutę sojową w żywieniu zwierząt. Śruta sojowa zmodyfikowana (GMO) stosowana jest również w żywieniu zwierząt w Polsce od co najmniej 5–7 lat. Większość krajów Unii Europejskiej, w tym m.in. Niemcy, Rumunia, Węgry i Czechy dopuściły do uprawy kukurydzę zmodyfikowaną genetycznie do żywienia zwierząt, chcąc uniknąć strat oraz pogorszenia się jakości ziarna wobec nasilającej się presji omacnicy prosowianki na plantacjach kukurydzy.

Propozycje ogłoszenia Polski lub poszczególnych regionów czy województw obszarami, w których wprowadza się zakaz stosowania genetycznie modyfikowanych organizmów (GMO) w żywieniu zwierząt stoi w sprzeczności z cytowanymi poniżej Rozporządzeniami Parlamentu Europejskiego i Rady Europy oraz postanowieniami Komisji Europejskiej z dnia 10 marca 2006 r., opublikowanymi w raporcie o żywności modyfikowanej genetycznie. W świetle tych dokumentów, Unia Europejska nie zamierza narzucać poszczególnym krajom członkowskim obowiązku uprawy roślin zmodyfikowanych zarejestrowanych, ale ostrzega, że państwa i samorządy jednostek terytorialnych państw nie mogą jednostronnie ogłaszać stref wolnych od roślin zmodyfikowanych genetycznie i blokować wykorzystywania produktów GMO w żywieniu zwierząt, które zostały w Unii Europejskiej zalegalizowane. Zapowiedziano, że państwa sprzeciwiające się postanowieniom Komisji będzie pozywać do Trybunału. Przepisy wprowadzające w życie zakaz zostały już zakwestionowane przez Komisję Europejską, która skierowała do Polski dwa pisma administracyjne oraz uzasadnioną opinię dotyczącą uchybienia zobowiązaniom wynikającym z rozporządzenia (WE) nr 1829/2003, podkreślając że Polska nie przestrzega zobowiązań wynikających z prawa wspólnotowego.

Za precedens w powyższej sprawie należy uznać inicjatywę utworzenia stref wolnych od GMO w Austrii i Francji. 5 października 2005 r. Trybunał Europejski wydał werdykt, w którym sprzeciwił się utworzeniu takiej strefy w Górnej Austrii, podkreślając m.in., że państwa członkowskie Unii Europejskiej i władze lokalne nie mogą zakazywać wykorzystania produktów GMO (np. wytwarzania pasz na bazie śruty sojowej GMO), gdyż sprzeczne jest to z prawem „swobodnego przepływu dóbr”. Werdykt podkreśla brak dowodów merytorycznych, jakimi są wyniki badań naukowych, szkodliwości organizmów modyfikowanych genetycznie dla zwierząt, konsumentów żywności i dla środowiska naturalnego oraz brak podstaw prawnych do takich działań. Podobnymi konsekwencjami Trybunał zagroził również Francji.

Problematyką dopuszczania roślin i pasz zmodyfikowanych do żywienia ludzi i zwierząt w Unii Europejskiej oraz rejestracją odmian roślin czy pasz zmodyfikowanych zajmuje się Europejski Urząd Bezpieczeństwa Żywności (EFSA). W skład EFSA wchodzi trzydziestu ekspertów, głównie pracowników naukowych z krajów Wspólnoty. W ostatnich latach EFSA przewodniczył prof. dr hab. Gerard Flachowski, specjalista z zakresu żywienia zwierząt, kierownik Działu Żywienia Zwierząt w Federalnym Instytucie Rolnictwa (FAL) w Braunschweigu w Niemczech. Na podstawie opinii EFSA Komisja Europejska wydaje zezwolenie na wprowadzanie do obrotu oraz na umieszczenie we Wspólnotowym Rejestrze genetycznie zmodyfikowanej żywności i pasz. Sposób postępowania i procedury obowiązujące w rejestracji roślin i produktów GMO w Unii Europejskiej opisano w raporcie [11]. Opinia EFSA poprzedzona jest konsultacjami ze wszystkimi krajami członkowskimi Unii Europejskiej. Ministerstwa Rolnictwa, a także Ministerstwa Ochrony Środowiska poszczególnych krajów członkowskich otrzymują szerokie dane dotyczące wyników badań naukowych dotyczących rośliny lub produktu paszowego zmodyfikowanego genetycznie. Dane te obejmują wpływ roślin lub pasz zmodyfikowanych genetycznie na produktywność i zdrowie zwierząt, zawierają wyniki badań kancerogennych, badań alergicznych i mutagennych. W przypadku klasycznych odmian roślin uprawnych wpisywanych do rejestru roślin uprawnych przez Centralny Ośrodek Odmian Roślin Uprawnych, tak szczegółowa ocena nie jest wymagana. Na tej podstawie dokonuje się rejestracji odmiany rośliny GMO lub materiału paszowego GMO, co oznacza dopuszczenie go do obrotu i stosowania na obszarze całej Unii Europejskiej. W Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej proces rejestracji nowych odmian roślin lub pasz GMO w Federalnym Departamencie Żywności (FDA) trwa średnio 15 miesięcy. W Unii Europejskiej proces rejestracji jest wydłużony i trwa przeciętnie około trzech lat co związane jest z bardzo szczegółową procedurą oceny rośliny lub paszy GMO. Każdy wniosek firm biotechnologicznych jest szczegółowo i dokładnie analizowany, a w przypadku zastrzeżeń pewne badania naukowe mogą być powtórzone na terenie Unii Europejskiej. Rejestracja produktu GMO w Unii Europejskiej jest początkiem monitoringu tego produktu. Czuwa nad tym Europejskie Centrum Wspólnych Badań (EJRC). Jakikolwiek informacje wskazujące na negatywne skutki produktu GMO

w uprawie lub żywieniu zwierząt, czy też ich negatywnego wpływu na ludzi lub środowisko mogą spowodować wstrzymanie rejestracji i zezwolenia na obrót.

Warunki obrotu i stosowania produktów GMO w żywieniu zwierząt regulują w Unii Europejskiej następujące akty prawne:

1. Rozporządzenie (WE) Nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy [19].
2. Rozporządzenie (WE) Nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczące możliwości śledzenia i etykietowania organizmów modyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniające dyrektywę 2001/18/WE [20].
3. Rozporządzenie (WE) Nr 1946/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 lipca 2003 r. w sprawie transgenicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych [21].
4. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 641/2003 z dnia 6 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonywania rozporządzenia (WE) Nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady odnoszącego się do wniosków o zatwierdzenie nowego typu żywności i paszy genetycznie zmodyfikowanej, powiadamiania o istniejących produktach, oraz przypadkowym lub technicznie nieuniknionym występowaniu materiału genetycznie zmodyfikowanego, który pomyślnie przeszedł ocenę ryzyka [22].

W dokumencie ramowym Rady Ministrów RP wskazuje się na konieczność „szczególnej przezorności” w opiniowaniu i dopuszczaniu roślin GMO do uprawy oraz spożycia w obawie o obecne i przyszłe ujemne skutki uprawy roślin GMO oraz podawania zwierzętom pasz zmodyfikowanych genetycznie. Określenie „szczególnej przezorności” stało się kamieniem węgielnym stanowiska Polski, które pozwala pomijać opinie merytoryczne, argumentując każdorazowy sprzeciw „szczególną przezornością”. Takie zalecenia płyną od Rządu RP do przedstawicieli Polski biorących udział w posiedzeniach Komisji Europejskiej.

Nie ulega wątpliwości, że stanowisko Polski odrzucające uprawę zarejestrowanych roślin GMO, a także pasz GMO dopuszczonych do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt jest sprzeczne z przyjętymi w Unii Europejskiej zapisami prawa i uderza ekonomicznie w rolnika. Liczne wyniki badań wykazały, że kukurydza zmodyfikowana, odporna na szkodnika omacnicę prosowiankę, daje wyższy plon ziarna przeciętnie o około $15 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$, a jakość ziarna w ocenie mikrobiologicznej jest znacznie lepsza i nie wykazuje obecności toksyn grzybowych. Wobec projektowanego zakazu stosowania zmodyfikowanej śruty sojowej w żywieniu zwierząt, nie ulega wątpliwości, że spowoduje to znaczący regres w produkcji zwierzęcej, w tym produkcji najtańszego mięsa drobiowego. Wobec stałego uporu Polski w sprawie roślin zmodyfikowanych genetycznie, Komisja Europejska poprosiła o przedstawienie dowodów szkodliwości tych roślin na środowisko, zwierzę czy też człowieka.

Brak takich dowodów spowodował inicjatywę i rozpoczęcie w kraju badań naukowych nad śrutą sojową i ziarnem kukurydzy zmodyfikowanymi genetycznie w żywieniu zwierząt. Abstrahując od przyszłych wyników badań, należy stwierdzić, że dopuszczenie roślin zmodyfikowanych do stosowania w żywieniu zwierząt w Unii Europejskiej poprzedzono zakończonymi 81 projektami badawczymi w tym zakresie, a ilość publikacji naukowych dotyczących wyłącznie roślin zmodyfikowanych wynosi ponad 1500 za ostatnie lata. Część tych badań omówiono w pracach przeglądowych w języku polskim [9, 10, 30, 31]. Znaczącą część badań wykonano również w Stanach Zjednoczonych A.P. [3, 8, 28, 29]. W latach 2001–2005 opublikowano 58 prac naukowych dotyczących bezpieczeństwa podawania zwierzętom pasz GMO. W żadnym z badań nie potwierdzono transferu transgenicznego DNA do genomu zwierząt. W żadnych badaniach nie stwierdzono obecności transgenicznego białka w mleku, mięsie i jajach. Bezpieczeństwo stosowania roślin zmodyfikowanych (GMO) w żywieniu zwierząt przedstawiono w szerokim opracowaniu monograficznym [1]. Nie stwierdzono ujemnego wpływu roślin i pasz zmodyfikowanych genetycznie na produktywność i zdrowie zwierząt. Nie stwierdzono również obecności białka transgenicznego w tkance mięsnej, mleku i jajach kur [9, 10, 13, 25, 26, 31]. Wstępne wyniki badań prowadzonych w Instytucie Zootechniki-PIB wskazują, że białko transgeniczne roślin zmodyfikowanych w całości rozkładane jest w przewodzie pokarmowym zwierząt poprzez działanie enzymów trawiennych i bakterii przewodu pokarmowego. W końcowych odcinkach przewodu pokarmowego zwierząt nie stwierdzano produktów GMO. Jeśli tak jest, wówczas obawy o przenikanie białka transgenicznego z odchodów zwierząt do gleby i wód gruntowych oraz możliwość ich transmisji na mikroorganizmy glebowe wydają się nieuzasadnione.

Soja GMO w żywieniu zwierząt – stan obecny

Polska, jak wszystkie kraje strefy umiarkowanej, w których ze względów klimatycznych uprawa soi nie jest możliwa (Kanada, kraje skandynawskie, Niemcy, Francja, Dania, Holandia, Belgia, Wielka Brytania, Włochy i Rosja) jest importerem pasz wysokobiałkowych, głównie śruty sojowej oraz producentem śruty i makuchu rzepakowego. Badania monitoringowe obecności pasz zmodyfikowanych, głównie śruty sojowej i produktów pochodnych w paszach krajowych, prowadzone w Instytucie Zootechniki-PIB, w Krajowym Laboratorium Pasz w Lublinie i w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym-PIB w Puławach w roku 2005 w ramach nadzoru paszowego wykazały, że dostępna na krajowym rynku śruta sojowa była w całości zmodyfikowana genetycznie. Tylko w jednej próbce na 68 zbadanych nie stwierdzono obecności GMO, co stanowi 1,5% zbadanych próbek. W przypadku 60 próbek na 68 zbadanych zawartość GMO była wyższa od 0,9% co stanowiło 88,2% wszystkich zbadanych próbek [12, 14, 15]. Poziom wyższy od 0,9% ($9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) zmodyfikowanego genetycznie białka przyjęto za poziom wskazujący, że mamy do czynienia

z materiałem paszowym zmodyfikowanym, natomiast w zakresie 0,1–0,9%, że jest to materiał paszowy zanieczyszczony materiałem paszowym GMO.

Import śruty sojowej, początkowo niezmodyfikowanej, od początku lat 70. XX w. był istotnym czynnikiem rozwoju sektora produkcji drobiu rzeźnego w Polsce i w wielu innych krajach europejskich, a także w Stanach Zjednoczonych A.P. Śruta sojowa jest podstawowym nośnikiem białka i aminokwasów w mieszankach paszowych dla drobiu, częściowo w mieszankach paszowych dla trzody chlewnej i krów mlecznych. Aktualny import śruty rzepakowej wynosi około 1860 tys. ton rocznie, co stanowi około 80% zapotrzebowania białka paszowego ogółem zużywanego przez przemysł paszowy w Polsce [24]. Import i zużycie śruty sojowej w Unii Europejskiej wynosi około 34 mln ton rocznie. Pozostałe 20% materiałów wysokobiałkowych zużywanych w Polsce stanowią makuchy i śruty rzepakowe i nasiona strączkowe.

Zużycie wysokobiałkowych surowców paszowych w produkcji pasz dla zwierząt w ostatnich latach w Polsce podano w tabeli 1.

Tabela 1. Zużycie wysokobiałkowych materiałów paszowych w produkcji pasz [tys. ton na rok]

Pasza wysokobiałkowa	2002/3	2003/4	2004/5	2005/6	2006/07
Śruty z nasion oleistych	1878	2004	2148	2429	2599
w tym					
śruta sojowa	1400	1438	1500	1852	1863
śruta rzepakowa	478	566	648	577	736
Nasiona strączkowe	135	179	204	196	167
Mączki zwierzęce	141	41	35	24	24

Źródło: dane wg GUS i szacunków własnych.

Z danych zamieszczonych w tabeli wynika, że zużycie śruty sojowej było ponad 2,5–3,0 razy wyższe niż śruty rzepakowej. Gwałtowny wzrost zużycia śrut wysokobiałkowych, sojowej i rzepakowej nastąpił w wyniku wprowadzonego od 2004 r. zakazu stosowania w żywieniu zwierząt mączek mięsnych i mięsno-kostnych. Pomimo wprowadzenia zakazu używania w produkcji mieszanek paszowych białka pochodzenia zwierzęcego, zużycie nasion roślin strączkowych utrzymywało się na zbliżonym i niskim poziomie. Można zadać pytanie, dlaczego głęboki deficyt białka do produkcji mieszanek paszowych, nie spowodował szybkiego wzrostu arealu uprawy i zbiorów roślin strączkowych. Dla specjalistów z zakresu żywienia zwierząt problem ten jest oczywisty. Śruta sojowa jest produktem poekstrakcyjnym pozyskiwania oleju sojowego z rozdrobnionych i wygniecionych ziaren soi. Wysoka konkurencyjność śruty sojowej w stosunku do innych materiałów białkowych, np. roślin strączkowych, jest związana z jej niższą ceną, w porównaniu do innych źródeł białka, ponieważ jest produktem powstającym w trakcie pozyskiwania oleju spożywczego. Ponadto białko w importowanej śrucie sojowej jest lepsze i tańsze niż inne źródła białka roślinnego. Podawanie śruty sojowej nie wiąże się z ujemnymi skutkami, występującymi w przypadku białka rzepakowego czy nasion roślin strączkowych. W efekcie tłoczenia

i ekstrakcji oleju, zawartość białka w śrucie zwiększa się z około 30–35% w ziarnie, do 42–46% w śrucie poekstrakcyjnej. Oprócz importu śruty sojowej do UE, importowane są całe nasiona soi głównie do portów w rejonie Rotterdamu (Holandia) i Niemiec, gdzie są przerabiane na olej i śrutę poekstrakcyjną sojową.

Głównymi producentami ziarna soi w świecie są Stany Zjednoczone A.P., Argentyna, Niemcy i Brazylia. Największym światowym eksporterem śruty sojowej jest Argentyna, z której Polska importuje 71% śruty sojowej, a pozostałą część z Holandii i Niemiec oraz z Brazylii. W roku 2006/2007 światowa produkcja nasion soi wynosiła 40,5 mln ton. Eksport śruty i ziarna z USA jest niewielki, a uprawa soi pokrywa tam wysokie zapotrzebowanie wewnętrzne związane z silnie rozwiniętym sektorem produkcji drobiu rzeźnego, kurcząt i indyków. Doskonale technologii uprawy soi w tych krajach powoduje, że 90% zasiewów soi w świecie to soja zmodyfikowana genetycznie odporna na glifosat, czynnik aktywny herbicydu Roundup Ready, powszechnie stosowany w walce z chwastami w uprawach soi. Obszar upraw genetycznie zmodyfikowanych genetycznie corocznie zwiększa się o około 11% i w 2005 r. wynosił 90 mln ha [25]. Areal soi tradycyjnej szybko maleje. Szacujemy, że w czasie 5–10 lat na półkuli zachodniej zaniknie wobec nieopłacalnej produkcji. Szacuje się, że uprawa soi zmodyfikowanej jest o około 30% tańsza, przy wyższym plonie ziarna, co daje lepszy efekt ekonomiczny o około 50%. Obecnie sporadycznie dostępna jest jeszcze śruta sojowa niezmodyfikowana, jakkolwiek jej cena jest wyższa o około 150–250 zł za tonę.

Szybki wzrost zapotrzebowania na śrutę sojową w naszym kraju wynika z dwóch czynników. Pierwszy to wzrost fermowej produkcji kurcząt i indyków rzeźnych w dużej skali. Drugi to zakaz stosowania białka pochodzenia zwierzęcego w żywieniu zwierząt obowiązujący od 1 stycznia 2004 r. [18, 23]. W latach poprzedzających wprowadzenia zakazu, wobec konieczności ograniczenia i profilaktyki encefalopatii mózgu (choroby szalonych krów), krajowa produkcja mączek mięsnych, mączek z krwi i mączek mięsno-kostnych wynosiła około 240 tys. ton, natomiast import tych pasz głównie z Danii wynosił około 300 tys. ton rocznie [24]. Tak znaczny ubytek białka paszowego wysokiej jakości w żywieniu drobiu i świń, spowodował gwałtowny wzrost zapotrzebowania na białko pochodzenia roślinnego. Spowodowało to z jednej strony szybki wzrost cen śruty sojowej, z drugiej zaś wzrost areалу uprawy soi w Argentynie i Brazylii i powolny spadek jej cen na rynkach światowych. Zdziwiająca jest, że proces ten nie spowodował wzrostu zbiorów krajowych roślin strączkowych, których areal uprawy systematycznie malał. Nie zwiększał się również areal uprawy rzepaku i produkcja pasz rzepakowych w Polsce w tym czasie. Zwiększenie zasiewów rzepaku przyspieszyło ogłoszenie programu produkcji biopaliw i ich stosowania do napędu silników, obecnie zahamowane poprzez niskie ceny ropy naftowej na rynkach światowych.

Możliwości substytucji białka sojowego

Śledząc procedowanie Ustawy o Paszach, szczególnie wprowadzenie zakazu stosowania pasz zmodyfikowanych genetycznie (GMO) w żywieniu zwierząt, w tym dyskusje zwolenników i przeciwników zapisu ustawy można zauważyć, że argumenty merytoryczne przemawiające za utrzymaniem i zezwoleniem na stosowanie pasz białkowych zmodyfikowanych genetycznie w żywieniu zwierząt nie zostały uwzględnione. Pominięto opinie Komitetów Naukowych PAN zajmujących się biotechnologią oraz opinie specjalistów z zakresu uprawy roślin pastewnych i żywienia zwierząt. Pominięto wreszcie opinie producentów rolnych, podpierając się opiniami nieświadomych rolników. Nie podjęto próby oszacowania skutków wprowadzenia zapisu ustawy i zakazu wykorzystania pasz zmodyfikowanych na cele paszowe. Nie znane jest nam żadne opracowanie przeciwników pasz GMO, w tym Rady Ministrów które wskazywałoby na realne możliwości substytucji białka soi innymi materiałami wysokobiałkowymi. Wysunięto koncepcję zrównoważenia importu białka soi zmodyfikowanej uprawą roślin strączkowych i produkcją białka z rzepaku. Zagorzali przeciwnicy soi GMO nie zapoznali się z wynikami Programu Rządowego PR-4 realizowanego w Polsce dużym nakładem środków finansowych w latach 1970–1979. Badania te jednoznacznie wykazały, że rośliny strączkowe i pasze rzepakowe w Polsce, ale także w innych krajach np. we Francji, nie są w stanie pokryć zapotrzebowania zwierząt na białko paszowe w naszej strefie klimatycznej. Podaż pasz białkowych pochodzących z rzepaku zależy natomiast od areалу jego uprawy, a ten od opłacalności produkcji biopaliw. Po 2–3 latach wysokich cen ropy i oleju rzepakowego drastyczny spadek cen ropy w 2008 r. spowodował brak zainteresowania wykorzystaniem etanolu i oleju rzepakowego do produkcji biopaliw. Wydaje się, że środki zainwestowane w trzy duże wytwórnie bioetanolu w Polsce są tymczasem zamrożone. Podobna sytuacja jest w USA, gdzie produkcja bioetanolu realizowana jest przez około 120 dużych wytwórni przerabiających ziarno kukurydzy, głównie zmodyfikowanej, na spirytus. W USA istnieje duża nadwyżka ziarna kukurydzy ponad potrzeby paszowe kraju.

Możliwości substytucji śrutu sojowej innymi materiałami wysokobiałkowymi w naszym kraju są mocno ograniczone czynnikami uprawowymi i czynnikami żywieniowymi. Możliwości zwiększenia areалу uprawy grochu, bobiku, peluski i łubinu słodkiego w Polsce na cele paszowe od wielu lat wykazują tendencję spadkową, mimo możliwości zbycia tych nasion w mieszalniach pasz. Koszty wytwarzania nasion tych roślin są wysokie, co wiąże się z niskimi plonami i koniecznością ich dosuszania. Ponadto, w odróżnieniu od ziarna roślin oleistych, np. soi, nie dają spożywczego oleju, którego wartość w znacznej części pokrywa koszty uprawy soi. Nasiona roślin strączkowych zawierają substancje przeciwodżywcze, jak czynnik przeciwtrypsynowy czy tanina, mają niższą zawartość aminokwasów egzogennych i o niższej strawności jelitowej niż śruta sojowa. W efekcie koszt białka w nasionach roślin strączkowych i paszach rzepakowych jest od 20–40% wyższy niż w śrucie

sojowej. Uprawa roślin strączkowych, w tym grochu, bobiku i łubinów 35 lat temu zajmowała 280 tys. ha, głównie w gospodarstwach państwowych przymuszanych do tej uprawy, a obecnie wynosi 110 tys. ha, w tym 80 tys. ha roślin strączkowych na pasze [17]. W ostatnich 30 latach nastąpił niewielki postęp w hodowli tych roślin. Świadczy o tym ilość nowych odmian rejestrowanych przez Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych. Zwolennicy zwiększenia areалу uprawy roślin strączkowych opłacalność uprawy tych roślin upatrują w wyższych dopłatach państwa, uważając że obecne są zbyt niskie. Należy przypomnieć, że polityka rolna Unii Europejskiej zmierza w odwrotnym kierunku, stopniowego zmniejszania dopłat i rezygnacji z kwotowania produkcji rolnej.

Tabela 2. Zawartość białka i strawnych aminokwasów w paszach wysokobiałkowych

Pasa wysokobiałkowa	Składnik pokarmowy			
	białko ogólne [g · kg ⁻¹ s.m.]	włókno surowe [g · kg ⁻¹ s.m.]	metionina + cystyna	lizyna
Śruta sojowa*	420	65	11,2	23,3
Śruta rzepakowa**	381	112	15,4	16,1
Śruta arachidowa***	425	106	9,0	13,0
Groch*	209	60	4,9	13,7
Łubin biały***	336	89	—	—
Mączka rybna**	600	—	19,3	37,4
Wywar gorzelniany DDGS**	300	85	7,8	4,8

Poziom substancji przeciwożywczych: * niski, ** umiarkowanie wysoki, *** bardzo wysoki.

W tabeli 2 podano zawartość białka i strawnych aminokwasów w różnych paszach wysokobiałkowych.

Łączna produkcja mieszanek paszowych w Polsce wynosi około 7,1 mln. ton. Produkcja 4,3 mln. ton przypada na mieszanki paszowe dla drobiu, co stanowi 68% ogólnej ich ilości, a 1,9 mln. ton na mieszanki paszowe dla świń, co stanowi 19%. Bardzo mała ilość mieszanek paszowych przypada na bydło i krowy mleczne, co jest istotnym czynnikiem stosunkowo niskiej przeciętnej wydajności krów w Polsce.

W badaniach naukowych określono maksymalne dopuszczalne ilości wysokobiałkowych materiałów paszowych w mieszankach paszowych dla zwierząt monogastrycznych, drobiu i świń, w tym nasion roślin strączkowych i pasz rzepakowych. Pasze białkowe poza śrutą sojową mogą stanowić od 5% do 15% mieszanek, przy nieograniczonym poziomie w mieszankach śruty sojowej. Badania naukowe wykonane w Instytucie Zootechniki-PIB i w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN wskazują, że pewne możliwości substytucji soi istnieją w paszach rzepakowych, w tym w śrucie poekstrakcyjnej i makuchu. Możliwości zastąpienia śruty sojowej, zwłaszcza w żywieniu drobiu są bardzo ograniczone. W mieszankach dla kurcząt rzeźnych osiągają co najwyżej 9–10% w drugim okresie wzrostu (22–46 dni), a w mieszankach dla kur niosek 3–4% [27]. Szacuje się, że możliwości substytucji

śruty sojowej w żywieniu świń paszami rzepakowymi wynoszą około 144 tys. ton, a w żywieniu drobiu około 300 tys. ton. Możliwości substytucji śruty sojowej nasionami roślin strączkowych wynoszą nie więcej jak 100–150 tys. ton. Tak więc z rynku paszowego można wyeliminować około 700 tys. ton śruty sojowej, tj. 35–40% jej importu, pod warunkiem, że będą ekwiwalentne ilości białka w postaci substytutów białkowych, w tym pasz rzepakowych i nasion roślin strączkowych, czy suszonego wywaru gorzelnianego (DDGS) pozyskiwanego ze zbóż nie zmodyfikowanych genetycznie.

Wykorzystanie pasz rzepakowych w żywieniu krów mlecznych możliwe jest przy ich wydajności nie przekraczającej 6–7 tys. kg mleka na laktację, przy dobowej maksymalnej wydajności 24 kg mleka na dobę, na co wskazują wyniki badań [5]. Zastosowanie pasz rzepakowych w żywieniu krów o wyższej mleczności nie wystarcza na pokrycie zapotrzebowania aminokwasowego zwierząt, a tym samym na syntezę składników mleka.

Rozpatrywać można również wykorzystanie śruty arachidowej i słonecznikowej, czy mączki rybnej w produkcji mieszanek paszowych, jakkolwiek wykorzystanie tych materiałów uwarunkowane jest dostępnością na rynku światowym, zagrożeniem występowania aflatoksyny B₁ w śrucie arachidowej, a także nadmiernym poziomem włókna surowego i niższym poziomem aminokwasów w śrucie słonecznikowej, co ogranicza jej wykorzystanie w żywieniu drobiu.

Tak więc za wykorzystaniem śruty sojowej zmodyfikowanej w żywieniu zwierząt przemawia:

- wysoka zawartość białka ogólnego, co najmniej 42%,
- wysoka zawartość i strawność metioniny i lizyny,
- niska zawartość substancji przeciwdrożdżyczych,
- możliwość zakupu dla wytwórni mieszanek paszowych dużych partii jednorodnej paszy,
- konkurencyjna i niższa cena białka oraz aminokwasów,
- brak granicznych udziałów w mieszance paszowej.

Skutki zakazu GMO dla przemysłu paszowego i produkcji zwierzęcej

Brak jest opracowań naukowych na temat skutków zakazu stosowania pasz zmodyfikowanych w żywieniu zwierząt. Przeważają referaty i artykuły popularno-naukowe [4]. Skutki zakazu pasz GMO w żywieniu zwierząt opiera się na szacunkach. Nie ulega wątpliwości, że zakaz wykorzystania soi zmodyfikowanej w żywieniu zwierząt spowoduje niebezpieczne skutki dla przemysłu paszowego i firm wprowadzających je na rynek oraz dla rolników hodowców zwierząt, szczególnie drobiu. Brak wartościowych substytutów białka sojowego nie tylko w Polsce,

ale w naszej strefie klimatycznej, zmusi producentów mieszanek paszowych, w tym koncentratów białkowych do stosowania mniej wartościowych materiałów paszowych, co doprowadzi do obniżenia wartości pokarmowej mieszanek. Obniżenie jakości mieszanek spowoduje ujemne skutki w chowie i żywieniu zwierząt, zatem wywoła negatywne skutki dla gospodarstw i ferm zwierząt, szczególnie drobiu i świń. Substytucja białka soi w żywieniu zwierząt rzeźnych obniży końcową masę zwierząt lub wydłuży okres tuczu. Skutkiem tego niższa będzie masa tuszy. Tusze zwierząt będą słabiej umięśnione i bardziej otłuszczone.

Zakaz uderza w sektor uboju i przetwórstwa zwierząt rzeźnych. Obniży się masa wyrębów cennych, w tym połówicy, szynki, mięśni piersiowych i mięśni uda. Zwiększy się zużycie pasz na przyrost masy ciała. W efekcie obniży się efektywność produkcji zwierzęcej i efektywność przerobu zwierząt rzeźnych na wyroby kulinarne. Spadek produkcji zwierzęcej powodowany zaniechaniem stosowania soi w mieszankach paszowych wynieść może 25–30%, w tym produkcji drobiarskiej o około 40%. Oznacza to zmniejszenie produkcji drobiarskiej z około 1 mln ton ubijanych ptaków do 600 tys. ton. Koszty tego poniosą po części producenci mieszanek paszowych, lecz głównie hodowcy zwierząt. Nie można wykluczyć, że 30–40% gospodarstw zajmujących się chowem drobiu i trzody chlewnej, szczególnie gospodarstw prowadzących produkcję w mniejszej skali doprowadzona zostanie do upadłości. Trudności będą miały gospodarstwa, które zaciągnęły wieloletnie kredyty na rozwój produkcji, budowę nowych ferm drobiu, które postawiły na zmechanizowanie i unowocześnienie cyklu produkcyjnego.

W ostatnich 15 latach ilość produkowanego mięsa drobiowego podwajała się co 4–5 lat. Spadek produkcji żywca drobiowego spowoduje katastrofalne skutki dla rynku mięsa i przetworów mięsnych, a w konsekwencji dla wyżywienia społeczeństwa. Zwolennicy zakazu stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt nie dostrzegają jakichkolwiek ujemnych skutków decyzji, którą wprowadzili do zapisu Ustawy o Paszach w 2006 r. Budzi to głęboki niepokój rolników i środowiska naukowego związanego z rolnictwem, bowiem może zagrażać wyżywieniu społeczeństwa.

Zwiększający się import śruty sojowej w latach dziewięćdziesiątych XX w. spowodował szybki wzrost produkcji drobiu rzeźnego i jaj w Polsce. Spożycie drobiu wzrosło z około 8–10 kg w latach siedemdziesiątych do 20–23 kg na osobę obecnie, co odpowiada spożyciu mięsa drobiowego w krajach „starej” Unii Europejskiej. Przyczyną tego zjawiska była zmiana nawyków żywieniowych, wymuszona trybem pracy rodaków oraz relatywnie niską ceną mięsa drobiowego. Mięso drobiowe można stosunkowo szybko przyrządzać. Na stoiskach i ladach mięsnych pojawiło się wiele nowych produktów zawierających mięso drobiowe. Porcjowanie tuszek jest działaniem rutynowym zakładów uboju drobiu. Istotnym czynnikiem preferencji konsumenckich jest relatywnie niska cena mięsa drobiowego i możliwość wyboru poszczególnych części tuszki dla osób o różnej zasobności portfela. Wzrost spożycia mięsa drobiowego ma określone skutki żywieniowe i zdrowotne. Mięso drobiowe, po

mięsie króliczym i jagnięcym, uznawane jest za najbardziej wartościowe w diecie człowieka, przy stosunkowo niskiej zawartości tłuszczu i wysokiej zawartości kwasów tłuszczowych nienasyconych, powodowanej stosowaniem śruty sojowej i ziarna kukurydzy w dietach ptaków.

Wycofanie śruty sojowej GMO z mieszanek paszowych dla kur nieśnych ograniczy skalę produkcji jaj. Możliwości substytucji śruty sojowej paszami rzepakowymi u kur niosek są znikome i wynoszą około 3–4% diety. W przeciwnym wypadku do jaj przenosi się substancja o przykrym zapachu „ryby”, co dyskwalifikuje jakość konsumpcyjną jaj [27].

Śruta sojowa jest również ważną paszą w żywieniu świń, w tym tuczników. Szacujemy, że w żywieniu świń zużywa się około 600 tys. ton śruty sojowej, zarówno w mieszankach paszowych jak w mieszankach uzupełniających (koncentratach białkowych). Możliwości substytucji soi w mieszankach dla świń są większe niż w mieszankach dla drobiu, głównie w dietach dla tuczników w drugiej połowie tuczu. Pasze rzepakowe muszą być jednak uzupełnione śrutą grochową i dodatkiem syntetycznych aminokwasów. Tak więc możliwości substytucji soi u świń zależą od podaży pasz rzepakowych i nasion grochu, a także cen aminokwasów syntetycznych [16].

Argumenty przeciwników pasz GMO, że niedobór mięsa na rynku można wyrównać importem wskazują na zupełną nieznaną zagadnienia. Po pierwsze rozumowanie takie nie bierze pod uwagę losu producentów żywca drobiowego i jaj w kraju, którzy z braku śruty sojowej i perturbacji na rynku paszowym poniosą duże straty lub zaprzestaną produkcji. Po drugie wszystkie kraje ościenne Unii Europejskiej, a także Białoruś, Rosja i Ukraina powszechnie stosują w żywieniu zwierząt pasze zmodyfikowane genetycznie, w tym śrutę sojową GMO. Wszystkie kraje Unii Europejskiej pasze GMO, w tym śrutę sojową, dopuściły do żywienia zwierząt. Wobec braku białka transgenicznego w tkance mięsnej, mleku i jajach nie można wykazać, czy określone produkty pochodzenia zwierzęcego z importu pochodzą od zwierząt żywionych paszami GMO, czy paszami wolnymi od GMO. Nie ulega wątpliwości, że wyłączenie krajowej produkcji drobiu rzeźnego i jaj, otworzy intratny kierunek importu mięsa drobiowego, bez pewności od jakich ptaków ono pochodzi.

Ekonomiczne i społeczne skutki zakazu stosowania pasz GMO

Szacujemy, że zakaz stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt spowoduje kilka niekorzystnych dla sektora produkcji zwierzęcej zjawisk. Pierwsze to spadek produkcji mieszanek paszowych, a w efekcie obniżenie wolumenu produkcji zwierząt rzeźnych. Produkcja mieszanek paszowych w Polsce w początku lat 90. XX w. po rozwiązaniu gospodarstw państwowych zmalała z około 9 mln. ton do 4,5 mln. ton. Od 1995 r. powoli i systematycznie zwiększała się do 7,3 mln. ton w 2007 r. Jakość

mieszanek paszowych, wobec dostępu do wielu wcześniej niedostępnych materiałów paszowych wyraźnie poprawiła się. Sprywatyzowany przemysł paszowy zainwestował znaczne środki finansowe w rekonstrukcję wytwórni mieszanek paszowych. W innych przypadkach zainwestował w nowoczesne wytwórnie mieszanek paszowych i prefiksów, wybudowanych w oparciu o technologie zachodnie. Firmy paszowe rozbudowały sieci dostawców mieszanek paszowych i doradców żywieniowych. Do dużych odbiorców pasz, producentów drobiu lub świń, mieszanki paszowe dostarczane są luzem wozami paszowymi na zamówienie telefoniczne lub elektroniczne. Rozpoczęto produkcję mieszanek paszowych leczniczych, zawierających premiksi weterynaryjne z określonymi lekami. Szacujemy, że zakaz stosowania śrutu sojowej GMO może zahamować rozwój sektora paszowego, a nawet spowodować spadek produkcji mieszanek paszowych o około 20–30%. Upadną głównie małe lub średnie wytwórnie pasz, nie mające zaplecza logistycznego w zakresie pozyskiwania nowych źródeł białka paszowego.

Po drugie ulegnie obniżeniu jakość wytwarzanych mieszanek paszowych. Wszystkie dostępne substytuty śrutu sojowej, np. śruta słonecznikowa czy suszony wywar gorzelniany zawierają nadmierną ilość włókna surowego co utrudni optymalizowanie składu receptur mieszanek paszowych, a w efekcie obniży strawność i wartość energetyczną mieszanek paszowych. Pasze rzepakowe zawierają glukozynolany i trudno przyswajalne włókno paszowe. Niedobór wartościowego białka, a tym samym aminokwasów zmusi do stosowania ponadnormatywnych ilości aminokwasów syntetycznych, co zwiększy cenę mieszanek paszowych. Istnieją możliwości wykorzystania w mieszankach paszowych mączki rybnej, bogatej w wartościowe białko, jakkolwiek jej stosowanie ma szereg istotnych ograniczeń, w tym technicznych. Mączkę rybną mogą stosować wyłącznie duże wytwórnie mieszanek paszowych posiadające co najmniej dwie linie technologiczne, bowiem takie są wymogi prawa paszowego. Szacujemy, że niższa jakość mieszanek paszowych może obniżyć efektywność produkcji zwierzęcej o dalsze 10–20%. W rezultacie wzrosną koszty produkcji zwierzęcej, przy niższej efektywności przetwarzania pasz na produkty pochodzenia zwierzęcego.

Według analizy opublikowanej w 2007 r. przez Komisję Europejską [7], w „najgorszym scenariuszu” zakładającym wstrzymanie importu soi i śrutu sojowej, produkcja wieprzowiny w Europie spadnie o 34,7%, a produkcja drobiu o 43,9%.

Skutki społeczne zakazu stosowania pasz zmodyfikowanych (GMO) w żywieniu zwierząt w Polsce polegają głównie na osłabieniu sektora produkcji zwierzęcej ze względu na wzrost cen mieszanek paszowych, obniżenie się opłacalności produkcji i obniżony popyt na produkty pochodzenia zwierzęcego wywołany wzrostem ich cen. Szacujemy, że ceny mięsa i produktów pochodzenia zwierzęcego wzrosłyby o dalsze 30–40%, jaja i mleko oraz produkty mleczne o 20–30%. Nasze szacunki zbliżone są do ocen Komisji Europejskiej. Na wroście cen nie zyskaliby rolnicy, wobec wzrostu cen mieszanek paszowych i surowców do ich wytwarzania. Tak gwałtowna zmiana cen

podstawowych artykułów żywnościowych wywoła wysoki efekt inflacyjny, a ponadto niezadowolenie zarówno rolników producentów drobiu rzeźnego i tuczników jak i konsumentów żywności pochodzenia zwierzęcego.

Rodzą się dalsze pytania, co robić z tysiącami producentów mięsa drobiowego, jaj i mięsa wieprzowego, którzy zainwestowali w zaplecze do tej produkcji, dostosowali je do wymogów Unii Europejskiej, a obecnie stoją na krawędzi upadłości. Według raportu „The Global GM Market” [6], polityka unikania żywności genetycznie zmodyfikowanej jest i będzie coraz bardziej kosztowna dla producentów i konsumentów żywności. Raport stwierdza, że najwięksi eksporterzy soi, Argentyna i Brazylia, ograniczają produkcję soi tradycyjnej i od 2005 r. podwoiły areał uprawy soi zmodyfikowanej z 5,0 do 9,5 mln ha. Przewiduje się, że w ciągu najbliższych 12 miesięcy cena śruty sojowej zmodyfikowanej w stosunku do śruty tradycyjnej obniży się o około 25%. Zakupy soi tradycyjnej mogą oznaczać wzrost cen mieszanek paszowych o 10–15%. Znaczący w 2008 r. był wzrost cen środków do produkcji rolnej, np. nawozów i środków ochrony roślin. Czynnikiem wzrostu cen zbóż był również zwiększony popyt na nie wywołany programem produkcji bioetanolu. Zmniejsza się areał uprawy zbóż, kosztem zwiększania zasiewów rzepaku. Zjawiska te i tak wywołują mocną presję cenową, wzrost kosztów wytwarzania mieszanek paszowych, przy niskiej opłacalności tej produkcji.

Podsumowanie

Postęp w rolnictwie opierał się na wyszukiwaniu i wyborze do dalszego kojarzenia spontanicznie pojawiających się mutacji, które rolnik uznał za cenne. W XX w. nauczono się w laboratoriach wywoływać mutacje w sposób sztuczny, co wydatnie przyspieszyło postęp hodowlany oraz pozwoliło na otrzymanie tysięcy nowych, doskonalszych odmian roślin, dających wyższe plony. Modyfikacje genetyczne można uznać za rodzaj mutacji powstających w sposób zamierzony, poprzez ingerencję człowieka w genom rośliny. Stało się to w ostatnich 30. latach i daje to szansę nie tylko na zwiększenie plonów, uodpornienie na chwasty, szkodniki i suszę, ale również poprawę jakości plonu.

Tego kierunku badań naukowych nie powstrzymają żadne decyzje polityczne. Jeśliby się takie pojawiły, oznaczałyby odsunięcie środowisk naukowych na margines postępu w nauce, rolnictwo zaś kierowałyby na tory droższej, mniej efektywnej i nie konkurencyjnej produkcji.

Dotychczas nie stwierdzono ujemnego wpływu uprawy roślin zmodyfikowanych genetycznie i ich stosowania w żywieniu zwierząt na jakość żywności, zdrowie zwierząt i ludzi oraz na środowisko naturalne, obawy sceptyków zaś są słabo umotywowane.

Nie przesądzamy losów zmodyfikowanych genetycznie (GMO) roślin i produktów paszowych w kraju, bo nie taka jest nasza rola. Chcieliśmy czytelnikom

uświadomić, jakie mogą być skutki wprowadzenia zakazu stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt, jak ograniczone są możliwości substytucji zmodyfikowanej śruty sojowej, a także uświadomić, że przystąpienie Polski do Unii Europejskiej wiązało się z przyjęciem zobowiązania przestrzegania prawa unijnego leżącego ponad ustawodawstwem krajowym. Prawo to bowiem zabrania zakazywania uprawy i stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt, wymaga natomiast dokładnego oznakowania produktów spożywczych, a tym samym dopuszcza prawo wyboru obywateli do decydowania co włożyć do koszyka konsumenckiego.

Literatura

- [1] Beaver D., Kemp C.F. 2000. Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of scientific and regulatory procedures. *Nutrition Abstracts* 70: 175–182.
- [2] Borowski A. 2008. Zmiany i propozycje zmian legislacji w zakresie pasz. *Pasze Przemysłowe* 8/9: 21–26.
- [3] Brake J., Faust M.A., Stein J. 2003. Evaluation of transgenic event Bt11 hybrid corn in broiler chickens. *Poultry Sci.* 82: 551–559.
- [4] Brzóska F., Korol W., Koreleski J. 2006. Skutki prawne, organizacyjne, produkcyjne i ekonomiczne zakazu stosowania materiałów paszowych GMO w Polsce. *Pasze Przemysłowe* 5/6: 2–5.
- [5] Brzóska F. 2008. Milk production and composition as influenced by soybean meal, rapeseed meal or rapeseed cake in concentrates for dairy cows. *Ann. Anim. Sci.* 8(2): 133–143.
- [6] Craddock N., Kniel B. 2005. The Global GM Market, Implications for the European Food Chain, Brookes West and Neville Craddock Associates. Agricultural Biotechnology Europe: [«http://www.pgeconomics.co.uk/GM_food_avoidance_polish.htm»](http://www.pgeconomics.co.uk/GM_food_avoidance_polish.htm).
- [7] Dalton M. 2008. Unijne normy blokują import pasz do Europy. *Pasze Przemysłowe* 8/9: 28–30.
- [8] Kan C.A., Hartnell G.F. 2004. Evaluation of broiler performance when fed Roundup-Ready wheat (Event MON 71800), control and commercial wheat varieties. *Poultry Sci.* 83: 1325–1334.
- [9] Kosieradzka I. 2002. Możliwości wykorzystania transgenicznych roślin uprawnych w żywieniu zwierząt. *Wiś Jutra* 7(48): 6–7.
- [10] Kosieradzka I. 2002. Rośliny genetycznie modyfikowane (GM) w żywieniu bydła. *Biul. Inf. IŻ*, r. XL, 2: 217–248.
- [11] König A., Klemer G., Hammer W., Knudsen I., Kniper H. 2004. Genetically modified crops in the UE; food safety assessment, regulation, and public concerns. Institute of Food Safety, Wageningen, The Netherlands: 1–99.
- [12] Kwiatek K., Sieradzki Z. Wykrywanie i oznaczanie genetycznie zmodyfikowanej soi i kukurydzy w ramach urzędowej kontroli pasz. *Pasze Przemysłowe* 1: 14–15.
- [13] Kwiatek K. 2008. Stosowanie roślin genetycznie zmodyfikowanych (GMO) w produkcji pasz i żywieniu świń oraz innych zwierząt gospodarskich. *Med. Wet.*: 572–575.
- [14] Markowski J., Korol W. 2006. Informacje o wynikach badań GMO wykrywanych w KLP Szczecin w ramach Krajowego Planu Kontroli Pasz 2005. *Pasze Przemysłowe* 1: 25–30.
- [15] Piskurewicz D., Markowski J., Korol W. 2005. Informacja o wynikach badań monitoringowych środków żywienia zwierząt w zakresie wykrywania i oznaczania zawartości GMO w roku 2005. *Pasze Przemysłowe* 4: 24–25.
- [16] Raj S. 1992. Zastosowanie śruty, wytloku i nasion rzepaku „00” w żywieniu świń. W: *Rzepak w żywieniu zwierząt*, Omnitech Press, Warszawa: 18–23.
- [17] Rocznik statystyczny GUS. Warszawa 2007.
- [18] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 999/2001 z dnia 2001 r. ustanawiające przepisy w zakresie zapobiegania, zwalczania, likwidacji pewnych zakaźnych encefalopatii gąbczastych.
- [19] Rozporządzenie (WE) Nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy (Dz. Urz. WE L 268 z 18.10.2003, str.1).
- [20] Rozporządzenie (WE) Nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczące możliwości śledzenia i etykietowania organizmów modyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia

- żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniające dyrektywę 2001/18/WE (Dz. Urz. WE L 268 z 18.10.2003, str. 24).
- [21] Rozporządzenie (WE) Nr 1946/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 lipca 2003 r. w sprawie transgenicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych (Dz. Urz. WE L 287 z 5.11.2003, str.1).
- [22] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 641/2003 z dnia 6 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonywania rozporządzenia (WE) Nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady odnoszącego się do wniosków o zatwierdzenie nowego typu żywności i paszy genetycznie zmodyfikowanej, powiadamiania o istniejących produktach, oraz przypadkowym lub technicznie nieuniknionym występowaniu materiału genetycznie zmodyfikowanego, który pomyślnie przeszedł ocenę ryzyka (Dz. Urz. WE L 102 z 7.4.2004, str.14).
- [23] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1292/2005 z dnia 5 sierpnia 2005 r. zmieniające załącznik IV do rozporządzenia (WE) nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie żywienia zwierząt.
- [24] Rynek Pasz. 2006. Stan i perspektywy. IERiGŻ, Warszawa.
- [25] Sieradzki Z., Kwiatek K., Walczak M. 2006. Czy stać nas na odrzucenie GMO w żywieniu zwierząt i ludzi? *Pasze Przemysłowe* 2/3: 10–11.
- [26] Sieradzki Z., Kwiatek K. 2006. Wpływ stosowania w żywieniu zwierząt genetycznie zmodyfikowanych pasz na zdrowie zwierząt i jakość żywności pochodzenia zwierzęcego. *Pasze Przemysłowe* 1: 17–18.
- [27] Smulikowska S. 1992. Zastosowanie śruty, wytloku i nasion rzepaku „00” w żywieniu drobiu. W: Rzepak w żywieniu zwierząt, Omnitech Press, Warszawa: 12–17.
- [28] Taylor M.L., Hyun Y., Hartnell G.F., Riordan S.G., Nemeth M.A., Karunanandaa K., George B., Astwood J.D. 2003. Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from yieldgard rootworm (MON863), yieldgard plus (MON810xMON863), nontransgenic control, or commercial reference corn hybrids. *Poultry Sci.* 82: 1948–1956.
- [29] Taylor M.L., Stanosiewski E.P., Riordan S.G., Nemeth M.A., George B., Hartnell G.F. 2004. Comparison of broiler performance when fed diets containing Roundup Ready (Event RT73), nontransgenic control, or commercial canola meal. *Poultry Sci.* 83: 456–461.
- [30] Zduńczyk Z. (2001). In vivo experiments on the safety evaluation of genetically modified components of feeds and foods. *J. Anim. Feed Sci.* 10, Supl. 1: 195–211.
- [31] Zduńczyk Z. 2001. Doświadczenia europejskie z zastosowaniem transgenicznych surowców paszowych w żywieniu zwierząt. *Polskie Drobniarstwo* 12: 15–17.

Consequences of a ban on GM feeds in animal nutrition

Key words: GMO feeds, ban on GM feeds, consequences for feed balance, protein feeds for substitution GM, social and economical consequences

Summary

Paper discussed the EU legal regulations concerning the use of genetically modified (GM) feeds in animal nutrition as well as the primacy of Community law over national law and possible threats resulting from declaring a country or region free of GM plants and feeds.

The current use of GM foods in animal nutrition in Poland amounts to 1.73 million tones of extracted soybean meal, of which over 90% accounts for GM soybean.

The substitution of soy protein with other high-protein feed materials was discussed. It was found that about 25–30% of imported soybean meal can be replaced, mainly in the feeding of fattening and slaughter pigs and to a lesser extent in the feeding of broiler chickens, for which rapeseed meal and rapeseed cake can be used.

The replacement of soybean meal with legume seeds, including peas and lupins, is not possible because these plants attain higher market price as compared to soybean meal, and are characterized by lower content of protein and digestible amino acids and the presence of antinutritional factors.

If a ban on soybean meal feeding is imposed, the compound feed industry and the poultry meat and egg production sector in Poland may suffer a collapse. The ban will increase the production cost of compound feeds while adversely affecting their quality and nutritive value. As a result, part of the feed and broiler chicken production sectors may go bankrupt. It is estimated that meat and egg prices would increase by 25–30% and the feed and poultry production sectors in Poland would become less competitive relative to the other EU countries.

Wykorzystanie chitozanu w uprawie, przechowalnictwie i ochronie roślin ogrodniczych

*Monika Placek, Agnieszka Dobrowolska, Krzysztof Wraga,
Agnieszka Zawadzińska, Piotr Żurawik*

*Katedra Roślin Ozdobnych, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny,
ul. Janosika 8, 71-424 Szczecin
Tel. (0-91) 449 6153; 449 6156*

Słowa kluczowe: chitozan, uprawa, przechowalnictwo, ochrona, rośliny ogrodnicze

Wstęp

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie związkami pochodzenia naturalnego, które mogą znaleźć zastosowanie jako stymulatory wzrostu i rozwoju roślin oraz środki ochrony w ogrodnictwie. Jednym z takich związków jest chitozan – pochodna chityny o dużej aktywności biologicznej, który znalazł już zastosowanie w medycynie, biotechnologii, przemyśle spożywczym. W piśmiennictwie istnieje wiele przykładów wykorzystania chitozanu w ogrodnictwie głównie jako czynnika wywołującego reakcje odporności roślin na niektóre patogeny. Skuteczność takich stymulatorów odporności zależy od wielu czynników: sposobu stosowania, warunków uprawy roślin, gatunku. Coraz częściej podejmowane są także próby zastosowania chitozanu jako związku stymulującego wzrost i rozwój roślin.

Pochodzenie i właściwości chitozanu

Jednym z najczęściej występujących w przyrodzie naturalnych polisacharydów jest chityna. Pozyskuje się ją z pancerzy skorupiaków, głównie krewetek, krabów, raków, krylu, ale występuje ona także w ścianach komórkowych niektórych grzybów i bakterii [3, 11, 12, 26, 34]. Chitozan jest pochodną chityny, bezpiecznym dla środowiska polimerem β 1,4-D-glukozaminy [2, 26, 29, 39]. Odnacza się zdolnością chelatowania i wiązania jonów metali, ulega biodegradacji [1, 2, 33].

Na skalę przemysłową chitozan otrzymuje się przez deacetylację chityny w temperaturze powyżej 100°C, przy użyciu stężonego roztworu wodorotlenku sodu,

natomiast alternatywną metodą otrzymywania chitozanu jest enzymatyczna deacetylacja chityny [13, 15].

Chitozan najczęściej stosuje się w postaci roztworu wodnego, zawiesiny oraz proszku. Wodny roztwór chitozanu działa na rośliny stosunkowo szybko, przy niższych dawkach. Rośliny są jednak zwykle bardziej tolerancyjne na wyższe dawki chitozanu mikrokryształicznego oraz sproszkowanego [25].

Aktywność biologiczna chitozanu

Mimo że chitozan nie występuje w tkankach roślin wyższych, indukuje reakcje odpornościowe w roślinach [6, 9, 25]. Wykazano, że chitozan ma zdolność mobilizowania roślin do szybszych reakcji odpornościowych na atak patogena, można zatem uznać go za elicitora (induktora) odporności roślin [17, 26]. Zarówno chityna jak i chitozan wchodzi w skład ścian komórkowych niektórych grzybów. W kontakcie tych grzybów z rośliną obecność chityny i chitozanu staje się sygnałem do uruchomienia reakcji obronnych rośliny. Chitozan, podany roślinie z zewnątrz, reaguje z ujemnie naładowanymi cząsteczkami na powierzchni komórki i wchodzi w reakcje z obszarami aktywnymi, wzajemnie chemicznie zgodnymi. Poza tym chitozan ma zdolność bezpośredniego hamowania wzrostu grzybów [26].

Ograniczanie wzrostu grzybów jest spowodowane zmianami i ubytkami aminokwasów oraz białek (występujących w grzybach), wywoływanych przez chitozan, a także rozluźnieniem ścian komórkowych grzybów. Zjawisko to może być efektem inhibicji syntezy chityny i pojawienia się w ścianie komórkowej grzybów większej ilości chitozanu. Zachwianie proporcji chityny i chitozanu w ścianie komórkowej prowadzi do jej rozluźnienia [26].

Wywoływana przez chitozan wzmożona lignifikacja ścian komórkowych roślin, produkcja fitoaleksyn i enzymów hydrolitycznych w roślinach są przykładami odporności indukowanej i mogą występować jednocześnie [8, 22, 26, 29]. W przeprowadzonych doświadczeniach traktowanie roślin chitozanem indukowało odporność zarówno komórek, na które bezpośrednio go stosowano, jak i tych komórek, którym go nie aplikowano. Stwierdzono, że chitozan wzmacnia ściany komórkowe roślin przez wytworzenie dodatkowych struktur (lignifikacja) oraz nagromadzenie związków fenolowych, szkodliwych dla grzybów [26, 29].

Związki fenolowe ograniczają inwazję grzybów na komórki roślinne. Także fitoaleksyny, których syntezę indukuje chitozan, mają naturę substancji fenolowych. Związki te zakłócają prawidłowe funkcjonowanie ścian komórkowych grzybów. Chityna występująca w ścianach komórkowych grzyba znajdującego się w kontakcie z komórkami roślinnymi traktowanymi chitozanem ulega rozkładowi. Jest to efekt szybkiego nagromadzenia się chitynazy – enzymu dokonującego hydrolizy chityny, powodującego rozpad strzępek grzyba. Prawdopodobnie chitynaza może uruchamiać także inne mechanizmy odpornościowe, jednak dokładne poznanie jej działania wymaga przeprowadzenia dalszych, szczegółowych badań [23, 26, 29].

Zastosowanie chitozanu jako stymulatora wzrostu i rozwoju roślin

Przeprowadzono wiele doświadczeń, w których oceniono możliwości zastosowania chitozanu jako stymulatora wzrostu roślin, głównie ozdobnych i warzywnych. Wykazano, że dodatek chitozanu do podłoża w uprawie eustomy wielkokwiatowej (*Eustoma grandiflorum* (RAF.) SHINN.) stymulował wzrost roślin. Rośliny, które uprawiano w podłożu wzbogaconym w 1% chitozanu (v/v), zakwitły o piętnaście dni wcześniej niż rośliny kontrolne. Otoczkowanie nasion eustomy w roztworze chitozanu o stężeniu 0,1% nie wpłynęło natomiast na przebieg faz rozwojowych roślin. Liczba i masa kwiatów wytworzonych przez rośliny uprawiane w podłożu zawierającym chitozan była większa niż w przypadku roślin kontrolnych oraz uzyskanych z nasion otoczkowanych w roztworze chitozanu [19]. Także w uprawie torenii ogrodowej (*Torenia fournieri* LINDEN), eksakum pokrewnego (*Exacum affine* BALF.f. ex REGEL), begonii zimowej (*Begonia hiemalis* FOTSCH), syningii okazałej (*Sinningia speciosa* BAILL.), lobelii przyładkowej (*Lobelia erinus* L.), kroplika ogrodowego (*Mimulus × hybridus* VOSS), pantofelnika ogrodowego (*Calceolaria herbeohybrida* VOSS) i dzwonka (*Campanula fragilis* CIR.) dodatek 1% chitozanu do podłoża stymulował wzrost roślin. Torenia, eksakum, begonia, syningia, lobelia i kroplik, uprawiane na podłożu zawierającym chitozan, zakwitły wcześniej niż rośliny kontrolne tych gatunków, natomiast nie stwierdzono takiej zależności u pantofelnika i dzwonka [18]. Cho i in. [5] wykazali, że moczenie nasion słonecznika zwyczajnego (*Helianthus annuus* L.) w roztworze chitozanu o stężeniu 0,5% przez osiemnaście godzin zwiększyło o 12,9% masę pędów roślin. Zanotowano o 16,0% więcej wschodów nasion moczonych w roztworze chitozanu niż nasion moczonych przez osiemnaście godzin w wodzie (kontrolnych).

Startek i in. [32] stwierdzili, że czterokrotne, cotygodniowe opryskiwanie roztworem chitozanu w stężeniu 0,2% niecierpka nowogwinejskiego (*Impatiens hawkeri* W BULL), niecierpka Walleriana (*Impatiens walleriana* HOOK.f.), pelargonii bluszczolistnej (*Pelargonium hederifolium* SALISB.) i pelargonii rabatowej (*Pelargonium × hortorum* L.H. BAILEY) przy różnej wilgotności podłoża (50–70% i 70–90%) poprawiło pokrój roślin. Były one bardziej zwarte, kształtne i proporcjonalnie uformowane niż rośliny kontrolne, nietraktowane roztworem chitozanu.

Zawadzińska [37] stwierdziła, że aplikowanie roztworu chitozanu pelargonii rabatowej w postaci opryskiwania lub podlewania roślin zwiększyło ich średnicę, liczbę liści, indeks zazielenienia liści oraz świeżą masę roślin. Pelargonie traktowane roztworem chitozanu kwitły obficie niż rośliny, którym go nie aplikowano. Z kolei w przypadku niecierpka nowogwinejskiego traktowanego roztworem chitozanu analogicznie jak pelargonii rabatowej chitozan zwiększył średnicę roślin i indeks zazielenienia liści, ale jego wpływ na niecierpki w większym stopniu niż u pelargonii zależał od odmiany.

W uprawie frezji (*Freesia* ECKL. ex KLATT) chitozan stosowano do moczenia bulw oraz do opryskiwania i podlewania roślin. Stwierdzono, że stosowanie chitozanu skróciło fazę wegetatywną frezji i przyspieszyło zakwitanie. Rośliny traktowane chitozaniem były wyższe, miały więcej liści i wyższy indeks zazielenienia liści niż frezje, którym chitozanu nie aplikowano. Wytworzyły także dłuższe pędy kwiatostanowe i kwiaty o większej średnicy. Z przeprowadzonych badań wynika, że na właściwości i aktywność biologiczną chitozanu, oprócz ciężaru cząsteczkowego, wpływa także temperatura uprawy. Im ciężar cząsteczkowy jest wyższy, a temperatura niższa, tym działanie chitozanu na rośliny jest silniejsze [40, 41].

Opryskiwanie chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* (RAMAT.) KITAM), uprawianej w gruncie, roztworem chitozanu w stężeniu 0,2%, w odstępach jedno- lub dwutygodniowych, stymulowało wzrost wegetatywny roślin, natomiast nie miało wpływu na ich kwitnienie. Stosowanie chitozanu nie wpłynęło także na indeks zazielenienia roślin i nie zwiększyło ich wartości dekoracyjnej [36].

Chitozan miał wpływ również na przebieg faz rozwojowych i plonowanie niektórych roślin warzywnych. Zaprawianie nasion fasoli wielokwiatowej (*Phaseolus coccineus* L.) w roztworze chitozanu o stężeniu 0,1% zwiększyło liczbę wschodów nasion. Rośliny uzyskane z nasion traktowanych roztworem chitozanu plonowały lepiej niż te, których nie traktowano przed siewem żadnymi preparatami [24].

Także sałata głowiasta (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.), zimująca w gruncie, miała większą rozetę liściową i szybciej wybijała w pędy kwiatostanowe, kiedy opryskiwano ją roztworem chitozanu w stężeniu 0,05% niż wtedy, gdy nie traktowano jej chitozaniem [4].

Stwierdzono, że aplikowanie chitozanu w uprawie pomidora szklarniowego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) do podłoża zainokulowanego *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* JARVIS & SHOEMAKER przed sadzeniem rozsady zwiększyło plon roślin, a wzrost plonu był skorelowany ze wzrostem stężenia chitozanu [2, 16].

Zastosowanie chitozanu jako środka ochrony roślin

Przeprowadzono wiele doświadczeń, w których udowodniono, że wykorzystanie chitozanu w uprawie roślin może poprawić ich zdrowotność. Wojdyła i Orlikowski [35] zbadali możliwości zastosowania chitozanu w ochronie goździka (*Dianthus caryophyllus* L. ‘Tanga’) przed *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* SNYDER & HANSEN, róży (*Rosa* ‘Sabrina’ i *Rosa* ‘Madelon’) przed *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* (WALLR.) DE BARY, *Botrytis cinerea* PERS i *Peronospora sparsa* BERK. oraz difenbachii (*Dieffenbachia* sp.) przeciw *Myrothecium roridum* TODE. Wykazali, że dodatek roztworu chitozanu w stężeniach 0,0125–0,1000% do podłoża bezpośrednio po sadzeniu ograniczył rozwój *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* w uprawie goździka.

W uprawie róży cotygodniowe opryskiwanie roztworem chitozanu w stężeniach 0,05–0,15% wpłynęło podobnie na rozwój *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* i *Pero­nospora sparsa* jak zastosowanie fungicydów, ale w przypadku szarej pleśni, wywo­ływanej przez grzyb *Botrytis cinerea*, działanie chitozanu było skuteczne tylko przez kilka dni. Opryskiwanie chitozanem zwalczyło grzyba *Myrothecium roridum* na difenbachii, a szczególnie skuteczne okazało się jego działanie profilaktyczne [35].

Saniewska [29] wykazała, że stosowanie chitozanu w stężeniach 1,25; 2,50 i 5,00 mg · cm⁻³ do zaprawiania nasion astra chińskiego (*Callistephus chinensis* (L.) NEES) nie ograniczyło występowania grzybów na roślinach, natomiast zaprawianie łusek błonczatki narcyzowatej (*Hymenocallis narcissiflora* (JACQ.) J.F. MACBR.) zahamowało rozwój grzyba *Phoma narcissi* ADERH. Podobny wpływ chitozanu na rozwój *Fusarium oxysporum* f. sp. *tulipae* G.F. ATK. wykazano na zaprawianych chitozanem cebulach tulipanów (*Tulipa* 'Apeldoorn'). Z kolei ośmiokrotne, co­tygodniowe opryskiwanie wyżlinu większego (*Antirrhinum majus* L.) roztworem chitozanu o stężeniu 10 mg · cm⁻³ silnie ograniczyło rozwój *Puccinia antirrhini* DIETEL & HOLW.

W 2006 roku Saniewska i in. [30] stwierdzili, że aplikowanie chitozanu w stęże­niach 0,01–0,05% na uszkodzone łuski hipeastrum mieszańcowego (*Hippeastrum* × *hybridum*) stymulowało w nich akumulację czerwonego barwnika o właściwościach antygrzybowych, chociaż wyższe stężenia chitozanu hamowały ten proces.

Stosowanie chitozanu do moczenia cebul tulipanów (*Tulipa* sp.) przez trzydzieści minut spowodowało zahamowanie rozwoju *Fusarium oxysporum* f. sp. *tulipae* [20, 21]. Natomiast moczenie bulw mieczyków (*Gladiolus* sp.) w roztworze chitozanu zahamowało rozwój *Fusarium oxysporum* SCHLECT. f. sp. *gladioli* (MASSEY) SNY. & HANS, ale tylko wtedy, gdy związek zastosowano na dobę przed inokulacją [20]. Także w uprawie frezji (*Freesia* 'Versailles') moczenie bulw przed sadzeniem w roz­tworze chitozanu o stężeniu 0,2% i o różnych ciężarach cząsteczkowych (w zakresie 2000–970 000 g · mol⁻¹) przez dwadzieścia minut poprawiło zdrowotność bulw potomnych [28].

Chitozan stosowano w uprawie fasoli wielokwiatowej i stwierdzono, że zapra­wianie jej nasion w roztworze chitozanu o stężeniu 0,1% skutecznie ochroniło fasolę przed porażeniem przez grzyby chorobotwórcze przeżywające w glebie: *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* (MARTIUS) SACCARDO, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* KENDRICK & SNYDER, *Fusarium culmorum* (WM.G. SM.) SACC., *Pythium irregulare* BUISMAN i *Rhizoctonia solani* J.G. KÜHN. Zdrowotność roślin uzyskanych z nasion zaprawianych roztworem chitozanu była większa niż roślin, których nasion nie zaprawiano przed siewem [24].

Opryskiwanie zimującej w gruncie sałaty głowiastej roztworem chitozanu w stę­żeniu 0,05% zwiększyło liczbę roślin, które przetrzymały. Chitozan ograniczył występowanie na roślinach grzyba *Botrytis cinerea* [4].

Chitozan stosowano dolistnie w uprawie tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.), a także otoczkowano nasiona tytoniu w roztworze chitozanu w celu ochrony roślin przed grzybem *Phytophthora parasitica nicotianae* (BREDA DE HAAN) TUCKER. Wykazano, że oba sposoby stosowania chitozanu indukowały reakcje odpornościowe w roślinach, dzięki czemu stawały się one odporniejsze na grzyba *Phytophthora parasitica nicotianae* [10].

Wykorzystanie chitozanu w przechowalnictwie owoców i warzyw

Du i in. [7] wykazali, że chitozan może być stosowany do otoczkowania owoców: brzoskwini, gruszek japońskich, kiwi. Otoczkowanie owoców w chitozanie zmniejszyło intensywność ich oddychania, a także ograniczyło produkcję etylenu u brzoskwini. U gruszek chitozan zahamował wzrost grzyba *Botrytis cinerea*, wywołującego szarą pleśń. Otoczkowane w chitozanie brzoskwini i gruszki były jędrniejsze niż owoce nieotoczkowane. Wykorzystanie chitozanu w ochronie czereśni, winogron i pomarańczy przed chorobami grzybowymi było efektywne zarówno w przypadku sztucznie zainokulowanych, jak i niezainokulowanych owoców [2, 27].

Wykazano, że otoczkowanie owoców w chitozanie nie zawsze jest równie skuteczne w ochronie przeciwko chorobom grzybowym jak stosowanie fungicydów. Zhang i Quantick [38] stwierdzili, że traktowanie chitozanem owoców liczy opóźniło pojawienie się na nich chorób grzybowych w czasie 33-dniowego okresu przechowywania, ale stosowanie fungicydów było efektywniejsze w ochronie przeciw chorobom wywoływanym przez grzyby.

Zaletą otoczkowania owoców i warzyw jest przedłużenie ich trwałości pozbiorczej. Chitozan tworzy półprzepuszczalną błonę na powierzchni owoców i warzyw, która redukuje straty wody spowodowane transpiracją. Dzięki temu owoce i warzywa wolniej tracą wodę i dłużej zachowują jędrność [2].

Wykazano, że chitozan wpływa także na skład chemiczny, między innymi na zawartość cukrów redukujących w owocach. Bautista-Banos i in. [2] oraz Kittur i in. [14] stwierdzili, że po okresie przechowywania zawartość cukrów redukujących w bananach była wyższa, gdy otoczkowano je w chitozanie niż w owocach nim nietraktowanych. Z kolei odwrotny efekt wystąpił w przypadku owoców mango. Powodem mógł być różny sposób aplikowania chitozanu: pakowanie owoców do kartonów i pokrywanie otoczką chitozanową lub moczenie owoców w roztworze chitozanu [2, 14, 31].

Traktowanie chitozanem owoców mango miało wpływ również na zawartość w nich kwasu askorbinowego. Jego zawartość w owocach mango traktowanych chitozanem stopniowo zmniejszyła się podczas przechowywania i była mniejsza niż w mango nietraktowanych chitozanem [31].

Podsumowanie

Przeprowadzone badania wykazały, że chitozan to bezpieczny dla środowiska związek, który może stymulować wzrost i rozwój niektórych gatunków roślin. Wyniki licznych doświadczeń wskazują, że może on być również, lub przede wszystkim, wykorzystany do kontrolowania rozwoju patogenów oraz do stymulowania reakcji odpornościowych w roślinach. Oprócz stosowania w czasie uprawy może być także używany do traktowania owoców i warzyw po zbiorze, poprawiając ich zdrowotność i jakość. Mimo że jego skuteczność jako środka ochrony przechowywanych owoców i warzyw przeciw chorobom grzybowym jest czasem mniejsza niż efektywność fungicydów, to zalety chitozanu, takie jak naturalne pochodzenie, duża aktywność biologiczna oraz nieszkodliwość dla ludzi i środowiska, powodują, że może być polecany do stosowania w ogrodnictwie.

Literatura

- [1] Babel S., Kurniawan T.A. 2003. Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. *J. Hazard. Mater.* B 97: 219–243.
- [2] Bautista-Banos S., Hernandez-Lauzardo A.N., Velazquez-del Valle M.G., Hernandez-Lopez M., Ait Barka E., Bosquez-Molina E., Wilson C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre- and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protect.* 25(2): 108–118.
- [3] Beaulieu C. 2007. The multiple effects of chitosan. *Phytoterapie* 5 (Suppl. 1): 38–45.
- [4] Borkowski J., Sobolewski J., Robak J. 2001. Wpływ chitozanu na zdrowotność i wzrost sałaty odm. Zimowa Nansena. Mat. konf. nauk. „Biologiczne i agrotechniczne kierunki rozwoju warzywnictwa”. Skierniewice, 2001: 158–159.
- [5] Cho M.H., No H.K., Prinyawiwatkul W. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. *J. Food Sci.* 73(1): 70–77.
- [6] Doares S.H., Syrovets T., Weiler E.W., Ryan C.A. 1995. Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive genes through the octadecanoid pathway. *PNAS* 92: 4095–4098.
- [7] Du J., Gemma H., Iwahori S. 1997. Effects of chitosan on the storage of peach, Japanese pear, and kiwifruit. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 66(1): 15–22.
- [8] Ebel J., Mithöfer A. 1998. Early events in the elicitation of plant defence. *Planta* 206: 335–348.
- [9] Eikemo H., Stensvond A., Tronsmo A.M. 2003. Induced resistance as a possible means to control disease of strawberry caused by *Phytophthora* spp. *Plant Dis.* 87: 345–350.
- [10] Falcon A.B., Cabrera J.C., Costales D., Ramirez M.A., Cabrera G., Toledo V., Martinez-Tellez M.A. 2008. The effect of size and acetylation degree of chitosan derivatives on tobacco plant protection against *Phytophthora parasitica nicotianae*. *World J. Microb. Biot.* 24(1): 103–112.
- [11] Fiema J., Piskorz-Bińczycka B. 2002. Działanie różnych form chitozanu na grzybnię *Aspergillus giganteus* mut. *alba* Zurz. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 481: 633–639.
- [12] Gerente C., Lee V.K.C., Le Cloirec P., McKay G. 2007. Application of chitosan for the removal of metals from wastewaters by adsorption – mechanisms and models review. *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.* 37(1): 41–127.
- [13] Je J.Y., Kim S.K. 2006. Reactive oxygen species scavenging activity of aminoderivatized chitosan with different degree of deacetylation. *Bioorgan. Med. Chem.* 14(17): 5989–5994.
- [14] Kittur F.S., Kumar K.R., Tharanathan R.N. 2001. Functional packaging of chitosan films. *Z. Lebensmittelforschung und Forschung A* 206: 44–47.
- [15] Kołodziejaska I., Wojtasz-Pająk A., Sikorski Z.E. 1995. Enzymatyczna modyfikacja chityny. *Biotechnologia* 3 (30): 133–139.

- [16] Lafontaine P.J., Benhamou N. 1996. Chitosan treatment: an emerging strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato plants to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biocontrol Sci. Technol.* 6: 11–124.
- [17] Limpanavech P., Chaiyasuta S., Vongpromek R., Pichyangkura R., Khunwasi C., Chadchawan S., Lotrakul P., Bunjongrat R., Chaidee A., Bangyeekhun T. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid. *Sci. Hort. Amsterdam* 116(1): 65–72.
- [18] Ohta K., Morishita S., Suda K., Hosoki T. 2004. Effect of chitosan soil mixture treatment in the seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 73(1): 66–68.
- [19] Ohta K., Taniguchi A., Konishi N., Hosoki T. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. *HortSci.* 34(2): 233–234.
- [20] Orlikowski L., Skrzypczak Cz. 2000. Biologiczna ochrona ozdobnych roślin cebulowych przed chorobami. *Mat. konf. nauk. „Techniki szklarniowe i rośliny cebulowe”*. Skierniewice: 40–42.
- [21] Orlikowski L., Wojdyła A., Skrzypczak Cz. 1996. Elicytory w ochronie roślin przed grzybami chorobotwórczymi. *Mat. symp. nauk. „Choroby roślin a środowisko”*. Poznań: 99–106.
- [22] Pereira R.B., De Resende M.L.V., Ribeiro Jr. P.M., Amaral D.R., Lucas G.C., Cavalcanti F.R. 2008. Activation of defence responses on cocoa against *Verticillium* wilt by natural extracts and acibenzolar-S-methyl. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 43(2): 171–178.
- [23] Pięta D., Pastucha A. 2002. Efektywność ochronnego działania chitozanu w ograniczaniu chorób grzybowych soi. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 1(1): 31–43.
- [24] Pięta D., Pastucha A., Struszczyk H. 2000. Skuteczność zaprawiania chitozanem nasion fasoli wielokwiatowej (*Phaseolus coccineus* L.) w ograniczaniu jej porażenia przez grzyby. *Rocz. ARPozn.* 323, *Ogrodn.* 31(1): 409–413.
- [25] Pospieszny H. 1997. Niektóre aspekty stosowania chitozanu w ochronie roślin. *Prog. Plant Prot.* 37(1): 306–310.
- [26] Pospieszny H., Struszczyk H. 1994. Chitozan – potencjalny biopreparat przeciwko patogenom roślin. *Mat. XXXIV Sesji Nauk. IOR. Cz. I*: 117–124.
- [27] Romanazzi G., Nigro F., Ippolito A. 2001. Chitosan in the control of postharvest decay of some Mediterranean fruits. W: Muzarelli R.A.A. (red.) *Chitin enzymology*, Atec, Italy: 141–146.
- [28] Salachna P., Bartkowiak A., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Placek M. 2007. Ocena wpływu chitozanu na plon i zdrowotność bulw frezji (*Freesia* ECKL. ex KLATT) odmiany 'Versailles'. *Rocz. ARPozn.* 383, *Ogrodn.*: 177–181.
- [29] Saniewska A. 2001. The effect of chitosan on limitation of growth and development of some pathogenic fungi for ornamental plants. *Acta Agrobot.* 54(1): 17–29.
- [30] Saniewska A., Horbowicz M., Saniewski M. 2006. Effect of chitosan and tulip polysaccharide gum on red pigment formation in wounded bulbs of *Hippeastrum* hybr. hort. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 509: 361–368.
- [31] Srinivasa P.C., Baskaran R., Armes M.N., Harish Prashanth K.V., Tharanathan R.N. 2002. Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. *Eur. Food Res. Technol.* 215: 504–508.
- [32] Startek L., Zawadzińska A., Klessa M., Dobrowolska A. 2006. Effects of soil moisture and chitosan application on some morphological traits of taxons of the genera *Impatiens* and *Pelargonium*. *Mat. konf. nauk. „Water requirements and irrigation effects of plants cultivated in arid and semiarid climates”*. Tel Aviv, Izrael, 2006: 164–168.
- [33] Tseng R.L., Wu F.C., Juang R.S. 1999. Pore structure and metal adsorption ability of chitosans prepared from fishery wastes. *J. Environ. Sci. Heal. A* 34(9): 1815–1828.
- [34] Wang W.P., Du Y.M., Wang X.Y. 2008. Physical properties of fungal chitosan. *World J. Microbiol. Biotechn.* 24(11): 2717–2720.
- [35] Wojdyła A., Orlikowski L. 1997. Chitozan w zwalczaniu grzybów doglebowych i nalistnych. *Prog. Plant Prot.* 37(1): 300–305.
- [36] Wraga K. Wpływ chitozanu na wzrost, rozwój i wartość dekoracyjną chryzantemy wielokwiatowej (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* (RAMAT.) KITAM.) uprawianej w gruncie. Przygotowane do opublikowania.
- [37] Zawadzińska A. Badania nad wpływem chitozanu w uprawie pelargonii rabatowej i niecierpka nowogwinejskiego. Przygotowane do opublikowania.
- [38] Zhang D., Quantick P.C. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi sinensis* SONN.) fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 12: 195–202.
- [39] Zuo Y., Zhan J., Costa N. 2001. Use of shell chitin extracted from seafood processing waste in recycling of industrial wastewater. *P. SPIE – Int. Soc. Opt. Eng.* 4193: 403–412.
- [40] Żurawik P. Wpływ chitozanu na cechy morfologiczne frezji z grupy Beach. Przygotowane do opublikowania.
- [41] Żurawik P. Wielkość i jakość plonu bulw potomnych frezji w zależności od metody aplikacji chitozanu. Przygotowane do opublikowania.

The use of chitosan in cultivation, preservation and protection of horticultural plants

Key words: chitosan, cultivation, preservation, protection, horticultural plants

Summary

Chitosan, chitin derivative, is a natural, biodegradable compound, safe for people and environment. In conducted experiments it was found that chitosan may be used in plants cultivation, it often stimulates growth, development and immunological reactions in plants. Fruits and vegetables after the harvest may also be treated with chitosan. It improves their healthiness and quality.

Uciążliwe chwasty wieloletnie w rolnictwie ekologicznym

Wanda Cegielkowska, Stanisław W. Gawroński

Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa,
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego,
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
e-mail: stanislaw_gawronski@sggw.pl

Słowa kluczowe: kontrola zachwaszczenia, metody niechemiczne, *Elymus repens*, *Agropyron repens*, *Cirsium arvense*, *Rumex* sp.

Wprowadzenie

Występowanie chwastów wieloletnich powoduje spadek potencjału plonotwórczego gleby z powodu ich silnej konkurencyjności wobec roślin uprawnych. Koszty przywrócenia pierwotnej produktywności gruntu obniżają w efekcie jego cenę oraz sumy kredytów oferowanych przez banki. Chwasty wieloletnie zawężają możliwe spektrum upraw, wymagają też włączania w płodozmian okresów ugorowania, a przy tym ich presja, w przeciwieństwie do gatunków krótkotrwałych, ma charakter ciągły. Negatywny wpływ chwastów wieloletnich jest szczególnie niekorzystny przy zamiarze przestawiania gospodarstwa na ekologiczne metody produkcji [37].

Jak wynika z analiz europejskiego projektu Specific Support Action CHANNEL o sytuacji kontroli zachwaszczenia w rolnictwie ekologicznym w nowych i kandydujących jeszcze krajach członkowskich UE [11] nadal, pomimo trwającego dekady zwalczania, najbardziej uporczywymi gatunkami chwastów w kategorii wieloletnich są *Cirsium arvense* i *Elymus repens* na gruntach ornych, natomiast na obszarach pastwisk pojawia się problem chwastów z rodzaju *Rumex*. Chwasty te stanowią również problem w gospodarstwach konwencjonalnych, wymagają bowiem dodatkowych zabiegów w celu ich zwalczania. Problem zwiększa się bezpośrednio po konwersji na metody ekologiczne. Opracowanie metod kontroli tego typu zachwaszczenia jest poważnym wyzwaniem stojącym przed współczesnym rolnictwem ekologicznym, także w Polsce [21].

Perz właściwy – *Elymus repens* (L.) GOULD.

Perz właściwy jest agresywnym chwastem wieloletnim rozmnażającym się za pomocą rozłogów i nasion. Pochodzi z Euroazji. Z uwagi na budowę kwiatostanu, który podobny jest do pszenicy, przez Linneusza zwany był *Triticum repens*. Obecności perzu sprzyja działalność człowieka, stwierdza się go w przeszło 32 uprawach w ponad 40 krajach świata [27]. Zasiadła wszystkie rodzaje gleb ornych (wyjątek stanowią gleby piaszczyste skrajnie suche, na których gatunek ten jest zastępowany przez kłosówkę miękką *Holcus mollis* L.), miedze, nieużytki, grunty pod żywopłotami, rozrasta się wzdłuż linii kolejowych i innych szlaków komunikacyjnych. Najlepsze warunki wzrostu i rozwoju perzu występują na glebach żyznych, wilgotnych o luźnej strukturze. Perz preferuje odczyn obojętny lub zasadowy, ale również dobrze rozwija się na glebach kwaśnych. Jest rośliną o dużych zdolnościach adaptacyjnych [3].

Allelopatyczne właściwości perzu zostały potwierdzone w licznych badaniach i związane są zarówno z podziemnymi jak i nadziemnymi częściami roślin żywych i rozkładających się [33]. W Polsce allelopatyczne właściwości perzu wykazano już w latach 60. XX w. [31]. Ponieważ uprawa pola może prowadzić do tworzenia się kęp rozłogów, tłumaczy to nierówną obsadę i stan ładu na polach zachwaszczonych perzem. Obecność perzu może całkowicie wykluczyć inne rośliny. Rozkładające się rozłogi perzu hamują kiełkowanie nasion, powodują chlorozy i spadek masy roślin np. lucerny i owsa. Jego szkodliwość jest spowodowana również pełnieniem przez niego roli tzw. „zielonego pomostu” – stanowi on miejsce bytowania chorób i szkodników właściwych roślinom zbożowym [33]. Ponadto zaobserwowano, że występowanie perzu znosi skutki zwiększonego nawożenia – wydziela on do środowiska glebowego substancje utrudniające pobieranie składników pokarmowych przez rośliny uprawne [8].

Rozmnażanie generatywne jest podstawą rozprzestrzeniania się gatunku w warunkach naturalnej łąki; na gruntach ornych większe znaczenie ma rozmnażanie za pomocą żywotnych rozłogów. Rozłogi te tworzą się bardzo intensywnie (do 1,5 m przyrostu w ciągu jednego sezonu wegetacyjnego). Początek nowej roślinie może dać nawet kilkucentymetrowy odcinek rozłogu, jednak u perzu mamy do czynienia ze zjawiskiem dominacji wierzchołkowej i jedynie około 10% pączków może wytwarzać nowe pędy. Jest ona znoszona przez zwiększoną zawartość azotu w glebie, stymulującą jednocześnie zwiększone wytwarzanie pędów. W warunkach silnej konkurencji o światło, np. zwarta ruń, zwiększa się ilość wytworzonych rozłogów. Na łąkach i pastwiskach większość rozłogów gromadzi się w podpowierzchniowej warstwie gleby (do 10 cm głębokości). Perz zaczyna produkować rozłogi w fazie 3–4 liści właściwych, a minimalny poziom rezerw pokarmowych skorelowany jest z fazą 2–3 liści właściwych [3, 8].

Istotnym działaniem w ograniczaniu zachwaszczenia *E. repens* jest utrzymanie czystości sprzętu rolniczego, zwłaszcza podczas przemieszczania się między polami zachwaszczonymi i wolnymi od perzu. Grunt przyległy do stosu obornika porośnięty perzem stanowi zagrożenie dla nawożonych nim upraw. Dobrą praktyką jest wysiew żyta wokół stosu kompostowego. Perz może być również przenoszony na nowe obszary wraz z glebą z kopania kanałów czy z zanieczyszczonym materiałem szkółkarskim [8, 22, 30]. W przypadku złego przezimowania wieloletnich roślin pastewnych wskazane jest ich zaoranie i siew nowych roślin pastewnych jedno- i dwuletnich. W optymalnych warunkach pole z zasiewem wieloletnich roślin pastwiskowych nie powinno być utrzymywane dłużej niż trzy lata [30].

W warunkach rolnictwa ekologicznego szczególnie istotny jest czysty materiał siewny. Nasiona perzu często stanowią zanieczyszczenie w pszenicy, jęczmieniu, życie, koniczynie, trawach, zwłaszcza stokłosie i tymotce. W czasie kombajnowego zbioru zbóż należy stosować zasobniki na nasiona chwastów. Sprawdzana powinna być również czystość słomy. Ziarna perzu nie tracą zdolności kiełkowania po przejściu przez układ pokarmowy zwierząt (z wyjątkiem trzody chlewnej) [27]. Dlatego też siano powinno być koszone przed wytworzeniem nasion przez perz, a niedojady na pastwiskach należy wykaszać jeszcze przed kłoszeniem perzu [8].

Opóźnieniu rozprzestrzeniania się perzu mogą służyć wsiewki w uprawy główne, np. koniczyny w zbożach, mieszanka życicy i koniczyny czerwonej w kukurydzy. Głównym czynnikiem ograniczającym jest tu utrudniony dostęp do światła [3, 30]. Stwierdzono, iż spośród pięciu roślin uprawnych największą konkurencyjnością wobec perzu charakteryzuje się żyto ozime, następnie pszenica ozima, jęczmień jary, rzepak jary, a najmniejszą groch siewny. W uprawie żyta odnotowano najmniejsze straty plonu. Istnieje także proporcjonalna zależność między gęstością siewu a plonem wymienionych roślin [26]. Celowe zagęszczanie siewu roślin uprawnych, np. facelii, można połączyć ze zwiększonym nawożeniem mineralnym lub organicznym, co było metodą stosowaną w przeszłości, a jest wykorzystywane także obecnie jako jeden z etapów ograniczania nadmiernego zachwaszczenia perzem [33]. Ważną rolę mogą odgrywać właściwości allelopatyczne roślin uprawnych wobec perzu [1]. W badaniach i praktyce wykazano silne allelopatyczne właściwości gryki (wszystkie polskie odmiany) względem perzu, pozwalające na jej zalecanie do ograniczania tego typu zachwaszczenia w gospodarstwach ekologicznych i integrowanych. Ważną rolę mogą odgrywać właściwości allelopatyczne roślin uprawnych wobec perzu [1]. Występujące w gryce allelozwiązki to m.in. kwas chlorogenowy, kwas kawowy, kwas ferulowy i rutyna [13]. Gryka polecana była do „gubienia dziczyzny” w Polsce już przez ks. Krzysztofa Kluka [20].

Mechaniczne ograniczanie zachwaszczenia perzem osiąga się poprzez osłabienie jego potencjału biologicznego. Dawniej w Wielkiej Brytanii na polach opanowanych przez perz polecano sadzenie ziemniaków, w których intensywna uprawa mechaniczna sprzyjała jego wyniszczaniu [3]. Na polach wolnych od rośliny uprawnej jedną

z metod jest wyczerpywanie rozłogów, zwana metodą „zmęczenia perzu” [33]. Polega ona na wielokrotnym niszczeniu roślin najpóźniej w stadium 3–4 liści. Należy pamiętać, iż opóźnienie terminu kolejnych uprawek poza to stadium powoduje zmniejszenie efektywności zabiegu, spowodowane rozpoczęciem ponownego gromadzenia rezerw pokarmowych przez rozłogi [3, 16]. Uprawę mechaniczną wykonuje się broną talerzową lub pługiem [33]. Metoda ta sprawdza się w warunkach chłodnej i wilgotnej pogody [22, 33]. Warto przed nią zastosować nawożenie, co spowoduje szybsze wyczerpanie rozłogów, a także zwiększy aktywność pączków [25].

Drugi sposób, wysuszenie (ewentualnie wymrożenie), angażuje mniej przejazdów i polega na wyciągnięciu rozłogów na powierzchnię gleby, gdzie wystawione na działanie wiatru i słońca wysychają, jeżeli pozwalają na to warunki pogodowe. Metodę tę powinno się rozpatrywać w pierwszej kolejności z uwagi na oszczędność energii. Jej ograniczeniem są warunki klimatyczne, gdyż sprawdza się jedynie w czasie suchej, gorącej pogody, prowadzącej do zamierania rozłogów w ciągu kilku dni [22]. Niezależnie od zastosowanego podejścia, najważniejsze jest doprowadzenie do wyniszczenia rozłogów perzu do końca. W przeciwnym bowiem wypadku problem może się nasilić, ze względu na zwiększony wigor roślin perzu. Przesuszone rozłogi wyciąga się na powierzchnię pola kultywatorem o łapach sprężystych (minimum dwa przejazdy „na krzyż”), a następnie zgarnia broną lub zgrabiarką i wywozi na przymę kompostową. Oznacza to jednak również wywóz składników pokarmowych oraz pogorszenie struktury gleby. Poza tym nadal pozostają w glebie liczne rozłogi perzu [33].

Metodą stosowaną od dawna [18, 36] oraz obecnie w warunkach rolnictwa ekologicznego [3, 8, 22], choć wiąże się z nią pewne kontrowersje, jest krótkotrwały „czarny ugór”. Metoda ta polega na powtarzającej się uprawie mechanicznej przez okres trzech do sześciu tygodni. Najbardziej do zastosowania tej metody nadają się grunty funkcjonujące przez kilka lat jako łąki, na których kłacza perzu koncentrują się w warstwie 7–10 cm pod powierzchnią gleby. Ważne jest, aby ugorowanie rozpocząć tak wcześnie jak to tylko możliwe, tzn. po pierwszym pokosie siana lub wcześniejszym drugim pokosie. Na gruntach ornych krótkotrwały ugór można zastosować po zbiorze zbóż ozimych, co zapewnia odpowiednio długi okres sprzyjającej pogody. Wiosenny termin ugorowania nie jest polecany ze względu na z reguły zbyt wysoką w tym okresie wilgotność gleby. Dawniej stosowaną wersją tej metody, szczególnie na obszarach o klimacie morskim i podgórskim, była tzw. „metoda trzech orek”, która składała się z: 1) podorywki na głębokość zalegania rozłogów; 2) orki na średnią głębokość (orka odwrotka), gdy pole się zazieleni, a perz jest maksymalnie w stadium 3 liści; 3) orki przedsiwnej lub przedzimowej po ponownym odbiciu perzu [9]. Współcześnie poleca się krótkotrwały czarny ugór, na który składają się następujące etapy: 1) podorywka – pierwotne oddzielenie cząstek gleby i korzeni roślin, wykonywana na głębokość zalegania rozłogów (7,5–10 cm); 2) kilkukrotne bronowanie broną zębową lub kultywatorem sprężynowym przy wysuszeniu lub broną talerzową

przy wyczerpywaniu rozłogów, za każdym razem gdy perz osiągnie stadium 2–3 liści; następnie 3) siew roślin na zielony nawóz (gorczyca biała, wyka, rzodkiew oleista) lub zboża ozimego (żyto, pszenica ozima) ze względu na konieczność odzyskania składników pokarmowych uwolnionych w trakcie odłogowania, zapobieżenia odrastaniu perzu, zmniejszenia erozji i odbudowania nadwerżonej struktury gleby. Siew rzędowy pozwala przedłużyć okres wyczerpywania perzu na następny sezon wegetacyjny. Jeśli siew nie jest możliwy, należy z perzem cały czas postępować w ten sam sposób – nie pozwalać mu na przekroczenie fazy 3 liści i ewentualnie zakończyć uprawki orką zimową z przedplużkiem, która umieści wierchnią warstwę roli wraz z rozłogami na dnie brzozy. Wadą krótkotrwałego czarnego ugoru są duże nakłady energetyczne oraz zależność skuteczności od przebiegu pogody, niszczenie struktury gleby oraz negatywny wpływ na jej życie biologiczne [3, 8, 22, 33, 36].

Jeśli stosowany płodozmian nie pozwala na wygospodarowanie czasu niezbędnego na przeprowadzenie powyższej serii uprawek, próbą rozwiązania problemu nadmiernego zachwaszczenia perzem może być zastosowanie pojedynczej orki, która jednak nie rozwiąże go jednak całkowicie, toteż w najbliższym czasie należy przewidzieć miejsce na krótkotrwały ugór. Standardowa orka na głębokość 20 cm przy użyciu pługa lemieszowego powoduje zakopanie wielu rozłogów pod grubszą warstwą gleby. Rozłogi wycieńczają się usiłując wytworzyć pędy sięgające powierzchni gleby. Pozwala to na pozbycie się do 75% pączków na rozłogach. Kilkukrotne skoszenie perzu przed orką zwiększa jej skuteczność. Orkę należy przeprowadzić najpóźniej jak to możliwe [3, 22, 30]. Zastosowanie przedplużka poprawia skuteczność metody o około 75% w porównaniu ze zwykłą orką z uwagi na dokładne przykrycie pędów perzu [16]. Orka głęboka, choć całkiem skuteczna, nie jest polecana w warunkach rolnictwa ekologicznego ze względu na jej szkodliwy wpływ na organizmy glebowe oraz też ryzyko wydobycia martwicy glebowej [30]. Orka wiosenna szybko wyczerpuje rezerwy substancji pokarmowych z rozłogów perzu, ale na terenach mniej wilgotnych sprzyja przesuszeniu pola.

Do metod pomagających ograniczyć zachwaszczenie perzem znajdujących, zastosowanie raczej w ogrodnictwie można zaliczyć stosowanie ściółek organicznych lub z tworzyw sztucznych oraz solaryzację. Nie poleca się natomiast wypielania płomieniowego, gdyż wymagane jest powtarzanie zabiegów – pojedynczy zabieg powoduje intensywną produkcję pędów [3, 7].

Zmniejszeniu zapasów substancji w rozłogach perzu sprzyja kilkukrotne koszenie, ale samo bardzo rzadko prowadzi do całkowitego usunięcia problemu perzu; sposób ten bywa wykorzystywany do jego eliminacji na trawnikach, a zaletą metody jest zapobieganie wytwarzaniu nasion [8]. Ograniczenie zachwaszczenia perzem możliwe jest do osiągnięcia po kilku latach wypasania zwierząt na odpowiednio dobranej mieszance trawy z koniczyną [3]. Intensywny wypas wiosenny lub jesienny w czasie dynamicznego rozwoju perzu może go również osłabić przed zastosowaniem zabiegów mechanicznych. Wypas przyczynia się do skupiania się kłączy bliżej

powierzchni gleby, spowalnia ich rozprzestrzenianie się, powoduje też tworzenie delikatniejszych rozłogów. Zatem jeden lub dwa lata wypasania w znacznym stopniu ułatwią późniejszą mechaniczną kontrolę perzu. Najskuteczniejsze w osłabianiu perzu są owce, które zgryzają ruń bardzo blisko powierzchni gruntu [8]. W zwalczaniu perzu pomocne mogą być także młode gęsi [3]. Na małych powierzchniach można wykorzystać świnię, dla których jest on wręcz przysmakiem [16, 19, 27].

Ostrożeń polny – *Cirsium arvense* (L.) SCOP.

Uciążliwym chwastem gruntów ornych i użytków zielonych jest ostrożeń polny. Jego ojczyzną jest rejon Morza Śródziemnego, a na kontynent amerykański został zawleczony wśród dobytku osadników. Uprawiany był jako roślina lecznicza i jadalna, ale odkąd wymknął się spod kontroli, przyczynia się do poważnych strat plonów w 27 uprawach w 37 krajach świata. Konkuruje z roślinami uprawnymi o zasoby środowiska oraz ma właściwości allelopatyczne negatywnie na nie oddziałujące [11, 17, 28]. Zwiększone pobranie azotu przez ostrożeń było krytycznym czynnikiem powodującym spadek plonu ziarna i słomy pszenicy ozimej, a wyższe dawki nawożenia azotowego przyczyniają się do szybszego rozwoju populacji tego chwastu. Wpływ nawożenia na roślinę uprawną i ostrożeń jest złożony i zależy od uprawianej rośliny oraz stosowanego płodozmianu [2].

Ostrożeń obniża produktywność pastwisk – kłujące liście omija większość gatunków zwierząt, a spożyte powodują uszkodzenia przewodu pokarmowego [33]. Ostrożeń utrudnia też zbiór roślin uprawnych. Jest żywicielem i gospodarzem chorób i szkodników (np. mszycy burakowej i rdzy chryzantemowej). Stosowanie herbicydów zdejmuje z ostrożnia odium chwastu uciążliwego, jednak przy przejściu na ekologiczny system produkcji rolnej, jego problem powraca, zwłaszcza w gospodarstwach stosujących płodozmian z dużym udziałem roślin zbożowych [16].

Maksimum kiełkowania nasion ostrożnia przypada na okres od kwietnia do maja. Powstające siewki są wrażliwe na konkurencję o światło. Zdolność do regeneracji uzyskują w momencie wytworzenia dwóch liści właściwych. Pomimo bardzo głębokiego systemu korzeniowego ostrożnia (do 6 m), połowa jego korzeni znajduje się w warstwie ornej i właśnie tu zachodzi główna regeneracja [28]. Nie regenerują fragmenty krótsze niż 1 cm. Nawożenie azotowe oraz ścinanie pędów wczesną wiosną wzmacnia odnawianie. Minimum rezerw pokarmowych przypada na okres od maja do lipca, w momencie gdy pędy osiągają wysokość ok. 7,5 cm lub gdy wytworzyły 8 liści właściwych. Termin ten sprzyja skuteczności zabiegów osłabiających potencjał biologiczny chwastu [2].

Również w przypadku zmniejszania zachwaszczenia ostrożniem ważna jest czystość materiału siewnego, narzędzi i maszyn rolniczych, unikanie uprawy gruntów wolnych od chwastu po wykonaniu zabiegów na polach nim zachwaszczonych bez oczyszczenia sprzętu. Generalnie, podejmowane kroki powinny przeciwdziałać za-

kwitaniu ostroźnia, zwłaszcza na miedzach i nieużytkach oraz rozprzestrzenianiu się jego żywotnych nasion. Jak podaje Håkansson [16], w latach trzydziestych XX wieku powszechne było wykaszanie takich miejsc w pełni lata, jednak wraz z rosnącym zużyciem herbicydów praktyka ta traciła na znaczeniu. Prawdopodobnie do praktyki powinni powrócić rolnicy ekologiczni. Obsiewanie miedz żywotnymi i konkurencyjnymi mieszankami dzikich roślin zielnych może spowalniać tempo rozwoju ostroźnia, zwiększając jednocześnie bioróżnorodność agrobiocenozy, co sprzyja lepszej kondycji roślin uprawnych. W pośredniej kontroli istotne jest również kompostowanie obornika oraz napowietrzanie gnojówki. Aby zapobiec przedostawaniu się nasion ostroźnia do nawozów organicznych należy czyścić paszę, a pośłady śrutować przed podaniem [2, 8].

Na użytkach zielonych, podobnie jak w przypadku szczawiu i perzu, na możliwość kolonizacji i rozwoju ostroźnia negatywnie wpływa gęsta, zwarta i konkurencyjna darni. Wypasanie późną jesienią lub zbyt wcześnie wiosną powoduje osłabienie runi i jej mniejszą konkurencyjność na wiosnę w okresie wznawiania wzrostu przez ostrożeń. Siewki ostroźnia kiełkują jedynie w miejscach, w których nie występuje konkurencja ze strony innych roślin. Także intensywne wypasanie, w optymalnych warunkach, może się przyczynić do zahamowania rozmnażania wegetatywnego chwastu. Korzystne jest wypasanie bydła, owiec i koni na zachwaszczonych pastwiskach w okresie od maja do lipca, ponieważ zjadają one chętnie młode rośliny ostroźnia. Bydło przyczynia się w większym stopniu do zmniejszenia zachwaszczenia ostrożniem niż owce [4]. Dorosłe rośliny są chętnie zjadane przez kozy. Podobnie jak lamy i osły preferują one kwiaty ostroźnia, zapobiegając tym samym produkcji nasion; te zaś tracą żywotność po przejściu przez układ pokarmowy kóz [2]. Nasiona ostroźnia są ulubionym pokarmem szczygłów [28].

Wieloletnie rośliny pastewne i rośliny o silnym potencjale konkurencyjnym, zwłaszcza zacieniające chwasty, ograniczają rozwój ostroźnia szczególnie w stadium siewki, zmniejszając w konsekwencji liczbę wytwarzanych pączków kwiatowych. W ograniczaniu zachwaszczenia ostrożniem pomocne są także udane zasiewy roślin okrywowych i wsiewki w zboża. Liczbę tworzących się pędów ostroźnia redukują takie rośliny jak mieszanka traw z koniczyną czy żyto ozime [2]. Niekorzystne oddziaływanie allelopatyczne na ostrożeń wykazuje gryka [10], której zastosowanie jako rośliny okrywowej powoduje ograniczenie rozwoju ostroźnia o 80%. Obecności ostroźnia sprzyja zbita gleba. Tu pomocna okazuje się uprawa lucerny o głębokim systemie korzeniowym sprzyjającym spulchnianiu gleby [2, 18, 22, 36]. Kilkuletnia uprawa lucerny z zastosowaniem regularnego koszenia może doprowadzić do wyeliminowania zachwaszczenia ostrożniem [2].

Ostrożeń jest najbardziej wrażliwy na koszenie we wczesnym stadium pączków kwiatowych. Pędy ścięte 4 dni po zakwitnięciu mogą jeszcze wytworzyć nasiona. Aby cięcie zapewniło trwały efekt, powinno być przeprowadzane dwa razy w roku przez kilka lat [2, 18]. Poleca się ścinanie pędów ostroźnia na wysokości 10–15 cm, na

której łądoga jest jeszcze pusta w środku i po ścięciu gromadzi się w niej woda, co ułatwia infekcje przez naturalnie występujące w środowisku bakterie i grzyby, przyspieszające zamieranie roślin. Wprowadzenie drugiego pokosu na łąkach ekologicznych powodowało spadek zachwaszczenia ostrożniem w następnym roku o 15% w stosunku do łąk koszonych jednokrotnie, wprowadzenie kolejnego pokosu w terminie wiosennym zwiększało spadek zachwaszczenia do 30%. W miarę zmniejszania się populacji ostrożnia liczba pokosów może być ograniczana. W przypadku użytkujących mieszanek roślin motylkowych utrzymanie gęstego, zwarteo łąnu roślin okazało się istotniejsze od częstotliwości koszenia [2].

Metodą skuteczniejszą od koszenia jest wrywanie roślin (za pomocą specjalnych długich łopatek, noży lub maszyn analogicznych do tych stosowanych w przypadku szczawiu „Eco-puller”). Wrywanie roślin powoduje, że nowe pędy muszą się rozwijać z korzeni podziemnych, a nie z podstawy łądogi, co przyspiesza ich wyczerpywanie [2, 7, 18, 36]. Ręczne motyczenie okazało się efektywne w uprawie kukurydzy w Stanach Zjednoczonych [2]. Dawniej w Wielkiej Brytanii pola zachwaszczone ostrożniem przeznaczano pod uprawę okopowych (analogicznie jak w przypadku perzu). Związane z nimi uprawki mechaniczne oraz pielenie w rzędach redukowało zachwaszczenie [2, 3].

Zastosowanie uprawy mechanicznej w celu zmniejszenia zachwaszczenia ostrożniem polnym wymaga dużej ostrożności, gdyż niewłaściwie przeprowadzona może mieć dokładnie odwrotny skutek z powodu fragmentacji korzeni i szybkiej regeneracji pędów [2]. Niszczy ona ponadto rośliny dotychczas konkurujące z chwastem, pozwalając na swobodny rozwój wrażliwych na konkurencję siewek ostrożnia. Wykonanie uprawy mechanicznej i następnie siew roślin o wysokim potencjale konkurencyjnym i szybkim początkowym wzroście przeciwdziała takim zjawiskom. Głęboka orka może stanowić najlepszy sposób przemieszczenia korzeni ostrożnia bliżej powierzchni gleby oraz jej rozluźnienia. Po orce można zastosować kultywowanie lub bronowanie. Podobnie jak w przypadku perzu, wyciągnięte na powierzchnię korzenie i pędy można pozostawić w celu ich wysuszenia [22]. Ostrożień regeneruje nawet, jeśli zawartość wody w jego tkankach spadnie do 20% zawartości początkowej [2]. Celem uprawy mechanicznej może być również wyczerpanie korzeni poprzez powtarzające się niszczenie regenerujących pędów [22]. Możliwe jest też wykonanie jesiennej ziębki lub podorywki. Po tej ostatniej należy odczekać aż ostrożień osiągnie wysokość 5–10 cm i zniszczyć go uprawką mechaniczną. Silnemu rozwojowi ostrożnia, spowodowanemu wysokim poziomem nawożenia lub właściwościami przedplonu, zapobiega się stosując po uprawie głównej poplon dobrze zacieniający glebę (rzodkiew oleista, gorczyca, facelia, wyka jara) [22, 30]. Jesienna orka (zwłaszcza głębsza) przyczynia się w dużym stopniu do kontroli zachwaszczenia ostrożniem. Jej zaniechanie (uprawa bez odwrócenia gleby) powoduje gwałtowny wzrost zachwaszczenia [2].

Silne zachwaszczenie ostrożniem może wymusić zastosowanie czarnego ugoru. Regularna uprawa powinna zapewnić dokładne wysuszenie korzeni. Uprawa co trzy tygodnie przez jeden sezon zmniejszyła zachwaszczenie ostrożniem o 99% [2]. Uważa się, że terminy uprawek powinny być dostosowane do zmiennego tempa regeneracji roślin oraz warunków glebowych i pogodowych. Optymalnym momentem wykonania kolejnej uprawki zakłócającej rozwój nowych pędów może być wysokość 7,5 cm [2] lub stadium 8 liści [15], kiedy to części podziemne mają najmniejszą suchą masę, a tym samym minimalną zdolność regeneracji. W efekcie wymaga to około 6–8 uprawek w ciągu roku. Efektywność uprawek zależy też od ekotypu ostrożnia. Håkansson [16] podaje możliwość wykorzystania świń do ograniczenia zachwaszczenia ostrożniem na zasadzie podobnej do opisanego zwalczania perzu, czyli przez zastosowanie tzw. „świńskiego ugoru”.

Najsukuteczniejszą metodą zmniejszania zachwaszczenia ostrożniem polnym jest systematyczne i konsekwentne łączenie dostępnych praktyk, uwzględniające warunki konkretnego gospodarstwa. Do stosowanego płodozmianu można włączyć odpowiednie uprawki, koszenie, uprawę roślin silnie konkurencyjnych lub o wysokim potencjale allelopatycznym. Wybrana strategia powinna być uzasadniona ekonomicznie. Poleca się zastosowanie następującego zestawu zabiegów: pogłębiana trzykrotna podorywka, wysiew wyki kosmatej *Vicia villosa* ROTH i żyta *Secale cereale* L.; skoszenie mieszanki w maju następnego roku; głęboka orka; wysiew drugiej mieszanki paszowej (*Trifolium resupiantum* L. i *Lolium multiflorum* LAM.); skoszenie na ściółkę w lipcu i wrześniu. Jest to rozwiązanie korzystne w przypadku gospodarstw bezinwentarzowych. W przypadku dysponowania żywym inwentarzem, skuteczniejszym rozwiązaniem w perspektywie długoterminowej jest kontynuowanie uprawy mieszanki koniczyny z trawami wysianej w uprawę żyta, trzykrotne jej skoszenie i na końcu pozostawienie na polu w postaci ściółki [23]. Kluczową rolę odgrywa tutaj zastosowana mieszanka i stan jej ładu, który jest bardziej istotny niż ilość wykonanych pokosów. Graglia i in. [14] stwierdzili liniowy wpływ zwiększania liczby pokosów na redukcję nadziemnej masy ostrożnia polnego. Sześć pokosów bez wykonywania podorywki pozwoliło osiągnąć poziom kontroli uzyskany po zastosowaniu trzech pokosów i podorywki. Autorzy podkreślali też skuteczność rzędowej uprawy zbóż (rzędy co 24 cm) połączonej z intensywnym ich opielaniem.

Najnowszymi metodami kontrolującymi *C. arvensis*, znajdującymi praktyczne zastosowanie w Ameryce Północnej, są metody biologiczne [2]. Ich stosowanie w warunkach europejskich jest utrudnione, gdyż ostrożień pochodzi z Europy. Z kolei wrogowie naturalni ostrożnia w Europie nie mają wrogów naturalnych w Ameryce i mogą się tam w odpowiednich warunkach namnażać do poziomów zapewniających skuteczną kontrolę chwastu. Organizmami rozpatrywanymi w walce biologicznej z *C. arvensis* są szkodniki np., pchełki *Altica carduorum* GUER., ryjkowcowate *Ceutorhynchus litura* F. i galasówka *Urophora cardui* MEIGEN. Mogą one ułatwiać infekcje innym szkodnikom i chorobom poprzez uszkodzanie roślin. Jako przykład

patogenów grzybowych i bakteryjnych można wymienić skuteczną w Ameryce Północnej rdzę *Puccinia obtegens* (Link) Tul. (osłabia rośliny i zapobiega kwitnieniu) oraz *Puccinia punctiformis* (F. STRAUSS) RÖHL. (zmienia zapach kwiatów), pasożytniczą bakterię *Pseudomonas syringae*. Możliwe jest addytywne działanie poszczególnych organizmów, ale także wzajemnie hamujące. Liczbę nasion mogą zmniejszać żywiące się nimi owady np., muszka *Dasyneura gibsoni* FELT i mucha *Orellia ruficanda* – do 26%. Istnieje też chwast pasożytniczy – rzadko występująca zaraza ostrożeńiowa *Orobanche reticulate* WIMM. & GRAB. (Yorkshire, UK) [2].

W zwalczaniu ostrożnia polnego (podobnie jak w zwalczaniu szczawiu tępolistnego) stosowano niegdyś granulaty kainitu. W Stanach Zjednoczonych stosuje się w tym celu 5% ocet winny. Szczególną skuteczność środki te wykazują w stadium rozety. W Stanach Zjednoczonych, Nowej Zelandii i Australii w ograniczaniu zachwaszczenia ostrożniem stosuje się naturalne ekstrakty z takich roślin jak palczatka cytrynowa *Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF, goździki *Dianthus* sp., pinia *Pinus pinea* L. Jednak stosowanie tych preparatów (kainitu, octu) niesie ze sobą pewne wątpliwości w kontekście rolnictwa ekologicznego [24].

Szczaw tępolistny i kędzierzawy – *Rumex obtusifolius* L. i *R. crispus* L.

Szczawie stanowią poważny problem na gruntach ornych (*R. crispus*) i na trwałych użytkach zielonych (*R. obtusifolius*), wcześniej kolonizują zdegradowane tereny. Występują prawie na wszystkich typach gleb, szczególnie na glebach gliniastych. Problem zachwaszczenia tymi gatunkami jest powszechny – dotyczy 70% gospodarstw w Niemczech i 60% pastwisk w Japonii. W Europie Środkowej 80% wszystkich herbicydów stosowanych na trwałych użytkach zielonych służy kontroli tych gatunków. W przyszłości problem zachwaszczenia gatunkami *Rumex* będzie wzrastał. Obawa przed wzrostem zachwaszczenia tymi gatunkami jest jedną z przyczyn powstrzymujących rolników od przejścia na ekologiczny system gospodarowania. Występowanie obu gatunków wskazuje na nieprawidłową gospodarkę gruntami rolnymi, podwyższoną koncentrację azotu w roztworze glebowym oraz zbiorność gleby (szczególnie *R. crispus*) [35].

Szczawie obniżają wartość paszową zielonki, jej strawność, zmniejszając tym samym wydajność użytków zielonych. Występowanie 10 roślin *R. obtusifolius* na 1 m² lub pokrycie powierzchni gleby w 30% powoduje obniżenie plonów z runi życicy o ok. 30%. Liście i części podziemne szczawiu zawierają specyficzne substancje biologicznie aktywne (m.in. kwas chryzofanowy), powodujące zaburzenia funkcjonowania przewodu pokarmowego oraz dermatozy u bydła spożywającego te rośliny w dużych ilościach. Przypuszcza się także szkodliwe działanie wysokiej zawartości szczawianów i azotanów w liściach [35]. Z kolei pyłek szczawiu ma działanie alergizujące [33].

Nasiona szczawiu kiełkują przez cały okres wegetacyjny, z maksimum w okresie wiosennym i wczesno jesiennym. Intensywność kiełkowania wzrasta przy zwiększonych dawkach nawożenia azotowego. Siewki charakteryzuje niska zdolność konkurencyjna, szczególnie wrażliwość na zacienienie. Przełomowym momentem w rozwoju rośliny jest wytworzenie korzenia palowego – szczaw zyskuje wtedy przewagę nad innymi gatunkami. Najintensywniejszy rozwój systemu korzeniowego ma miejsce wiosną. Zaczątkiem nowej rośliny mogą być kłącza długości 0,5 cm. Nie są one jednak w stanie wytworzyć pędów nadziemnych, jeśli znajdują się na głębokości większej niż 30 cm. Większość pąków odnawiających znajduje się w glebie na głębokości 3 do 12 cm. Minimalny poziom rezerw pokarmowych osiągany jest w fazie, w której liście mają około 5 cm [35].

Celem kontroli zachwaszczenia gatunkami z rodzaju *Rumex* jest: 1) przeciwdziałanie tworzeniu i gromadzeniu się nasion oraz 2) osłabianie zdolności do odrastania poprzez usuwanie i niszczenie ich nadziemnych i podziemnych części.

W przypadku szczawiu możliwe jest zastosowanie kontroli biologicznej [35]. Jako potencjalnie przydatne do tego celu rozważa się około 30 gatunków owadów roślinożernych i 20 gatunków grzybów. Najwięcej badań przeprowadzono nad chrząszczem *Gastrophysa viridula* DEGEER i rdzą *Uromyces rumicis* (SCHUMACH.) G. WINTER. Wykazano, że działanie chrząszczy zmniejsza u szczawiu produkcję nasion, zdolność regeneracji oraz wzrost liści i korzeni. Rzadko prowadzi to jednak do zamierania roślin. Podobnie jest w przypadku zastosowania grzybów (m.in. *U. rumicis*), które dodatkowo powodowały gnicie roślin. Grzyby i owady wykazują działanie addytywne i nie jest ono zmieniane przez zwiększone dawki nawożenia. Efektywność biologicznej kontroli może być zwiększona jednoczesnym stresem środowiskowym i presją ekologiczną.

Pośredni i bezpośredni wpływ na stopień zachwaszczenia pastwiska ma jego wypasanie, zmieniające konkurencyjność sąsiadujących roślin. Szczaw jest z reguły unikany przez pasące się zwierzęta, ewentualnie zjadany w młodych stadiach przez bydło, owce i konie. Stanowi przysmak jeleniowatych [35]. Niektóre zwierzęta konsumują nawet dojrzałe 1,5 metrowe egzemplarze szczawiu. Stara rasa owiec (*Ovis aries* L. cv. East Prussian Skudden), pochodząca z nadbałtyckich terenów Prus Wschodnich, była z powodzeniem wykorzystywana do zwalczania szczawiu tępolistnego (*R. obtusifolius*). W przeciwieństwie do powszechnie panującego poglądu, rasa Skudden (i prawdopodobnie inne stare rasy owiec) pobiera paszę nieselektywnie. W czasie doświadczenia z poletek wypasanych zniknęło trzy razy więcej roślin szczawiu niż z poletek wykaszanych, szczególnie ucierpiały rośliny średnie i duże (o średnicy 40 cm). Elementem pośredniej kontroli *R. obtusifolius* przez owce Skudden było wytwarzanie się zwartej runi ze zwiększającym się kosztem roślin motylkowych udziałem traw. Ogranicza to powierzchnię pozwalającą na skiełkowanie nasion oraz na odrastanie z pączków na kłączach. Zwiększana jest również zdolność konkurencyjna innych roślin wobec tego chwastu [34].

Zapewnienie gęstej, zwartej i żywotnej runi o dużej zdolności konkurencyjnej, osiągnięte dzięki ciągłemu podsiewowi lub/i zastosowaniu wysokich norm wysiewu, umiarkowane nawożenie i dopasowany do miejscowych warunków system wypasania, w znacznym stopniu ograniczają zachwaszczenie szczawiem. Siewki szczawiu zajmują tylko puste miejsca w runi, a na ich wzrost negatywnie wpływa zacienienie. Zatem metody kontroli polegające na konkurencji o światło mogłyby być skuteczne. Z powodu bardzo dużej zdolności odrastania szczawiu, w dłuższym okresie konkurencja ze strony traw może być niewystarczająca [22, 34].

Straty plonu traw są większe w przypadku koszenia użytków zielonych w porównaniu z systemem wypasania (odpowiednio 16 i 70%) [35]. Koszenie wyczerpuje zawartość węglowodanów w roślinach szczawiu, przyczyniając się jednocześnie do zmniejszania zaopatrzenia glebowego banku nasion. Im częstsze koszenie, tym bardziej niekorzystne oddziaływanie. *R. obtusifolius* wykazuje większe zdolności odrastania oraz produkcji nasion niż *R. crispus*. Ze względu na szybkie uzupełnianie przez *R. obtusifolius* węglowodanów w korzeniach (2–3 tygodnie) pokosy należałoby przeprowadzać co 2 tygodnie. Przy podwyższonym poziomie nawożenia azotem zwiększa się wpływ zróżnicowania reżimu koszenia [9, 30, 35].

W niektórych przypadkach ręczne lub maszynowe wyrywanie roślin stanowi jedyny skuteczny sposób kontroli zachwaszczenia szczawiem. Za próg ograniczający opłacalność zwalczania pojedynczych roślin uważa się 2000 szt. · ha⁻¹. Samojezdne maszyny do wyrywania szczawiu są bardziej efektywne czasowo niż ręczne wyrywanie i wypalanie systemem infra-red. Metoda Mosimanna, polegająca na ręcznym usuwaniu specjalnym narzędziem całych młodych roślin wraz z korzeniem zapasowym do głębokości 15 cm, jest polecana przez Instytut Uprawy Roślin w Zurychu. Pole zostaje oczyszczone po trzech latach jej stosowania [29, 30].

Jeśli stopień zachwaszczenia szczawiem uniemożliwia ręczną jego kontrolę, rozwiązaniem może być płytka orka przecinająca rośliny poniżej strefy wytwarzania pączków, co zapobiega regeneracji z korzeni palowych. Z uwagi na minimalną długość fragmentów kłącza umożliwiającego wybicie w nową roślinę konieczne jest usunięcie ich z uprawianej powierzchni, co wiąże się z wyniesieniem pewnej puli składników pokarmowych [30].

W przypadku gruntów ornych zróżnicowany płodozmian włączający regularnie stosowane środki kontroli zachwaszczenia, takie jak bronowanie, wysoka norma siewu czy sadzenia i zwarta okrywa roślinna zapobiega wystąpieniu problemu zachwaszczenia szczawiem. Ostatnio stwierdzono pozytywny wpływ wysiewu lucerny o niskiej zimotrwałości w podwyższonej normie siewu na ograniczanie wschodów szczawiu kędzierzawego [35].

Uprawa mechaniczna jest często rekomendowana jako podstawowy środek niechemicznej kontroli dużego zachwaszczenia szczawiem na gruntach ornych, a nawet na użytkach zielonych. Orka wyciągająca z gleby 7 cm górnych części korzeni, pozwalająca na ich zniszczenie poprzez wysuszenie i wymrożenie, pozbawia je

zdolności regeneracji. Modyfikacją tej metody jest ogłowienie szyjki korzeniowej na tej samej głębokości, a następnie wykonanie orki głębokiej [30]. Jednak uprawa gleby rozprowadza kłącza po powierzchni pola. Lampkin [22] opisuje metodę kolejnych, coraz głębszych, uprawek glebogryzarką (1 cm – 3 cm – 5 cm) w momencie wytworzenia przez odbijające rośliny liści długości 5 cm, w celu wyczerpania rezerw pokarmowych. Metoda ta jednak, poza ryzykiem rozwleczenia kłączy, grozi zniszczeniem struktury gleby. Kielkowaniu *R. crispus* sprzyja mieszanie gleby w czasie orki. Stymulujący wpływ na kiełkowanie *Rumex* ma nawożenie azotem tuż przed lub po wykonaniu uprawy gleby. Późniejsze zastosowanie nawożenia azotowego nie ma już takiego wpływu. Stymulacja kiełkowania nawożeniem azotowym pozwala niszczyć kolejne wschody siewek przed stadium wytworzenia korzenia palowego (szczególnie w przypadku *R. crispus*) [22, 32].

Nasiona szczawiu niszczone są w trakcie kompostowania obornika, gdy temperatura stosu przekracza 55°C. Nie wyklucza się w tym przypadku udziału nietermofilnych organizmów antagonistycznych. Napowietrzanie gnojówki przez kilka dni może całkowicie znieść zdolność nasion do kiełkowania. Ważne jest usuwanie roślin z miejsc niewykorzystywanych rolniczo: miedz, przydroży i odłogów [32].

Podsumowanie

Znajomość biologii chwastów jest niezbędna do podjęcia prawidłowych działań w celu ograniczenia zachwaszczenia w odpowiednim czasie. Ograniczanie zachwaszczenia gatunkami wieloletnimi bazuje na niszczeniu lub osłabianiu systemu korzeniowego, który stanowi główne źródło ich siły i trwałości oraz na zapobieganiu wytwarzaniu i rozprzestrzenianiu nasion. Przy zabiegach uprawowych należy wziąć pod uwagę głębokość zasięgu systemu korzeniowego, a właściwie głównej jego masy. Stosowane w rolnictwie ekologicznym metody polegają, z reguły, na mechanicznym usuwaniu korzeni i rozłogów, „głodzeniu” przez pielenie i podcinanie pędów nadziemnych, zagłuszaniu przez rośliny zacieniające, takie jak mieszanki motylkowo-zbożowe, gryka czy gorczyca biała, wykorzystywaniu potencjału allelopatycznego uprawianych gatunków. Ważne jest również zbilansowane nawożenie azotowe, unikanie niszczenia darni w przypadku trwałych użytków zielonych, prawidłowe kompostowanie obornika oraz stosowanie materiału siewnego z certyfikatem potwierdzającym jego czystość.

Istotne jest podejście systemowe, wykorzystujące całe spektrum dostępnych środków oraz konsekwentne i dopasowane do zmieniającej się sytuacji postępowanie [5, 6]. Chwasty wieloletnie łatwiej kontrolować w gospodarstwach posiadających dział produkcji zwierzęcej, zapewniający wewnętrzny popyt na plony mieszanek motylkowo-zbożowych czy mieszanek koniczyny z trawami. W dzisiejszych czasach warto ponownie zwrócić uwagę na otoczenie pól i gospodarstwa oraz pielęgnację tych terenów.

Literatura

- [1] Bertholdsson N-O. 2005. Early vigour and allelopathy – two useful traits for enhanced barley and wheat competitiveness weeds. *Weed Research* 45: 94–102.
- [2] Bond W., Turner R. 2004. The biology and non-chemical control of Creeping Thistle (*Cirsium arvense*). <<http://www.gardenorganic.org.uk/organicweeds>>.
- [3] Bond W., Davies G., Turner R. 2006. The biology and non-chemical control of common couch (*Elytrigia repens* (L.) NEVSKI). <<http://www.gardenorganic.org.uk/organicweeds>>.
- [4] Bond W., Davies G. 2007. The use of livestock for weed management. <<http://www.gardenorganic.org.uk/organicweeds>>.
- [5] Bond W., Grundy A.C. 2001. Non-chemical weed management in organic farming systems. *Weed Research* 41: 385–405.
- [6] Davies D.H.K., Welsh J.P. 2002. Weed control in organic cereals and pulses. W: Organic Cereals and Pulses Younie D., Taylor B.R., Welsh J.P., Wilkinson J.M. (red.), Chalcombe Publications: 77–114.
- [7] Demianowiczowa Z. 1946. Chwasty. Państwowe Zakłady Wydawnictw Szkolnych. Warszawa.
- [8] Duval J. Quackgrass (*Elytrigia repens*) control methods in organic agriculture. <http://www.organiccentre.ca/Docs/Quackgrass_final_rev_JD.pdf>.
- [9] Dzieżyc J. 1962. Zwalczenie chwastów. PWRiL. Warszawa.
- [10] Eskeles S.R., Crabtree G.D. 1995. The role of allelopathy in buckwheat (*Fagopyrum sagittatum*) inhibition of Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Science* 43: 70–74.
- [11] Glemnitz M., Radics L., Mackensen K. 2006. Status quo of weed management in organic farming in the new EU member states and acceding countries. *J. of Plant Diseases and Protection* XX: 627–634.
- [12] Glinwood R., Ninkovic V., Pettersson J., Ahmed E. 2004. Barley exposed to aerial allelopathy from thistles (*Cirsium* spp.) becomes less acceptable to aphids. *Ecological Entomology* 29: 188–195.
- [13] Golsz A., Łata B., Fujii Y., Gawroński S.W. 2008. Allelopathic potential of phytochemicals in various cultivars of buckwheat. *Allelopathy Journal* 22(1): 35–46.
- [14] Graglia E., Melander B., Jensen R.K. 2006. Mechanical and cultural strategies to control *Cirsium arvense* in organic arable cropping systems. *Weed Research* 46: 304–312.
- [15] Gustavsson A.-M. D. 1997. Growth and regenerative capacity of plants of *Cirsium arvense*. *Weed Research* 37: 229–236.
- [16] Hakansson S. 2003. Weeds and weed management on arable land: an ecological approach. CABI Publishing.
- [17] Horvath J., Kazinczi G., Beres I., Takacs A. 2005. The effect of *Cirsium arvense* plant residues on the germination of some crops. <http://www.regional.org.au/au/allelopathy/2005/2/1/2755_hovarthj.htm>.
- [18] Juraszkówna H. 1930. Chwasty i ich tepienie. Kalendarz Gospodarski na Rok Pański 1930. Warszawa.
- [19] Kephart L.W. 1923. Quackgrass. USDA Farmer's Bulletin No. 1307: 32 ss.
- [20] Kluk K. 1779. Roślin potrzebnych, pożytecznych, wygodnych, osobiwie kraioowych, albo, które w kraiu, użyteczne być mogą, utrzymanie, rozmnażanie i zażycie. Drukarnia Jego Królewskiej Mci i Rzeczpospolitej XX Szkoła Pijarów: Warszawa: 178.
- [21] Kukuła S. 2000. Zbiorowiska chwastów w gospodarstwach ekologicznych. IUNG. Zeszyt specjalny. Pam. Puł. Zeszyt 122. Puławy.
- [22] Lampkin N. 2002. Organic Farming. Old Pond Publishing. Ipswich.
- [23] Lukashyk P., Berg M., Köpke U. 2006. Strategies for controlling *Cirsium arvense* in organic crop production. Joint Organic Congress. Odense. Denmark. <<http://orgprints.org/7251/>>.
- [24] Lukashyk P. 2005. Problemunkräuter im Organischen Landbau: Entwicklung von Strategien zur nachhaltigen Regulierung von Ackerkratzdistel *Cirsium arvense* (L.) SCOP. und Rauhaarige Wicke *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray; Verlag Dr. Köster; Berlin.
- [25] McIntyre G.I. 1965. Some effects of nitrogen supply on the growth and development of *Agropyron repens* L. BEAUV. *Weed Research* 5: 1–12.
- [26] Melander B. 1993. Modelling the effects of *Elymus repens* (L.) Gould competition on yield of cereals, peas and oilseed rape. *Weed Research* 33: 99–108.
- [27] Mitich L.W. 1987. Intriguing World of Weeds – The devil's grass: quackgrass. *Weed Technology* 1: 184–185.
- [28] Mitich L.W. 1988. Intriguing World of Weeds – Thistles I: *Cirsium* and *Carduus*. *Weed Technology* 2: 228–229.

- [29] Siebeneicher G.E. 1997. Podręcznik rolnictwa ekologicznego dla różnych kierunków i dziedzin. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.
- [30] Sołtysiak U. (red.) 1994. Rolnictwo ekologiczne w praktyce. Stowarzyszenie EKOLAND, Stiftung LEBEN & UMWELT . Warszawa.
- [31] Świętochowski B., Gonetowa I. 1960. Studia nad wzajemnym oddziaływaniem roślin segetalnych (chwastów) i roślin uprawnych. Cz. I. Wpływ wyciągów i wydzielin korzeniowych perzu na kiełkowanie nasion zbóż chlebowych. *Zesz. Nauk. WSR Wroc., Roln.* 11: 32.
- [32] Tymrakiewicz W. 1959. Atlas chwastów. PWRiL. Warszawa.
- [33] Woźnica Z. 2008. Herbologia. Podstawy biologii, ekologii i zwalczania chwastów. PWRiL. Poznań.
- [34] Zaller J.G. 2005. Sheep grazing vs. cutting: regeneration and soil nutrient exploitation of the grassland weed *Rumex obtusifolius*. *BioControl* (2006) 51: 837–850.
- [35] Zaller J.G. 2004. Ecology and non-chemical control of *Rumex crispus* and *R. obtusifolius* (*Polygonaceae*): a review. *Weed Research* 44: 414–432.
- [36] Zieliński W.J. 1912. Chwasty i walka z nimi. Spółka Wydawnicza „Biblioteka Rolnicza”. Warszawa–Lwów
- [37] Zimdahl R.L., 1993. Fundamentals of Weed Science. Academic Press Inc. San Diego, California.

Burdensome perennial weeds in organic farming

Keywords: weed control, non-chemical methods, *Elymus repens*, *Cirsium arvense*, *Rumex* sp.

Summary

The knowledge of target weeds biology is crucial in their control. Generally, perennial weed control relies on damage of their rhizomes and inflorescence in pinpointed phases. That means mechanical destroying of rhizomes, causing plant starvation by repeatable removing of above ground parts, disconnecting them from underground ones or by implementing shadowing plants (very often with additional allelopathic properties) like buckwheat, white mustard or grasses with clover. Other important factors are nitrogen supply, avoiding sod damage, proper manure composting and sowing seeds without weed seeds contamination. It is easier to control perennial weeds on mixed farms with animals due to an inner demand for forage out of mashlum or grass-clover mixtures. The forgotten but earlier implied practice is taking care of farm surroundings and cutting them in the summer time.

Współczesne poglądy na pojęcie spoczynku nasion

Anna Bochenek¹, Janusz Gołaszewski², Irena Gielwanowska¹

¹*Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
ul. Oczapowskiego 1a, 10-718 Olsztyn-Kortowo,*

²*Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa,, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Plac Łódzki 3, 10-724 Olsztyn-Kortowo
e-mail: anna.bochenek@uwm.edu.pl*

Słowa kluczowe: spoczynek nasion, klasyfikacja spoczynku, kiełkowanie, nasiona chwastów, bank glebowy

Wstęp

Spoczynek nasion jest zjawiskiem fizjologicznym szczególnie ważnym dla rolnictwa. Jest tak, pomimo że duża część nasion roślin uprawnych w wyniku zabiegów hodowlanych utraciła zdolność do zapadania w spoczynek. Spoczynek nasion roślin uprawnych stwarza wiele trudności w działalności gospodarczej, między innymi utrudnia kontrolę zachwaszczenia, powoduje duże kłopoty w ocenie materiału siewnego i jest przyczyną konieczności stosowania specjalnych zabiegów w celu jego przełamania. Z drugiej strony jest pożądanym, aby nasiona uprawne przechodziły chociaż krótki okres spoczynku. Zapobiega to przedwczesnemu kiełkowaniu nasion przy sprzecznej w niesprzyjających warunkach pogodowych i umożliwia uniknięcie poważnych strat. W rejonach klimatycznych o wysokich opadach, zbiór i magazynowanie nasion niespoczynkowych byłyby bardzo utrudnione, a rozmnażanie przez nasiona ograniczone. Na ogół im głębszy jest spoczynek nasion, tym łatwiejsze jest ich przechowywanie [24, 11].

Szczególne znaczenie spoczynku nasion dla rolnictwa wynika też z faktu, że nasiona chwastów wyposażone są zwykle w różne mechanizmy spoczynkowe, dzięki którym nie kiełkują one natychmiast. Mechanizmy te pozwalają na wschody w czasie, kiedy jest to najbardziej korzystne dla wzrostu i rozwoju nowej rośliny. Nasiona spoczynkowe nie kiełkują, co powoduje, że tworzą one bank nasion i nie funkcjonują już jako pojedyncze osobniki, ale jako populacja zalegająca w glebie. Glebowe banki nasion chwastów są olbrzymim problemem dla rolnictwa. Zachwaszczenie powoduje straty w plonowaniu upraw porównywalne z tymi, jakie są skutkiem chorób i szkodników roślin uprawnych. Wschody chwastów na polach uprawnych prawie w całości

pochodzą z nasion, które tworzą glebowy bank. Stąd kontrola zachwaszczenia gruntów ornych musi być związana z poznaniem funkcjonowania glebowych banków nasion. Manipulowanie glebowymi rezerwami nasion może być ważnym narzędziem kierowania wegetacją nadziemną. Z tych przyczyn wiedza na temat spoczynku nasion i związana z tym znajomość funkcjonowania glebowych banków nasion jest tak ważna dla nauk rolniczych [10, 11].

Najważniejszym stanem fizjologicznym, który decyduje o kiełkowaniu nasion chwastów z glebowego banku jest ich spoczynek, jego rodzaj, głębokość, a także kierunek i dynamika jego zmian [9, 10, 21].

Definicje spoczynku nasion

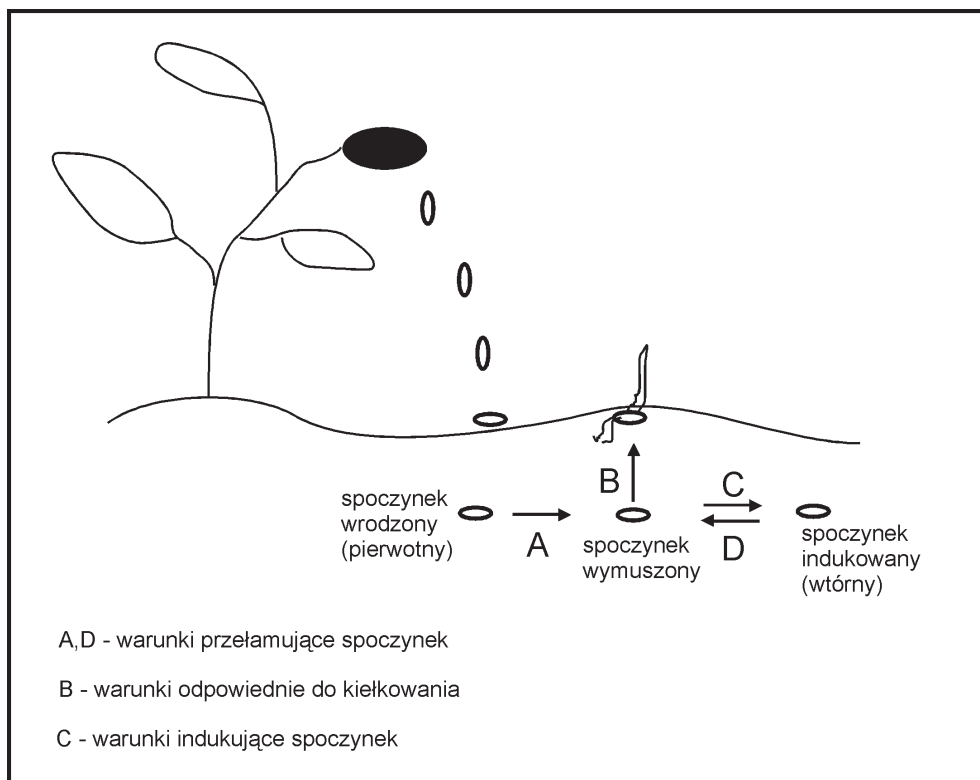
Pojęcie spoczynku nasion, wbrew pozorom, nie jest łatwe do zdefiniowania. Niektórzy autorzy [1, 8, 18, 33] nie podają definicji spoczynku, traktując go jako coś intuicyjnie oczywistego i jasnego dla wszystkich. Definicja spoczynku jest trudna, ponieważ może on być mierzony tylko brakiem kiełkowania. My możemy obserwować sfinalizowanie kiełkowania pojedynczego nasienia jako wydarzenie o charakterze „wszystko albo nic”, podczas gdy w rzeczywistości spoczynek pojedynczego nasienia może mieć każdy poziom między „wszystkim” (maksymalny poziom spoczynku) i „niczym” (brak spoczynku) [21]. Stąd współcześnie postuluje się, że definicja spoczynku nie powinna być związana z brakiem kiełkowania, ale raczej wiązać się z charakterystyką nasienia, która określa warunki wymagane do kiełkowania [20, 38, 39]. W literaturze są przedstawione liczne definicje i klasyfikacje spoczynku diaspor, a nomenklatura często jest myląca i niejednoznaczna, co prowadzi do nieporozumień między ekologami, fizjologami i rolnikami. Na przykład, wielopoziomowy system klasyfikacyjny zaproponowany przez Baskin i Baskin w 2004 [5] odzwierciedla typowo ekologiczny punkt widzenia na regulację spoczynku nasion, co nie w pełni zadowala rolników i fizjologów roślin. Ciągłe bardzo niewiele wiadomo o klasach, poziomach i typach tego systemu na poziomie molekularnym, z wyjątkiem klasy spoczynku fizjologicznego o poziomie niegłębokim (ang. non-deep physiological dormancy). Głównym powodem różnych poglądów na temat spoczynku jest nasza bardzo niewielka wiedza o jego mechanizmach. Jednak, mimo tych trudności, dla prowadzącego badania szczególnie ważna jest próba precyzyjnego zdefiniowania i nazwania zjawiska, będącego przedmiotem studiów.

Zauważono wyraźną ewolucję definicji spoczynku diaspor. Te wcześniejsze określały spoczynek jako brak lub blokowanie kiełkowania, nowsze uwzględniają warunki środowiska, a także szerokość ich zakresu, w jakim nasiona mogą kiełkować. Grzesiuk i Kulka w 1981 roku [24] termin spoczynek definiowali jako „wszystkie zahamowania zdolności zarodka do wzrostu, braku gotowości lub skłonności do kiełkowania, bez względu na przyczyny tego zjawiska”. Bouwmeester w 1990 roku [13] określił go po prostu jako niezdolność nasienia do kiełkowania. Podobnie

Hilhorst i Toorop w 1997 roku [27] stwierdzili, że podstawową cechą spoczynku jest po prostu brak kiełkowania. Według Bewley'a [7] za spoczynek uważa się niemożność zakończenia procesu kiełkowania przez żywe i nieuszkodzone nasienie, pomimo sprzyjających do kiełkowania warunków. Foley i Fennimore w 1998 roku [23] definiowali spoczynek jako brak kiełkowania dojrzałego, nienaruszonego nasienia w świetlnych, termicznych, wodnych i tlenowych warunkach, które normalnie sprzyjają kiełkowaniu w danym okresie. Bouwmeester i Karssen w 1992 roku [16] oraz Vleeshouwers i in. w 1995 [39] podkreślili, że rzetelna koncepcja spoczynku powinna wyraźnie rozróżniać wewnętrzne i zewnętrzne czynniki, które oddziałują na kiełkowanie nasion. W związku z tym Benech-Arnold i in. w 2000 roku [6] zaproponowali, że spoczynek jest wewnętrznym stanem nasienia, który utrudnia mu kiełkowanie, pomimo odpowiednich wodnych, termicznych i gazowych warunków. Bardziej przydatną, w eksperymentalnej pracy badawczej, definicję sformułowali w 2004 roku Baskin i Baskin [5]: za spoczynkowe uznajemy takie nasienie (lub inną jednostkę kiełkowania), które nie ma zdolności do kiełkowania w specyficznym czasie i kombinacji fizycznych warunków środowiskowych (temperatura, światło/ciemność, potencjał wodny itp.), które normalnie sprzyjają jego kiełkowaniu lub po działaniu których staje się ono niespoczynkowe. Najbardziej współczesną definicję przedstawili w 2006 roku Finch-Savage i Leubner-Metzger [21], którzy za spoczynek uważają taką charakterystykę nasienia, która definiuje czynniki wymagane do kiełkowania, a ponadto każdy sygnał z otoczenia, który poszerza środowiskowe wymagania do kiełkowania powinien być uznawany za czynnik przełamujący spoczynek.

Klasyfikacje spoczynku nasion

Najszerzej przyjętą i ogólnie akceptowaną klasyfikację spoczynku oparto na obserwowanym zachowaniu się nasion, a nie na głębokim zrozumieniu jego biochemicznych i fizjologicznych podstaw. Roberts [37], przejmując terminologię od Harpera [25], wyszczególnił 3 rodzaje spoczynku nasion: wrodzony (ang. innate), wymuszony (ang. enforced) i indukowany (ang. induced) (rys. 1). Spoczynek wrodzony mają dojrzałe nasiona w momencie rozsiewania, czyli opuszczenia rośliny matecznej. Nasiona charakteryzujące się spoczynkiem wrodzonym nie są zdolne do kiełkowania nawet w odpowiednich warunkach środowiska do czasu, kiedy ten spoczynek ustąpi. O nasieniu niespoczynkowym, które nie kiełkuje z powodu braku jednego lub większej liczby odpowiednich warunków do kiełkowania mówi się, że jest ono w spoczynku wymuszonym, zwanym też stanem „wyciszenia” (ang. quiescence) [6] lub pseudospoczynkiem (ang. pseudodormancy) [26, 30]. „Wyciszenie” wchodzi w skład pojęcia „ekospoczynku” (ang. ecodormancy) wyróżnionego przez Langa [32, 33], który stworzył „uniwersalny system”, składający się jeszcze z „endospoczynku” (ang. endodormancy) i „paraspoczynku” (ang. paradormancy), początkowo nazywanego „ektospoczynkiem” (ang. ectodormancy). Pojęcie spoczynku „narzuconego”



Rysunek 1. Klasyfikacja spoczynku nasion oparta na obserwowanym zachowaniu się nasion

(ang. imposed dormancy) oznacza brak kiełkowania spowodowany przez czynniki środowiska otaczającego zarodek i mieści w sobie zarówno pseudospoczynek, eko-spoczynek jak i paraspoczynek, związany ze strukturami anatomicznymi nasienia powstrzymującymi wzrost zarodka. Spoczynek, który pojawia się w nasionach po utracie spoczynku wrodzonego nazywa się spoczynkiem indukowanym.

Według Karssena [29] wyróżnianie spoczynku wymuszonego jest błędem, gdyż jest to tylko brak odpowiednich warunków do kiełkowania. Autor ten sugeruje też używanie innej terminologii spoczynku nasion. Spoczynek pierwotny (ang. primary dormancy), porównywalny ze spoczynkiem wrodzonym, jest według niego stanem spoczynku nasienia świeżo zrzuconego przez roślinę. Takie nasiona spadając na powierzchnię gleby, a następnie w różny sposób dostając się w jej głąb, wchodzą w skład glebowego banku nasion. Kiedy spoczynek pierwotny ustępuje i istnieją odpowiednie warunki środowiska, nasiona kiełkują. Jeśli kiełkowanie nie zachodzi, może rozwijać się spoczynek wtórny (ang. secondary dormancy), porównywalny z indukowanym, który może ustępować i ulegać reindukcji podczas wielu kolejnych lat. Podczas zalegania w glebowym banku nasiona przechodzą ciągle zmiany spoczynku, zarówno pod względem jego poziomu (głębokości), jak i rodzaju [13].

Nikolaeva [34, 35] skonstruowała system klasyfikacji spoczynku, w którym uwzględniła zarówno fizjologiczne jak i morfologiczne podstawy spoczynku. Wielu autorów twórczo rozwinęło ten schemat. Wymienić tu należy system zaproponowany przez Grzesiuka i Kulkę [24], którzy podzielili spoczynek nasion na 3 typy: spoczynek wywołany czynnikami natury anatomicznej, spoczynek wywołany czynnikami fizjologicznymi i spoczynek wywołany obu przyczynami jednocześnie. Wymienieni autorzy podzielili każdy z typów spoczynku nasion na 2 do 4 rodzajów. W ostatnich latach Baskin i Baskin [3, 5] zaproponowali bardzo wszechstronny system klasyfikacyjny, o hierarchicznym układzie, z pięcioma klasami, które następnie zostały podzielone na poziomy i typy (tab. 1). W podziale na klasy wzięto pod uwagę 3 kryteria: przepuszczalność lub nieprzepuszczalność okrywy nasiennej, czy zarodek jest w pełni rozwinięty oraz czy jest fizjologicznie spoczynkowy. Dalszy podział ma charakter ilościowy lub opiera się na reakcji nasion na czynniki środowiska. Ten system w ogóle nie bierze pod uwagę nasion, które nie kiełkują z powodu niecałkowicie zróżnicowanych zarodków. Klasyfikacja zaproponowana przez Baskin i Baskin jest obecnie obok klasyfikacji Roberta-Karssena najszerzej akceptowana i stosowana. Składają się na nią: spoczynek fizjologiczny, morfologiczny, morfofizjologiczny, fizyczny i kombinowany.

Tabela 1. Klasyfikacyjny system spoczynku nasion według Baskin i Baskin [5]

Klasa	Poziom	Typ	
Spoczynek fizjologiczny PD	głęboki	—	
	pośredni	—	
	niegłęboki	1	—
		2	—
		3	—
		4	—
5	—		
Spoczynek morfologiczny MD	—	—	
Spoczynek morfofizjologiczny MPD	niegłęboki prosty	—	
	pośredni prosty	—	
	głęboki prosty	—	
	głęboki epikotylowy prosty	—	
	głęboki podwójnie prosty	—	
	niegłęboki kompleksowy	—	
	pośredni kompleksowy	—	
	głęboki kompleksowy	—	
Spoczynek fizyczny PY	—	—	
Spoczynek kombinowany PY+PD	niegłęboki PD	1	
		2	

Spoczynek fizjologiczny (ang. **physiological dormancy** – PD). Ta klasa jest najczęściej występującą formą spoczynku i jest szeroko rozpowszechniona zarówno wśród nago- jak i okrytozalążkowych. PD jest charakterystyczny dla większości nasion w glebowych bankach nasion klimatu umiarkowanego. Jest to też główna forma spoczynku nasion wielu gatunków modelowych, takich jak *Arabidopsis thaliana*.

na, *Avena fatua* czy *Lactuca sativa*. Z tych powodów fizjologiczny spoczynek został najlepiej zbadany, zarówno pod względem regulacji środowiskowej, jak i molekularnych mechanizmów [15, 21]. Ta klasa spoczynku jest związana z fizjologicznym mechanizmem hamującym wzrost zarodka. Zarodek jest tu w pełni rozwinięty, ale spoczynkowy [9]. PD dzieli się na trzy poziomy: głęboki (ang. deep), pośredni (ang. intermediate) i niegłęboki (ang. non-deep). Większość nasion ze spoczynkiem fizjologicznym ma niegłęboki poziom PD. Zaliczymy tu wiele nasion chwastów, także te należące do rodziny *Asteraceae*, *Solanaceae*, czy *Brassicaceae* [5, 12, 21]. Na podstawie wzorca fizjologicznej odpowiedzi na temperaturę wyróżniono 5 typów niegłębokiego PD. Najpowszechniej występuje pierwszy i drugi typ, w których podczas przejścia ze stanu spoczynku do stanu niespoczynkowego zakres temperatur odpowiednich do kiełkowania stopniowo poszerza się, w pierwszym typie, od temperatur niskich do wysokich, w drugim typie, od wysokich do niskich [5].

Terminy „spoczynek zarodka” (ang. embryo dormancy) i „spoczynek narzucony przez otaczające tkanki” (ang. coat dormancy) są używane w celu odróżnienia dwóch wewnętrznych molekularnych mechanizmów determinujących spoczynek, które mogą mieć składniki albo związane z zarodkiem, albo z tkankami go otaczającymi. Spoczynek zarodka i narzucony przez tkanki go otaczające są składnikami spoczynku fizjologicznego [5, 21].

Spoczynek morfologiczny (ang. morphological dormancy – MD) dotyczy nasion z małym (słabo rozwiniętym) zarodkiem, który jednak jest zróżnicowany (tzn. z liścieniami, stożkiem wzrostu pędu, hipokotylem i korzeniem zarodkowym). Takie zarodki nie są (fizjologicznie) spoczynkowe i nie wymagają specyficznego traktowania, aby przełamać spoczynek. Wzrost zarodka zachodzi po odpadnięciu od rośliny matecznej. MD wykazują często gatunki tropikalne z rodzin *Orchidaceae*, *Liliaceae*, *Magnoliaceae*, *Apiaceae* i in. [21].

Spoczynek morfofizjologiczny (ang. morphophysiological dormancy – MPD) występuje w nasionach z niedorozwiniętymi zarodkami, które w dodatku są fizjologicznie spoczynkowe. Nasiona te wymagają przechowywania w pewnych specjalnych warunkach w celu przełamania spoczynku. Znamy 8 poziomów MPD, wyróżnionych na podstawie temperatury lub sekwencji temperatur wymaganych do ustąpienia spoczynku. Ta klasa spoczynku spotykana jest między innymi w rodzinach *Gentianaceae*, *Campanulaceae*, *Papaveraceae* i *Ranunculaceae* [5, 21].

Spoczynek fizyczny (ang. physical dormancy – PY) jest związany z obecnością w okrywie nasiennej lub owocowej warstwy komórek palisadowych nieprzepuszczalnych dla wody, impregnowanych substancjami hydrofobowymi, takimi jak suberyna, kutyna czy lignina. Zarodek jest tu w pełni rozwinięty i niespoczynkowy. Okrywa nasienna staje się przepuszczalna, jeśli warstwa palisadowa zostanie otwarta lub uszkodzona. Dawniej sądzono, że twarde nasiona ulegają w naturze zmiękczeniu przez mechaniczną, kwasową lub mikrobiologiczną skaryfikację. Obecnie uważa się, że najważniejszym czynnikiem środowiskowym wpływającym na przełamywanie

specjalnych anatomicznych regionów okrywy nasiennej i wchodzenie wody do nasienia jest temperatura. Mechaniczna lub chemiczna skaryfikacja także może przyczyniać się do kiełkowania nasion z niegłębokim PD, ale wydaje się, że jest to związane z obniżeniem oporu tkanek otaczających przed przebicciem ich przez korzeń zarodkowy.

Fizyczny typ spoczynku wykazują nasiona z wielu rodzin, jednak najbardziej znane są przykłady nasion z rodziny *Fabaceae*. Ten typ spoczynku jest drugim co do ważności występującym w nasionach zalegających w bankach glebowych strefy umiarkowanej [2, 4, 5, 9, 40].

Spoczynek kombinowany (ang. combinational dormancy – PY + PD) występuje u nasion z nieprzepuszczalną dla wody okrywą nasienną (lub owocową) i w dodatku z fizjologicznie spoczynkowym zarodkiem. Nasiona w tej klasie spoczynku zwykle potrzebują wysokich zmiennych temperatur do przekształcenia okrywy w przepuszczalną dla wody i niskich zimowych temperatur lub letnich wysokich temperatur do przewyciężenia spoczynku zarodka. Taki spoczynek stwierdzono u przedstawicieli rodzin *Fabaceae*, *Geraniaceae*, *Rhamnaceae* i in. [2, 5].

Jednym ze sposobów oceny głębokości (poziomu) spoczynku nasion jest ich zachowanie się (kiełkowanie) w szerokim zakresie warunków środowiska, np. szerokim zakresie temperatur. Nasiona w pełnym, głębokim spoczynku nie kiełkują w żadnych warunkach środowiskowych [14]. Nasiona wielu gatunków o niegłębokim spoczynku fizjologicznym mogą przechodzić przez całe sekwencje kolejnych, zależnych od temperatury, zmian w możliwościach fizjologicznej reakcji (odpowiedzi) na różne sygnały środowiskowe, pośrednich stanów spoczynku pomiędzy pełnym (głębokim) spoczynkiem i jego brakiem [3, 36]: spoczynek pierwotny → Sc1 → Sc2 → Sc3 → Sc4 → Sc5 → brak spoczynku → Sc5 → Sc4 → Sc3 → Sc2 → Sc1 → spoczynek wtórny → Sc1 itd. Sc1 → Sc5 przedstawiają tu 5 przejściowych stanów fizjologicznych, które stanowią continuum spoczynkowe i określa się je jako spoczynek warunkowy lub względny (ang. conditional dormancy). Nasionie w spoczynku warunkowym nie jest zdolne do kiełkowania w tak szerokim zakresie warunków środowiska jak nasienie niespoczynkowe [5, 6].

Niektórzy autorzy [6, 31] posługują się dodatkowo innymi terminami określającymi spoczynek nasion. Terminy te nie przedstawiają zwykle jakiejś nowej klasy czy rodzaju spoczynku, ale sugerują, w jaki sposób doszło do indukcji niegłębokiego fizjologicznego spoczynku wtórnego. I tak, „spoczynek ciemniowy” (ang. skotodormancy) opisuje się jako utratę wrażliwości na światło, przez nasiona wymagające go do kiełkowania, podczas długiej inkubacji w ciemności [6]. „Termospoczynek” lub „spoczynek termiczny” (ang. thermodormancy) rozwija się w nasionach podczas długotrwałej termoinhibicji, czyli inkubacji nasion w wysokich temperaturach, hamujących kiełkowanie [31]. Terminy te, jak dotąd, nie mają dobrze brzmiących i ogólnie przyjętych polskich odpowiedników.

Definicja spoczynku i jego klasyfikacja ulegają ciągłym zmianom i modyfikacjom. Przyczyną tego jest wciąż niewielka nasza wiedza na temat molekularnych i fizjologicznych podstaw spoczynku. Jedyną klasą spoczynku, której molekularne mechanizmy są w pewnym (wciąż niedoskonałym) stopniu poznane, jest niegłęboki spoczynek fizjologiczny, ponieważ charakteryzuje on nasiona większości roślin modelowych [21, 22]. Wydaje się, że w obecnym stanie wiedzy, dwa najszerzej stosowane systemy klasyfikacyjne najlepiej spełniają swoją funkcję. Pierwszy stanowi klasyfikacja Roberta/Karssena [29, 37], opisująca zewnętrzne zachowanie się nasion. Drugi system, oparty na fizjologicznych i morfologicznych podstawach został przedstawiony przez Baskin i Baskin [3, 5]. Obie te klasyfikacje wzajemnie uzupełniają się i razem stanowią system prawie uniwersalny. W celu precyzyjnego określenia spoczynku nasienia należy określić jego położenie zarówno w jednym, jak i drugim systemie. Każde nasienie spoczynkowe jest, ze względu na moment pojawienia się spoczynku, albo w spoczynku pierwotnym (wrodzonym), albo wtórnym (indukowanym) w klasyfikacji Roberta/Karssena. Jednocześnie można go zaklasyfikować do jednej z klas systemu autorstwa Baskin i Baskin ze względu na morfologiczno-fizjologiczne mechanizmy jego spoczynku. Na przykład o nasieniu rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*), które nie kiełkuje bezpośrednio po zbiorze, możemy powiedzieć, że jest w spoczynku pierwotnym. Oprócz tego wiemy, że ten spoczynek ma charakter niegłębokiego spoczynku fizjologicznego i związany jest z powstrzymaniem wzrostu zarodka przez otaczającą go jednokomórkową warstwę bielma. Dojrzewanie posprzętne (podczas suchego przechowywania) spowoduje indukcję molekularnego mechanizmu syntezy enzymów rozluźniających ściany komórek bielma, dzięki czemu spoczynek ustąpi [16, 17, 19, 22, 28]. Wszystkie inne systemy i określenia spoczynku nasion mają w tej chwili znaczenie albo już tylko historyczne (np. Langa czy Grzesiuka i Kulki), albo ograniczone jedynie do sprecyzowania specyficznych warunków, które ten spoczynek indukują (np. spoczynek ciemniowy czy termosporocynyk), chociaż w szczególnych przypadkach są stosowane.

Podsumowanie

W ostatnich latach definicja spoczynku uległa wyraźnemu przewartościowaniu. Obecnie przez spoczynek rozumiemy nie tylko brak kiełkowania, ale też uwzględniamy szeroki zakres warunków środowiska, w jakich nasiona mogą kiełkować. Klasyfikacje spoczynku wciąż nie są doskonałe, ponieważ zbyt mało, jak dotąd, wiemy na temat molekularnych podstaw tego fizjologicznego zjawiska. Nie ma jednak wątpliwości, że spoczynek nasion jako podstawowe zjawisko fizjologiczne regulujące ontogenezę roślin jest szczególnie ważny dla rolnictwa. Wiedza na temat praw nim rządzących jest najlepszą drogą do tworzenia biologicznych metod kontroli zachwaszczenia.

Literatura

- [1] Allen P.S., Meyer S.E. 1998. Ecological aspects of seed dormancy loss. *Seed Sci. Res.* 8: 183–191.
- [2] Baskin J.M., Baskin C.C. 1989. Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. W: Ecology of soil seed banks. Leck M.A., Parker V.T., Simpson R.I. (red.) Academic Press. San Diego: 53–66.
- [3] Baskin C.C., Baskin J.M. 1998. Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego.
- [4] Baskin J.M., Baskin C.C. 2000. Taxonomy, ecology and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Spec. Biol.* 15: 139–152.
- [5] Baskin J.M., Baskin C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14: 1–16.
- [6] Benech-Arnold R.L., Sánchez R.A., Forcella F., Kruk B.C., Ghersa C.M. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Res.* 67: 105–122.
- [7] Bewley J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055–1066.
- [8] Bewley J.D., Black M. 1994. Seeds – physiology of development and germination. Plenum Press, New York.
- [9] Bochenek A. 1998. Ekofizjologiczne uwarunkowania dynamiki glebowego banku nasion chwastów. *Post. Nauk Rol.* 6: 83–100.
- [10] Bochenek A. 2000. Wpływ czynników biotycznych i zabiegów uprawowych na glebowy bank nasion chwastów. *Post. Nauk Rol.* 2: 19–29.
- [11] Bochenek A. 2009. Ecophysiological conditions of weed seed dormancy. *Pol. J. Nat. Sci.* – w redakcji
- [12] Bochenek A., Gołaszewski J., Górecki R.J. 2007. The seasonal dormancy pattern and germination of *Matricaria maritima* subsp. *inodora* (L.) DOSTAL seeds in hydrotime model terms. *Acta Soc. Bot. Pol.* 76: 299–307.
- [13] Bouwmeester H.J. 1990. The effect of environmental conditions on the seasonal dormancy pattern of weed seeds. Ph. D. thesis, Agricultural University in Wageningen.
- [14] Bouwmeester H.J., Karssen C.M. 1992. The dual role of temperature in the regulation of the seasonal changes in dormancy and germination of seeds of *Polygonum persicaria* L. *Oecologia* 90: 88–94.
- [15] Cadman C.S.C., Toorop P.E., Hilhorst H.W.M., Finch-Savage W.E. 2006. Gene expression profiles of *Arabidopsis* Cvi seeds during dormancy cycling indicate a common underlying dormancy control mechanism. *Plant J.* 46: 805–822.
- [16] Carrera E., Holman T., Medhurst A., Dietrich D., Footitt S., Theodoulou F.L., Holdsworth M.J. 2008. Seed after-ripening is a discrete developmental pathway associated with specific gene networks in *Arabidopsis*. *Plant J.* 53: 214–224.
- [17] Chibani K., Ali-Rachedi S., Job C., Job D., Julien M., Grappin P. 2006. Proteomic analysis of seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 142: 1493–1510.
- [18] Dyer W.E. 1995. Exploiting weed seed dormancy and germination requirements through agronomic practices. *Weed Sci.* 43: 498–503.
- [19] Fait A., Angelovici R., Less H., Ohad I., Urbanczyk-Wochniak E., Fernie A.R., Galili G. 2006. *Arabidopsis* seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches. *Plant Physiol.* 142: 839–854.
- [20] Fenner M., Thompson K. 2005. The ecology of seeds. University Press, Cambridge.
- [21] Finch-Savage W.E., Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* 171: 501–523.
- [22] Finch-Savage W.E., Cadman C.S.C., Toorop P.E., Lynn J.R., Hilhorst H.W.M. 2007. Seed dormancy release in *Arabidopsis* Cvi by afterripening, low temperature, nitrate and light shows common quantitative patterns of gene expression directed by environmentally specific sensing. *Plant J.* 51: 60–78.
- [23] Foley M.E., Fennimore S.A. 1998. Genetic basis for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 8: 173–182.
- [24] Grzesiuk S., Kulka K. 1981. Fizjologia i biochemia nasion. PWRiL, Warszawa.
- [25] Harper J.L. 1957. The ecological significance of dormancy and its importance in weed control. *Int. Congr. Plant Prot.* 4: 415–420.
- [26] Hilhorst H.W.M., Karssen C.M. 1992. Seed dormancy and germination; the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant Growth Reg.* 11: 225–238.
- [27] Hilhorst H.W., Toorop P.E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. *Adv. Agron.* 61: 111–165.
- [28] Holdsworth M.J., Bentsink L., Soppe W.J.J. 2008. Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytol.* 179: 33–54.

- [29] Karssen C.M. 1982. Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. W: The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination. Khan A.A. (red.), Elsevier Biomedical Press. Amsterdam: 243–270.
- [30] Karssen C.M. 1995. Hormonal regulation of seed development, dormancy, and germination studied by genetic control. W: Seed development and germination. Kigel J., Galili G. (red.), Marcel Dekker, New York: 333–350.
- [31] Khan A.A. 1996. Control and manipulation of seed dormancy. W: Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology. Lang G.A. (red.), CAB International, Wallingford: 29–45.
- [32] Lang G.A. 1987. Dormancy: A new universal terminology. *HortSci.* 22: 817–820.
- [33] Leopold A.C. 1996. Natural history of seed dormancy. W: Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology. Lang G.A. (red.), CAB International, Wallingford: 3–16.
- [34] Nikolaeva M.G. 1967. Physiology of deep dormancy in seeds. Izdatelstwo Nauka, Leningrad.
- [35] Nikolaeva M.G. 2004. On criteria to use in studies of seed evolution. *Seed Sci. Res.* 14: 315–320.
- [36] Probert R.J. 2000. The role of temperature in regulation of seed dormancy and germination. W: Seeds – the ecology in plant communities. Fenner M. (red.), CAB International, Wallingford: 261–292.
- [37] Roberts E.H. 1972. Dormancy: a factor affecting seed survival in the soil. W: Viability of seeds. Roberts E.H. (red.), Chapman and Hall Ltd., London: 321–359.
- [38] Thompson K. 2000. The functional ecology of soil seed banks. W: Seeds – the ecology in plant communities. Fenner M. (red.), CAB International, Wallingford: 215–235.
- [39] Vleeshouwers L.M., Bouwmeester H.J., Karssen C.M. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *J. Ecol.* 83: 1031–1037.
- [40] Żuk-Gołaszewska K., Bochenek A., Gołaszewski J. 2007. Effect of scarification on seed germination of red clover in hydrotime model terms. *Seed Sci. Technol.* 35: 326–336.

Current views on the concept of seed dormancy

Key words: seed dormancy, dormancy classification, germination, weed seeds, soil seedbank

Summary

Seed dormancy is a physiological phenomenon especially important for agriculture, because it regulates the course of plant ontogenesis. The knowledge of the rules that govern it may help to create biological methods of weed control. Earlier definitions of diaspore dormancy focused only on the lack of germination, whereas the more recent ones take into account environmental conditions and the width of range within which the seeds are able to germinate. At present two basic classifications of dormancy apply: the first divides it into types (innate, enforced and induced), while the second into classes (physiological, morphological, morphophysiological, physical and combinational).

Kronika

Nagrody naukowe Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN w 2008 roku

Nagroda naukowa im. Michała Oczapowskiego

Za książkę

„Ochrona zdrowia świń” dla czł. koresp. PAN Zygmunta Pejsaka z rekomendacji Komitetu Nauk Weterynaryjnych PAN

W książce omówiono w oryginalny, nowoczesny i nowatorski, a jednocześnie przejrzysty i zrozumiały sposób wszystkie zagadnienia z zakresu ochrony zdrowia świń i zarządzania zdrowiem stada, od tych dotyczących profilaktyki ogólnej i swoistej oraz anatomii, fizjologii i immunologii układów rozrodczego, oddechowego i pokarmowego, aż do szczegółowego omówienia poszczególnych chorób wirusowych, bakteryjnych, pasożytniczych, skóry, niezakaźnych, genetycznych i zatruc. Szczególną zaletą pracy jest przedstawienie w odrębnych rozdziałach regulacji prawnych dotyczących dobrostanu zwierząt, zasad znieczulania świń, zasad doboru i stosowania antybiotyków oraz bardzo aktualnego zagadnienia obejmującego możliwości przeciwdziałania skutkom wycofania antybiotykowych stymulatorów wzrostu.

Zamieszczony na końcu książki przewodnik stanowi znaczne ułatwienie wstępnej diagnostyki chorób różnych grup wiekowych świń. Szczególnie istotny dla późniejszego, właściwego postępowania przeciw epizootycznego jest również rozdział dotyczący rozpoznawania chorób świń, w którym omówiono badania sekcyjne, poubojowe i laboratoryjne prezentując metody tradycyjne i nowoczesne z wykorzystaniem biologii molekularnej oraz zwrócono uwagę na niedoceniane do niedawna znaczenie oceny profilu serologicznego stada.

Książka ta stanowi niezwykle cenne źródło kompleksowej wiedzy z zakresu ochrony świń, przeznaczona jest przede wszystkim dla studentów, lekarzy weterynarii i zootechników zajmujących się tym gatunkiem zwierząt. Książka została przetłumaczona przez wydawcę rosyjskiego na język rosyjski i jest dystrybuowana w takich krajach jak: Białoruś, Litwa, Łotwa, Estonia, Rosja i Ukraina.

Opublikowano: Wydawnictwo PWR Poznań 2007: 663 ss.

Nagrody za prace badawcze

- 1. Za rozprawę „*Ascid mites (Acari, Mesostigmata) from selected forest ecosystems and microhabitats in Poland*” (Roztocze z rodziny *Ascidae (Acari, Mesostigmata)* wybranych ekosystemów i mikrośrodków leśnych Polski) dla dr. hab. Dariusza Gwiazdowicza z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z rekomendacji Komitetu Nauk Leśnych PAN**

Pierwszym celem, jaki sobie postawiono było sporządzenie wykazu roztoczy z rodziny *Ascidae* występujących na terenach leśnych Polski. Uzyskanie informacji, dotyczących mikrośrodków, w których roztocze te wykazano, było podstawą do analizy i badań nad biologią, ekologią i zoogeografią wielu gatunków. W niniejszych badaniach brano także pod uwagę czynniki wpływające na występowanie roztoczy oraz starano się określić ich hierarchię. Analizowano czynniki biotyczne (np. typ siedliskowy lub zbiorowisko roślinne), antropogeniczne (np. trasy narcjarskie), a ponadto zwrócono uwagę na wysokość nad poziomem morza. Próby były zbierane w różnych typach lasu, np. lasy sosnowe, świerkowe, bukowe oraz z różnych mikrośrodkach, jak np. ściółka, mursz, gniazda ptaków, huby. Przeanalizowano ponadto materiał z kilku kolekcji akarologicznych, m.in. Zoologische Staatssammlung in München, Berlese Araroteca in Florence, Natural History Museum in London.

W wyniku badań taksonomicznych opisano jeden rodzaj, sześć nowych dla wiedzy gatunków oraz osiem nieznanych samców. Ponadto zrewidowano przynależność systematyczną kilku gatunków. W pracy przedstawiono klucze do oznaczania gatunków wykazanych na terenie Polski, a na mapie Polski z podziałem na siatkę geograficzną naniesiono stanowiska roztoczy wykazanych w niniejszych badaniach. Pozwoli to na analizę zasięgów występowania poszczególnych gatunków na świecie.

Największe bogactwo gatunkowe roztoczy z rodziny *Ascidae* odnotowano w drzewostanach starszych klas wieku o charakterze lasu pierwotnego. Natomiast najbogatszym w gatunki mikrośrodkiem leśnym okazała się ściółka. Siedlisko, skład gatunkowy i wiek drzewostanu oraz wysokość nad poziomem morza, warunkują występowanie i różnorodność mikrośrodków. Z kolei mikrośrodki wpływają na bazę żerową i osłonową roztoczy, co umożliwia występowanie określonym gatunkom. Istnieje zatem pośrednia zależność pomiędzy siedliskiem a fauną roztoczy

oraz bezpośrednia zależność pomiędzy mikrośrodowiskiem a fauną tych roztoczy. Mikrośrodowiska nietrwałe, jak np. huby czy gniazda ptaków, charakteryzują się dużą liczebnością osobniczą, choć mniejszą liczbą gatunków niż mikrośrodowiska ustabilizowane, jak np. ściółka czy darń traw.

Dotychczas na świecie znanych jest około 650 gatunków roztoczy z rodziny *Ascidae*, z których 95 wykazano w Polsce.

Opublikowano: Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2007: 248 ss

2. Za rozprawę „Modelowanie zagadnień odwrotnych procesu dyfuzji wody związanej w drewnie” dla dr. hab. Wiesława Olka z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z rekomendacji Komitetu Technologii Drewna PAN

Opis transportu wody w drewnie na drodze dyfuzji wykorzystywany jest do modelowania suszenia drewna, przemieszczania się wody w budynkach i konstrukcjach wykorzystujących drewno oraz materiały drewnopochodne, czy też do wyznaczania zmian wilgotności w zabytkach.

W pracy przedstawiono nową koncepcję rozwiązywania nieustalonych w czasie zagadnień odwrotnych, którą zastosowano do identyfikacji współczynnika wody związanej, jako funkcji zawartości wody oraz do wyznaczenia współczynnika konwekcyjnej wymiany masy. Koncepcja ta składała się z metody rozwiązywania zagadnienia odwrotnego dyfuzji, udoskonalonej procedury optymalizacyjnej, jak i podmodeli opisujących zależność współczynnika dyfuzji od zawartości wody związanej. Identyfikację współczynnika przeprowadzono dla drewna sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.), buka (*Fagus sylvatica* L.) oraz olszy (*Alnus* spp.). Ponadto współczynnik dyfuzji był oddzielnie określany dla kierunku anatomicznego promieniowego i stycznego oraz dla drewna twardzielowego i bielastego (wyłącznie w przypadku sosny pospolitej). Jakość wyznaczania wartości współczynnika dyfuzji kwantyfikowano przez zdefiniowanie i zastosowanie estymatorów porównujących system abstrakcyjny i empiryczny.

Wykorzystanie metody zagadnienia odwrotnego pozwoliło stwierdzić, że zastosowanie wartości współczynnika dyfuzji będących funkcją zawartości wody znacząco poprawiło jakość modelowania dyfuzji i umożliwiło wykazanie, że prawa Ficka mogą właściwie opisywać proces dyfuzji wody związanej w drewnie. Znacząco wyższe wartości współczynnika dyfuzji otrzymano dla drewna strefy bielastej sosny pospolitej niż ma to miejsce dla drewna twardzielowego. Zależność tę wyjaśniono budową anatomiczną i chemiczną tego gatunku. Wykazano również wpływ budowy anatomicznej na otrzymane wartości współczynnika dyfuzji w kierunku anatomicznego promieniowego i stycznego.

Opublikowano: Rozprawy Naukowe 383, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2007: 81 ss.

3. „Udział czynników immunologicznych i nieodżywczych składników paszy (fitoestrogenów) w regulacji funkcji ciałałka żółtego krowy” dla zespołu: prof. dr hab. Dariusz J. Skarżyński, dr n. wet. Izabela Wocławek-Potocka, dr Anna J. Korzekwa, dr n. wet. Mamadou M. Bah z Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie z rekomendacji Komitetu Biologii Rozrodu Zwierząt PAN

W przedstawionych pracach wykazano, że u krów główną rolę w regulacji regresji ciałałka żółtego (CL) odgrywają cytokiny z nadrodziny TNF – czynnik martwicy nowotworu- α (TNF α) i FasL oraz inny produkt komórek układu odpornościowego i komórek śródbłonna naczyń – tlenek azotu (NO). Czynnik martwicy nowotworu- α może uwalniać luteolityczną PGF $_{2\alpha}$ z macicy, a z drugiej strony obie cytokiny mogą działać bezpośrednio na CL powodując jego regresję poprzez indukcję apoptozy. Wykazano, że dopóki komórki CL krowy są pod wpływem wysokiego stężenia progesteronu i zawartych w surowicy krwi czynników wzrostu, Fas-L nie jest w stanie indukować apoptozy. Rolę uniwersalnego mediatora PGF $_{2\alpha}$ oraz TNF α w ich luteolitycznym działaniu na CL krowy pełni NO. Wykazano, że NO stymuluje uwalnianie prostaglandyn w CL i hamuje syntezę progesteronu, co jest jednym z podstawowych symptomów funkcjonalnej regresji CL. Ponadto opisano molekularny mechanizm wpływu NO w indukowaniu apoptozy komórek CL krowy. Najistotniejszym odkryciem jest jednak wykazanie, że główną drogą, poprzez którą TNF α wpływa na funkcjonowanie CL krowy jest stymulacja uwalniania i działania prostaglandyn w macicy oraz stymulacja wydzielania NO w CL krowy. Badania opisujące rolę NO jako głównego auto/parakrynnego pośrednikami działania macicznej PGF $_{2\alpha}$ i TNF α w mechanizmie regresji CL krowy opisano w pracy przeglądowej.

W drugiej części badań sprawdzono czy nieodżywcze składniki paszy – fitoestrogeny i ich aktywne metabolity (ekwol i para-etyl-fenol) mogą wpływać bezpośrednio na CL krowy, modulując jego funkcje wydzielnicze. Wykazano wpływ i opisano mechanizm działania fitoestrogenów w regulacji funkcji wydzielniczych CL. Chociaż związki te nie wpływały na pulsacyjne uwalnianie progesteronu, to jednak zahamowały stymulujący wpływ LH na uwalnianie tego hormonu oraz stymulowały wydzielanie PGF $_{2\alpha}$ i testosteronu w steroidogennych komórkach CL. W ostatniej pracy określano wewnątrzkomórkowe/molekularne mechanizmy działania fitoestrogenów w CL krowy. Izoflawony, w odróżnieniu od endogennych estrogenów, wykazują genomowy, a więc zależny od estrogenowych (i/lub androgenowych) receptorów jądrowych mechanizm działania w komórkach CL krowy. Endogenne estrogeny mogą działać w komórkach CL poprzez aktywację genomowych receptorów, ale również mogą indukować pozagenomowy szlak przekazywania informacji wewnątrz komórki: fosfolipaza C – kinaza białkowa C – jony wapnia [Ca $^{2+}$].

Przedstawione badania wykazały, że procesy luteolizy, jak również przeciwny do niego mechanizm rozpoznania i ochrony ciąży przebiegają pod ścisłą kontrolą zarówno czynników produkowanych przez komórki endokrynne jajnika

i macicy (hormony steroidowe, peptydy, prostaglandyny), produktów komórek układu immunologicznego (TNF α , tlenek azotu) oraz czynników żywieniowych (nieodżywcze składniki paszy – fitoestrogenów). Poznanie wzajemnych interakcji między substancjami biologicznie czynnymi uwalnianymi z komórek układu immunologicznego, komórek układu endokrynnego a egzogennymi substancjami ma więc bezpośrednie znaczenie w diagnozowaniu i zapobieganiu zaburzeń ciąży u zwierząt gospodarskich. Ma to szczególne, praktyczne znaczenie w okresie rozwoju i implantacji zarodka oraz w okresie poporodowym, gdy dochodzi do gwałtownych zmian w narządzie rodnym samicy doprowadzających do powrotu cykliczności.

Opublikowano: 7 prac oryginalnych.

4. „Wpływ zmiany profilu kwasów tłuszczowych w diecie oraz dodatku selenu i witaminy E na kształtowanie prozdrowotnych właściwości produktów zwierzęcych” dla zespołu: prof. dr hab. Marian Czauderna, prof. dr hab. Jan Kowalczyk, dr Katarzyna M. Niedźwiedzka, dr Katarzyna Korniluk z Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN z rekomendacji Komitetu Nauk Zootechnicznych PAN

Badano wpływ podanych do paszy izomerów sprzężonego kwasu linolowego (CLA), oleju lnianego i rybnego oraz selenianu(IV), selenianu(VI) lub selenu w postaci selenowego preparatu drożdżowego (Se-organiczny) na modyfikację biochemicznego profilu tkanek badanych zwierząt; zmiany te powinny przyczynić się do zwiększenia poziomu izomerów CLA i innych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), argininy, cysteiny, tauryny, histydyny, proliny oraz Se (głównie w postaci Se-cysteiny i Se-metioniny), Zn, Ca i Mg, jak i również zmniejszenia wartości stosunku stężeń n-6PUFA/n-3PUFA, stężenia cholesterolu oraz homocysteiny w ciele owiec oraz szczurów. Z powodu wysokich kosztów zakupu izomerów CLA te pilotowe badania prowadzono na szczurach jako modelu dla zwierząt monogastrycznych.

W badaniach wykazano, że podane do paszy izomery CLA zwiększyły stężenie izomerów CLA w ciele szczurów, przyrost masy ich ciała oraz zmniejszyły spożycie paszy. Jednocześnie dodatek do paszy *trans10cis12CLA* i selenianu(IV), selenianu(VI) lub Se-organicznego najwydatniej zwiększył przyrost masy ciała szczurów oraz przyczynił się do najlepszego wykorzystania paszy. Izomery CLA dodane do paszy gromadziły się w tkankach i narządach szczurów, jednakże ich kumulowanie było selektywne; wykazano bowiem, iż izomery CLA o konfiguracji *trans-trans* były preferencyjnie wbudowywane do fosfolipidów i triacylogliceroli tkanek szczurów. Natomiast izomery geometryczne *cis-trans/trans-cis* i *cis-cis* podlegały preferencyjnie desaturacji i elongacji. *Cis9trans11CLA* był wydajniej wbudowywany w tkanki szczurów w porównaniu z *trans10cis12CLA*. Jednocześnie dodatek Se (selenianu(IV), selenianu(VI) lub Se-organicznego i izomerów CLA do paszy stymulował kumulowanie izomerów CLA, ich metabolitów i innych PUFA w mięśniach uda oraz wątrobie szczurów. Izomer *trans10cis12* wydajniej uczestniczył w procesie β -oksydacji niż z izomer *cis9trans11*. Podany do paszy Se chronił izomery CLA i inne PUFA

przed oksydacyjnym uszkodzeniem oraz hamował katabolizm izomerów CLA w ciele zwierząt. Se-organiczny podany do paszy najwydatniej zwiększył stężenie Se w ciele szczurów w porównaniu z selenianem(IV); natomiast najslabszy efekt wywarł selenian(VI) podany do paszy.

Dodatek do płynu żwaczowego oleju lnianego, rybnego i α -kwasu linolenowego przyczynił się do wzrostu stężenia izomerów CLA, *trans-11C18:1* oraz nienasyconych kwasów tłuszczowych w badanym płynie. Jednoczesne podanie kwasu linolowego i selenianu(VI) zwiększyło stężenie izomerów CLA i *trans-11C18:1* w płynie żwaczowym. Doświadczenia *in vitro* oraz badania prowadzone na owcach wykazały, iż skarmianie pasz zawierających jednocześnie selenian(VI) i kwas linolowy lub olej lniany poprawiało wartość prozdrowotną produktów zwierzęcych; odnotowano bowiem wzrost stężenia nienasyconych kwasów tłuszczowych, izomerów CLA, ich metabolitów oraz Zn i Se w mięsie badanych owiec.

Opracowano metody chromatograficzne o zwiększonej czułości, które pozwoliły na dokładniejsze oznaczanie stężenia kwasów tłuszczowych, tokoferoli oraz na analizowanie rozmiaru stresu oksydacyjnego w żywych ustrojach.

Prezentowane prace są nowym sposobem wyjaśnienia mechanizmów kumulowania izomerów CLA, ich metabolitów i innych kwasów tłuszczowych oraz różnych form chemicznych Se w ciele szczurów i przeżuwaczy.

Uzyskane wyniki mogą być wykorzystane do wytyczenia nowego sposobu bilansowania składników pokarmowych w żywieniu zwierząt gospodarskich.

Publikacje: 20 prac naukowych oraz 18 doniesień.

Dyplomy za prace badawcze

5. „Genomika cechy otluszczenia tuszy u trzody chlewnej” dla zespołu: prof. dr hab. Marek Świtoński, mgr Monika Stachowiak, dr hab. Maciej Szydłowski, dr Agata Chmurzyńska, dr Izabela Szczerbal, dr Mariusz Maćkowski z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu z rekomendacji Komitetu Nauk Zootechnicznych PAN

Do głównych osiągnięć poznawczych tego cyklu prac można zaliczyć:

- A. Poszerzenie wiedzy o markerowej mapie genomu świni, poprzez wskazanie lokalizacji chromosomowej 12 genów, za pomocą techniki FISH. Na szczególną uwagę zasługuje ustalenie położenia blisko siebie leżących genów z rodziny FABP, w regionie QTL chromosomu 4, określanego w literaturze jako FAT 1. W tym celu zastosowano m.in. technikę FISH na rozciągniętych włóknach chromatynowych. Badania te jednoznacznie wskazały, że *loci* genów *FABP3*, *FABP5* i *FABP8* znajdują się poza regionem FAT 1 i dlatego nie powinny być traktowane jako geny kandydujące.
- B. Zidentyfikowanie szeregu nowych polimorfizmów typu SNP oraz wskazanie na asocjacje niektórych z nich ze zmiennością wybranych cech produkcyjnych, ale tylko w wybranych rasach świń. Wśród tych polimorfizmów na

uwagę zasługują: T/A, G/A i C/A w eksonie 8 genu *PPARGCIA*, T/C w promotorze genu *FAB3* oraz C/T, G/A, C/G i A/G w promotorze genu leptyny, które segregują jako dwa haplotypy: CGCA i TAGG. Podkreślić należy, że asocjacje polimorfizm/cecha szacowano w dużych grupach zwierząt, liczących od 400 do prawie 700 osobników.

- C. Zwrócenie szczególnej uwagi na poprawność stosowanych metod statystycznych przy badaniu związku polimorfizmów z cechami fenotypowymi, w tym otluszczenia. Zastosowano szereg technik w celu uniknięcia wyników fałszywie pozytywnych. Aby uwzględnić wpływ poligenów, zastosowano metody BLUP-model zwierzęcia i BLUP-model ojca uwzględniając powiązania rodowodowe zwierząt do dwóch pokoleń wstecz. W celu wykluczenia błędu spowodowanego niejednorodną strukturą populacji (ang. population stratification), zastosowano specjalistyczny test TDT (ang. transmission disequilibrium test). Brakujące dane genotypowe wymagane przez tę metodę uzupełniano technikami symulacyjnymi (Markov Chain Monte Carlo), za pomocą własnych programów komputerowych. Zastosowano również test nieparametryczny, uwzględniając znaczne odchylenie rozkładu fenotypów w populacji od rozkładu normalnego.
- D. Opisanie po raz pierwszy sekwencji nukleotydowej promotora genu leptyny oraz sekwencji kodującej genu *CREB* i zdeponowanie tych informacji w GenBanku: AY770743 (promotor genu *LEP*) i AY753640 (*CREB*). W przypadku promotora genu leptyny zidentyfikowano szereg polimorfizmów, w tym jeden w obrębie potencjalnej sekwencji konsensusowej dla czynnika transkrypcyjnego AP-2. W przypadku tego polimorfizmu zastosowano technikę Real-time PCR do oceny jego związku z poziomem transkrypcji, jednak nie stwierdzono różnic w poziomie transkrypcji u zwierząt różniących się genotypem.
- E. Dokonanie po raz pierwszy w Polsce oceny wpływu polimorfizmu genu *MC4R* (G/A wywołujące zmianę sekwencji aminokwasów Asp298Asn), uznanego wcześniej przez innych autorów za mający duży efekt działania na cechy otluszczenia, tempo wzrostu i pobierania paszy. Wykonane badania na licznych materiale (679 zwierząt), reprezentującym niektóre rasy hodowane w Polsce (wielka biała polska – wbp, polska biała zwisłoucha – pbz oraz linia 990) nie potwierdziły wcześniej opisywanych zależności, chociaż ujawniły wyraźne różnice pod względem częstości alleli. Częstość allelu A wyniosła ponad 0,75 w rasie wbp, 0,29 – w rasie pbz i tylko 0,16 – w linii 990. Wykazano jedynie, że allel A był skorelowany z większymi przyrostami dobowymi masy ciała i mniejszą zawartością tłuszczu śródmięśniowego w rasie polskiej białej zwisłouchy, natomiast w rasie wielkiej białej polskiej ten sam allel był związany z większą zawartością tłuszczu śródmięśniowego. Wyniki te zakwestionowały postulowaną, bezpośrednią zależność między tym polimorfizmem i otluszczeniem.

Opublikowano: 6 publikacji oryginalnych.

6. „Poznanie funkcjonalnych efektów introgresji genów z kostrzew do życic oraz struktury genomu wytworzonych mieszańców” dla zespołu w składzie: prof. dr hab. Zbigniew Zwierzykowski, dr Arkadiusz Kosmala, mgr Elżbieta Zwierzykowska (Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu), dr hab. Marcin Rapacz (Katedra Fizjologii Roślin Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie), dr Dagmara Gąsior i dr Mike Humphreys (Institute of Biological, Environmental and Rural Sciences, Aberystwyth, Wielka Brytania) z rekomendacji Komitetu Fizjologii, Genetyki i Hodowli Roślin PAN

Cykl wyróżnionych prac obejmuje badania cytogenetyczne i fizjologiczne nad międzygatunkowymi mieszańcami traw z rodzajów *Festuca* (kostrzewa) i *Lolium* (życica).

W badaniach nad kontrolowaną introgresją genów z kostrzew do życic, jako materiały wyjściowe w programach krzyżowań wstecznych zostały użyte częściowo płodne mieszańce *F. pratensis* (2x) × *L. multiflorum* (4x) i *F. arundinacea* (6x) × *L. multiflorum* (4x) oraz formy dihaploidalne pochodzące z tetraploidalnych odmian *Festulolium* (*F. pratensis* × *L. multiflorum*). W wyniku selekcji roślin w trzech pokoleniach wstecznych otrzymano formy introgresywne *L. multiflorum* o wyższym poziomie zimotrwałości i odporności na mróz, w porównaniu z diploidalnymi odmianami *L. multiflorum* użytymi do krzyżowań. Przy zastosowaniu połączonych technik genomowej hybrydyzacji in situ (GISH) i fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) rozpoznano chromosomy *L. multiflorum* z segmentami chromosomowymi *F. pratensis* i *F. arundinacea*, w obrębie których zlokalizowane były niektóre geny odpowiedzialne za odporność na mróz. Na podstawie lokalizacji segmentu chromosomowego *Festuca* w chromosomie *L. multiflorum* wyodrębniono trzy grupy form introgresywnych: (i) z pojedynczym segmentem chromatyny *F. pratensis* zlokalizowanym terminalnie na krótkim ramieniu chromosomu 2 *Lolium*, (ii) z centromerem i dwoma rejonami przycentromerowymi *F. pratensis* w chromosomie 4, (iii) z pojedynczym segmentem chromatyny *F. arundinacea* zlokalizowanym terminalnie na krótkim ramieniu chromosomu 2 *Lolium*.

Formy introgresywne *L. multiflorum* zostały także wykorzystane do badań mających na celu poznanie funkcjonalnych powiązań procesów aklimacji aparatu fotosyntetycznego do chłodu z procesem hartowania na mróz. Wykazano, że gatunki *F. pratensis* i *L. multiflorum* realizują odmienną strategię obrony przed indukowaną chłodem fotoinhibicją fotosyntezy. *L. multiflorum* aklimuje aparat fotosyntetyczny do funkcjonowania w chłodzie poprzez typowe dla zimujących gatunków roślin zielnych zwiększenie aktywności fotosyntetycznej, podczas gdy *F. pratensis* zwiększa wyraźnie wydajność rozpraszania energii świetlnej na drodze niefotochemicznej, co wcześniej obserwowano jedynie u wiecznie zielonych drzew i krzewów. Stwierdzono, że transfer cechy podwyższonej zimotrwałości/mrozoodporności z gatunków *Festuca* do *L. multiflorum* wiąże się najczęściej z przeniesieniem zdolności do

indukcji nefotochemicznego mechanizmu rozpraszania energii wzbudzeń. Wskazano tu na możliwy udział genów znajdujących się w chromosomie 4 *F. pratensis*.

W rezultacie badań cytogenetycznych przy użyciu techniki GISH opisano zakres koniugacji i rekombinacji w sześciu pokoleniach generatywnych mieszańca *F. pratensis* (4x) × *L. perenne* (4x). Z pokolenia na pokolenie obserwowano wzrost liczby substytucji chromosomów *Festuca* przez chromosomy *Lolium* oraz częstotści rekombinacji homeologicznej. To niezrównoważenie genomowe może być jedną z przyczyn dużej zmienności stopnia płodności roślin w kolejnych pokoleniach.

Formy introgressywne *L. multiflorum* odporne na mróz oraz formy amfiploidalne *Festulolium* (*F. pratensis* × *L. perenne*) o wysokim stopniu płodności przekazano jako materiały wyjściowe do praktycznego wykorzystania w hodowli roślin.

Opublikowano 6 prac oryginalnych.

7. „Molekularne mechanizmy apoptozy i autofagii w komórkach nabłonka gruczołu sutkowego i raka sutka” dla zespołu: prof. dr hab. Tomasz Motyl, dr Małgorzata Gajewska, dr Joanna Zarzyńska, prof. dr hab. Barbara Gajkowska, dr Monika Lamparska-Przybysz, dr Magdalena Górka, dr Agnieszka Jezierska, mgr Agnieszka Sobolewska z rekomendacji Komitetu Nauk Weterynaryjnych PAN

Do najważniejszych osiągnięć zespołu należy:

- Wykazanie, że w indukcji apoptozy w gruczole mlekowym krowy w okresie zasuszania kluczową rolę odgrywa supresja osi somatotropowej, manifestująca się obniżoną ekspresją GH-R, IGF-IR α i wzrostem ekspresji IGFBP-4 i 5, a także wzrost poziomu TGF- β 1 oraz koncentracji jego receptora (TGF- β 1RII) w tkance gruczołowej.
- Opisanie po raz pierwszy w literaturze występowania autofagii oraz jej przypuszczalnej roli w zasuszonym gruczole mlekowym krowy. Zmniejszona dostępność substancji bioaktywnych i odżywczych w okresie zasuszania gruczołu jest wynikiem: a) zmniejszonej sekrecji hormonów i czynników wzrostowych (np. GH, IGF-I, PRL), b) obniżonej ekspresji receptorów dla tych czynników (np. GH-R, IGF-IR α), c) wzrostu ekspresji białek wiążących IGF-I (IGFBP4 i 5) oraz d) współzawodnictwa gruczołu o czynniki bioaktywne i odżywcze z intensywnie rozwijającym się płodem.
- Wykazano, że czynnikami indukującymi autofagię są: deficyt substancji bioaktywnych (przede wszystkim IGF-I i EGF), TGF- β 1 oraz steroidy płciowe (17 β -estradiol i progesteron). Czynniki hamujące autofagię są: IGF-I i EGF. Kluczowym ogniwem w regulacji autofagii w komórce jest kinaza mTOR. Hamowanie jej aktywności przez rapamycynę indukuje w sposób dramatyczny autofagię, a także apoptozę komórek nabłonka wydzielniczego. Antyaufagiczny efekt IGF-I i EGF odbywa się poprzez fosforylację (inaktywację) mTOR.

- Opracowanie trójpoziomowego modelu regulacji apoptozy i autofagii w bydłym gruczole mlekowym, gdzie pierwszy (wewnątrzkomórkowy) poziom stanowią białka regulujące apoptozę i autofagię (np. rodziny białek Bcl-2 i ATG), drugi poziom stanowią wewnątrzgruczołowe czynniki, takie jak: TGF- β 1, IGFBPs, Fas-L, FIL, TNF α i naprężenia hydrodynamiczne błony komórkowej, natomiast trzeci poziom stanowią czynniki ogólnoustrojowe, takie jak: hormony laktogenne, czynniki żywieniowe, status rozrodczy (w tym hormony ciążowe) oraz efektywność i częstotliwość doju.
- Wykazanie, że proapoptyczne białko BID stanowi molekularny przełącznik pomiędzy apoptozą a autofagią w komórkach raka sutka stymulowanych do apoptozy kamptotecyną (inhibitorem topoizomerazy DNA I). Wykazano to poprzez wyciszenie genu *bid* metodą siRNA; wyciszenie tego genu spowodowało zahamowanie apoptozy indukowanej kamptotecyną z jednoczesną indukcją autofagii. W komórkach raka sutka z wyciszonym *bid* obserwuje się kompensacyjny wzrost ekspresji innego proapoptycznego genu *hrk*, którego produkt białko Hrk wiąże się z białkiem antyapoptotycznym i antyautofagicznym – Bcl-2, co stwarza możliwość indukcji autofagii, jednakże bez możliwości indukcji apoptozy.
- Opisanie współzależności między apoptozą i autofagią w komórkach raka sutka poddanych oddziaływaniu chemioterapeutyków.
- Zobrazowanie minutowej kinetyki agregacji proapoptycznego białka BAX na mitochondriach oraz uwalniania mediatora apoptozy-Smac/DIABLO z mitochondriów w procesie apoptozy komórek raka sutka z zastosowaniem homeostatycznej mikroskopii konfokalnej.
- Wykazanie, że białko adhezyjne ALCAM, a zwłaszcza stosunek ALCAM/MMP2 są bardziej obiecującymi wskaźnikami rozwoju raka piersi niż MMP2, E-kadheryna czy α -katenina. Niska koncentracja ALCAM w tkance raka piersi jest skorelowana agresywnością nowotworu, co daje podstawę do uznania tej cząsteczki adhezyjnej za wskaźnik supresji nowotworu o dużym znaczeniu prognostycznym.
- Odkrycie, że białko adhezyjne ALCAM/CD166 jest czynnikiem warunkującym przeżywalność komórek raka sutka. Stwierdzono, że wyciszenie genu ALCAM indukuje zarówno apoptozę jak i autofagię w komórkach raka sutka. Z tego względu ALCAM/CD166 może być nowym molekularnym celem dla chemioterapii raka sutka.

Jako badania wyprzedzające dostarczyły niezwykle wartościowych wyników, które mogą być wykorzystane w sterowaniu przebudowy gruczołu sutkowego u zwierząt laktujących i zapewnieniu jak najlepszej jego wydajności oraz sprawnej regulacji cyklu laktacyjnego. Ponadto są one cenne z punktu widzenia nowych metod diagnostyki i terapii raka gruczołu sutkowego.

Opublikowano: 9 prac oryginalnych.

8. „Przeciwutleniające właściwości surowców roślinnych oraz produktów ich tradycyjnego przetwarzania” dla zespołu w składzie: doc. dr hab. Henryk Zieliński, mgr Anna Michalska, prof. dr hab. Halina Kozłowska, doc. dr hab. Mariusz Piskula z Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie z rekomendacji Komitetu Nauk o Żywności PAN

Badania dotyczyły związków przeciwutleniających obecnych w surowcach roślinnych, takich jak nasiona roślin strączkowych i krzyżowych, ziarniaki zbóż i pseudozbóż, oraz nad kształtowanej przez nie pojemności antyoksydacyjnej produktów uzyskanych według tradycyjnych technologii. Prace mają charakter zarówno poznawczy, jak i aplikacyjny. Na podstawie profilu związków przeciwutleniających i ich zdolności do wymiatania wolnych rodników, zespół wykazał celowość powrotu do tradycyjnych metod przetwarzania surowców roślinnych i zbożowych, takich jak kiełkowanie, czy tradycyjny wypiek chleba na zakwasie. Prace zespołu pokazały, że gotowe do spożycia kielki nasion strączkowych i krzyżowych charakteryzują się wyższą pojemnością antyoksydacyjną niż nasiona oraz że zawierają więcej cennych dla zdrowia człowieka związków fenolowych i witamin takich jak B₂, C i E. Zespół zaproponował wykorzystanie aktywności przeciwutleniającej fitozwiązków obecnych w żywności mierzzonej współczesnymi metodami jako parametru przydatnego w selekcji odmian roślin uprawianych do celów spożywczych oraz do śledzenia procesów technologicznych związanych z obróbką mechaniczną i termiczną. Ponadto zespół wykazał, że końcowe produkty wieloetapowej reakcji Maillarda powstające w procesie wypieku zwiększają pojemność przeciwutleniającą chleba.

Opublikowano: 12 prac oryginalnych, 17 komunikatów i doniesień, 5 publikacji popularno-naukowych.

*Przewodniczący
Komisji Nagród Naukowych
Wydziału V PAN
Adolf Horubała
Czł. rzecz. PAN*

Problematyka Szczytu Klimatycznego (Poznań, 1–12 grudnia 2008 r.)

Zbigniew W. Kundzewicz

*Instytut Środowiska Rolniczego i Leśnego PAN,
ul. Bukowska 19, 60-809 Poznań*

W każdym roku organizowana jest konferencja Stron (COP – skrót od angielskiego terminu **C**onference of **P**arties) Ramowej Konwencji Narodów Zjednoczonych dotyczącej Zmian Klimatu, zob. «www.unfccc.int». Konferencja jest jednocześnie światowym szczytem klimatycznym, forum dyskusji politycznej nad zmianami klimatu i sposobami przeciwdziałania im.

W końcu 2006 r., Minister Środowiska RP, prof. Jan Szyszko, zgłosił kandydaturę Polski jako gospodarza COP14 i propozycja ta została przyjęta. Wybór kraju – gospodarza można uznać za dowód międzynarodowego zaufania. W efekcie, po wielomiesięcznych i bardzo intensywnych przygotowaniach, w dniach 1–12 grudnia 2008 odbył się w Poznaniu szczyt klimatyczny, z udziałem ok. 12 tys. uczestników, którego głównym wydarzeniem była 14. Konferencja Stron Ramowej Konwencji Klimatycznej Organizacji Narodów Zjednoczonych, tzn. COP14. Uczestniczyli w niej przedstawiciele rządów prawie wszystkich państw członkowskich ONZ, a także eksperci, obserwatorzy i przedstawiciele mediów z całego świata. Delegacjami wielu państw kierowali urzędnicy w randze ministra lub wiceministra. Poznański szczyt klimatyczny był pierwszą znaczącą imprezą ONZ organizowaną w Polsce.

Organizatorem konferencji COP14 był Sekretariat Konwencji (z siedzibą w Bonn), a gospodarzem konferencji, z ramienia Rządu RP – Ministerstwo Środowiska. Przewodniczącym Konferencji był prof. Maciej Nowicki, Minister Środowiska RP, przy istotnym wsparciu lokalnym Urzędu Miasta Poznania.

Na wcześniejszym szczycie klimatycznym, w Kioto w 1997 r., kraje rozwinięte i kraje transformujące gospodarkę zgodziły się zredukować w latach 2008–2012 emisję gazów cieplarnianych o co najmniej 5% w porównaniu do poziomu z roku bazowego (1990). Był to pierwszy krok w kierunku ograniczenia emisji, który miał jednak niewielki wpływ na klimat światowy, zwłaszcza odkąd Stany Zjednoczone, po zmianie administracji w roku 2000, wycofały się z planów ratyfikacji Protokołu.

Ponadto kraje na drodze dynamicznego rozwoju (np. Chiny, które już prześcignęły USA pod względem emisji dwutlenku węgla), w ogóle nie są ujęte w programie redukcji emisji przewidywanym przez Protokół.

Zgodnie z Protokołem z Kioto, Polska zobowiązała się zredukować emisje gazów cieplarnianych o 6% poniżej poziomu z roku bazowego, który został dla naszego kraju przyjęty na poziomie roku 1988. W międzyczasie, osiągając wyraźny wzrost dochodu narodowego, Polska znacznie zredukowała emisje gazów cieplarnianych. W dużej mierze wynikało to z upadku przestarzałych, energochłonnych zakładów przemysłowych w czasie transformacji systemu.

Okres ważności Protokołu z Kioto kończy się wkrótce i pilnie potrzebne jest uzgodnienie dalszych globalnych działań w kierunku redukcji emisji, a także objęcie zobowiązaniami większej liczby krajów świata.

Na Konferencji dyskutowano cztery grupy zagadnień, które dotyczyły redukcji emisji gazów cieplarnianych, adaptacji do skutków zmian klimatu; transferu technologii do krajów rozwijających się oraz finansowania działań w krajach rozwijających się i w krajach o gospodarce w okresie przejściowym.

Celem poznańskiego szczytu było uzyskanie postępu w negocjacjach nad ochroną światowego klimatu. Spodziewano się, że COP14 umożliwi sformułowanie długofalowej strategii światowej współpracy w celu ograniczenia globalnych zmian klimatu oraz ustalenie harmonogramu i zakresu działań. Oczekiwano też sformułowania opcji zobowiązań dla krajów rozwijających się oraz zakończenia procesu przeglądu wdrażania Protokołu z Kioto. Ponieważ rozbieżności stanowisk między stronami są bardzo duże, oczekiwania te udało się spełnić tylko częściowo. Strony deklarowały poparcie dla koncepcji ochrony klimatu, ale na ogół bez formułowania konkretnych zobowiązań. Potwierdziły się też obawy dotyczące pasywnej roli USA ze względu na interregnum.

Dzięki COP14 stanowiska stron uległy jednak niewielkiemu zbliżeniu. Zatem ciągle istnieje szansa, że podczas COP15 w Kopenhadze, dojdzie do konkretnych ustaleń. Dwudniowy segment Konferencji COP14 z udziałem delegatów wysokiego szczebla pokazał, że do kompromisu jest jeszcze bardzo długa droga. Optymiści twierdzą, że możliwe będzie porozumienie w Kopenhadze, ale ich liczba zmalała po COP14.

Na pewno można się cieszyć z jednego. Poznański szczyt wypadł bardzo dobrze pod względem organizacyjnym. Jest to zgodna opinia uczestników. Organizacja była trudnym wyzwaniem, ale Polska i Poznań pokazały światu, że są w stanie profesjonalnie zorganizować tak dużą i prestiżową imprezę. Przygotowanie i wykonanie planów organizacyjnych można uznać za perfekcyjne, z dużą dbałością o szczegóły. Konferencja dobrze przysłużyła się promocji kraju i miasta. Cenne jest także przybliżenie tematyki klimatycznej szerszym rzeszom Polaków i poprawa ich świadomości.

Szczyt poznański był spotkaniem politycznym, z wyraźnie widoczną działalnością naukową, wypełniającą treścią kilkaset wydarzeń towarzyszących Konferencji. Pracownicy Zakładu Badań Środowiska Rolniczego i Leśnego PAN prowadzili jedną

sesję naukową w pawilonie UE na terenie COP14 i uczestniczyli w kilku innych, przedstawiając 6 referatów. W dniu 3 grudnia Zakład był organizatorem sesji pt. „Wpływ zmian klimatu na obszary wiejskie – studia w Wielkopolsce”, na której przedstawione zostały wyniki badań naukowych prowadzonych przez poznańskie placówki. Na sesji organizowanej przez Zakład, przedstawione zostały m.in. referaty: „Zmiany struktury bilansu wodnego” – prof. A. Kędziora oraz „Ekstrema pogodowe” – prof. Z.W. Kundzewicz. Ponadto, w następnych dniach COP14 pracownicy Zakładu uczestniczyli w innych imprezach towarzyszących, wygłaszając na sesji „Badania nad wrażliwością, konsekwencjami i adaptacją do zmian klimatu w Europie Środkowej i Wschodniej”, organizowanej przez UE następujące referaty: „Zmiany klimatu i zdarzenia ekstremalne – perspektywa środkowo-europejska” – prof. Z.W. Kundzewicz, „Ograniczenia i szanse adaptacji w gospodarce terenami i gospodarce wodnej na Węgrzech” – dr P. Matczak; na sesji „Zmiany klimatu, zasoby wodne i rolnictwo”, organizowanej przez Fundację Europa-Azja referat „Mitygacja i adaptacja” – prof. Z.W. Kundzewicz i prof. A. Kędziora oraz na sesji „Dzień Lasu 2”, organizowanej przez Międzynarodowe Centrum Badań Leśnych (CIFOR) referat pt. „Czy zmiany klimatu sprzyjają sytuacji plagi owadów i zmieniają funkcjonowanie ekosystemu leśnego?” – dr Z. Bernacki.

W ostatnim dniu COP14, podczas obrad tzw. segmentu wysokiego szczebla, prof. Kundzewicz przedstawił przesłanie RINGOs (Research and Independent NGOs), czyli związanych z Konwencją Klimatyczną przedstawicieli nauki i niezależnych organizacji pozarządowych. Nauka zwróciła uwagę świata na problemy zmian klimatu. Nauka wykazała, że obecna zmiana klimatu jest inna od wszystkich poprzednich (naturalnych) – teraz za większość globalnego ocieplenia odpowiedzialne są czynniki antropogeniczne.

W dniu 5 grudnia 2008 r. w ramach konferencji klimatycznej COP14 odbyła się debata pt. „Kształtowanie ekologicznej przyszłości do roku 2050”. Debatę o zmianie postaw, roli kultury i mediów, przeprowadzono w Centrum Kultury Zamek, a jej współorganizatorem był Zakład. W dyskusji o tym, jak sztuka, architektura i media mogą przekonywać do ekologicznych wyborów i postaw aktywnie uczestniczyli pracownicy ZBŚRiL PAN w Poznaniu.

Podczas trwania COP14 odbyły się dwie promocje książek opublikowanych przez pracowników Zakładu. Dnia 5 grudnia 2008 odbyła się promocja książki najwybitniejszego polskiego batrachologa, profesora L. Bergera, pt. „Chrońmy europejskie żaby zielone”. Patronami promocji byli prof. Kędziora – Dyrektor Zakładu oraz dr Jan Śmiełowski – Dyrektor Biblioteki Ekologicznej w Poznaniu. Książka została wydana w języku angielskim i polskim. Część nakładu książki została przekazana uczestnikom konferencji klimatycznej. W dniu 11 grudnia 2008 odbyła się także promocja książki pt. „Zmiany klimatu i ich skutki” (Wydawnictwo Kurpisz), której autorami są – prof. Z.W. Kundzewicz i dr hab. P. Kowalczak.

Pracownicy Zakładu byli bardzo aktywni medialnie, udzielając wielu wywiadów. Jednak pomimo, że podczas konferencji tematyka klimatyczna była często obecna w mediach, to często słyszane były głosy sceptyków, którzy niezmiennie (i na przekór narastającemu świadectwu obserwacji) od kilkunastu lat z uporem powtarzają te same, mocno wątpliwe hipotezy o braku ocieplenia (a nawet o oziębieniu klimatu), a jednocześnie skutecznie znajdują drogę do mediów, które promują sensacyjne wypowiedzi do rangi definitywnej informacji.

Choroby rzepaku – Konferencja naukowa w ramach „Dni Nauki Polskiej w Federacji Rosyjskiej” Sankt Petersburg–Puszkina, 13–17 października 2008

Jerzy J. Lipa¹, Małgorzata Jędrzycka²

¹ Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu

² Instytut Genetyki Roślin PAN

ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Wprowadzenie

Do dobrej tradycji współpracy między Polską Akademią Nauk (PAN) oraz Rosyjską Akademią Nauk (RAN), Rosyjską Akademią Nauk Rolniczych (RASCHN) oraz Rosyjską Akademią Nauk Medycznych (RAMN) należy organizowanie co cztery lata konferencji naukowych dotyczących aktualnych zagadnień omawiających ważne dziedziny i kierunki naukowe. Przed czterema laty w ramach „Dni Nauki Rosyjskiej w Polsce” miało miejsce w Olsztynie–Starych Jabłonkach (12–13 X 2004 r.) bardzo ciekawe i udane sympozjum nt. „Biotechnologia i inżynieria genetyczna: mikroorganizmy roślin i zwierząt” [patrz *Postępy Nauk Rolniczych* nr 1/2005: 137–140].

Kontynuując tradycję w dniach 12–17 X 2008 r. w Moskwie, Petersburgu i Jekaterynburgu przebiegały „Dni Nauki Polskiej w Rosyjskiej Federacji” połączone z obchodami rocznicy 50-lecia podpisania umowy o stałej współpracy naukowej między PAN a RAN, RASCHN i RAMN.

Z uwagi na znaczny areal uprawy rzepaku oraz spożywcze, a także paliwo-energetyczne i techniczne wykorzystanie oleju rzepakowego w Polsce i w Rosyjskiej Federacji, jako temat konferencji w zakresie nauk rolniczych obie strony zaproponowały tematykę ochrony roślin uprawnych, a mianowicie choroby rzepaku i ogólne zagadnienia hodowli roślin uprawnych oraz zasobów genowych. Tematyka polsko-rosyjskiej konferencji została ogłoszona na stronach internetowych, co sprawiło, że w konferencji wzięli udział także specjaliści z Białorusi oraz Niemiec. Ze strony polskiej w konferencji uczestniczyli doc. Małgorzata Jędrzycka, doc. Piotr Kachlicki i mgr Joanna Kaczmarek z Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu oraz prof. Jerzy J. Lipa z Instytutu Ochrony Roślin PIB w Poznaniu.

Program konferencji „Choroby rzepaku”

Konferencja odbyła się w dniach 14–15 X 2008 r. we Wszechrosyjskim Naukowo-Badawczym Instytucie Ochrony Roślin (WIZR) w Sankt Petersburgu-Puszkynie, a obradom przewodniczyli profesorowie Mark M. Lewitin, Jerzy J. Lipa i Władimir A. Pawluszyn. Uczestnicy wysłuchali 12 referatów, których tematykę podajemy.

1. Laboratorium Mikologii i Fitopatologii im. A.A. Jaczewskiego – historia i aktualne badania” – A.P. Dmitriew, WIZR Sankt Petersburg. Tematyka badawcza laboratorium jest związana z chorobami zbóż, a od kilku lat – ze względu na współpracę z IGR PAN – prowadzono badania dotyczące chorób rzepaku. Zgromadzono kolekcję izolatów grzybów chorobotwórczych wobec tej rośliny uprawnej.
2. Rzepak oleisty w Polsce – hodowla w celu różnorodnego użytkowania – J. Krzymański, IHAR Poznań. Przedstawiono dane na temat wszystkich roślin oleistych badanych w Polsce i podkreślono zalety gatunków uznanych za szczególnie cenne w Polskich warunkach glebowo-klimatycznych. Są to następujące rośliny uprawne: rzepak jary i ozimy, len, Inianka, mak i gorczyca biała. Wymieniono cechy tradycyjnych i nowych odmian rzepaku. Scharakteryzowano polskie odmiany rzepaku z hodowli IHAR. Omówiono uwarunkowania uprawy rzepaku ozimego i jarego w Polsce oraz ich areal, plonowanie, produkcję i perspektywy wykorzystania w najbliższych latach.
3. Choroby rzepaku i genetyczne źródła odporności – M. Jędrzycka, IGR PAN Poznań. Przedstawiono listę chorób grzybowych rzepaku o szczególnym znaczeniu w Polsce oraz cechy diagnostyczne pozwalające na ich identyfikację w warunkach polowych i laboratoryjnych. Przedstawiono znane źródła odporności na choroby rzepaku i szczegółowo omówiono dane dotyczące suchej zgnilizny kapustnych oraz zgnilizny twardzikowej. Scharakteryzowano geny awirulencji u grzyba *Leptosphaeria maculans* występującego w Polsce i w krajach europejskich. Wymieniono znane geny odporności oraz metody prowadzące do uzyskania maksymalnie trwałej odporności na choroby, ze szczególnym uwzględnieniem suchej zgnilizny kapustnych.
4. Metabolity grzybów chorobotwórczych względem rzepaku – P. Kachlicki, IGR PAN Poznań. Na tle danych literaturowych przedstawiono wyniki badań uzyskane w Polsce i Rosji, a dotyczących wytwarzania szkodliwych metabolitów wtórnych przez grzyby powodujące choroby rzepaku. Szczególną uwagę poświęcono trzem gatunkom grzybów: *L. maculans* (producent sirodesminy), *L. biglobosa* (producent phomaliginy i kwasu benzoesowego) oraz *S. sclerotiorum* (producent kwasu szczawiowego).
5. Innowacyjne kierunki badań w Laboratorium Mikologii i Fitopatologii WIZR – M.M. Levitin, WIZR, Sankt Petersburg. Obecnie w laboratorium prowadzone są zaawansowane badania dotyczące fuzariozy zbóż, ze szczególnym uwzględnieniem fuzariozy owsa. Badania dotyczą także zmienności genetycznej grzybów rodzaju *Alternaria* oraz mikroorganizmów wykorzystywanych w ochronie biologicznej.

6. Fitosanitarny stan w agrocenozach rzepaku w Białorusi – W.W. Agejczik i S.W. Soroka, IZR ANB, Priłuki. W ostatnich latach na Białorusi nastąpił znaczny wzrost upraw rzepaku. Na plantacjach występuje większość patogenów znanych w centralnej i zachodniej części Europy. Omówiono zakres występowania i nasilenia poszczególnych chorób oraz ich wpływ na wysokość i jakość planu nasion oraz stosowane i perspektywiczne sposoby ich zwalczania.
7. System wspierania decyzji w ochronie rzepaku przed suchą zgnilizną kapustnych w Polsce – J. Kaczmarek, IGR PAN, Poznań. Omówiono cel, podstawy teoretyczne oraz sposób organizacji Systemu Prognozowania Epidemii Chorób (SPEC) w Polsce. Wskazano korzyści wynikające z wdrażania systemów wspierania decyzji w ochronie roślin, w tym systemu SPEC. Omówiono sposób działania systemu, metody przekazywania informacji o nasileniu inokulum grzybowego w poszczególnych regionach geograficznych Polski. Podsumowano dotychczas uzyskane wyniki i wskazano perspektywy zastosowania zgromadzonych danych do modelowania matematycznego. Uczestnicy spotkania otrzymali broszurki promujące system SPEC.
8. Perspektywy uprawy rzepaku w północno-zachodnich rejonach Federacji Rosyjskiej – L.P. Bekisz, LNIIR, Sankt Petersburg. Przedstawiono charakterystykę rolniczą północno-zachodniej części Federacji Rosyjskiej, a także perspektywy uprawy rzepaku w tym regionie oraz w innych częściach Rosji. Szczegółowo scharakteryzowano cechy odmian wyhodowanych w LNIIR na tle innych odmian wyhodowanych w Rosji. Scharakteryzowano poszczególne regiony klimatyczno-glebowe w Rosji, przydatność oraz rejonizację poszczególnych odmian rzepaku jarego i ozimego.
9. Molekularna charakterystyka grzybów chorobotwórczych dla rzepaku w Polsce – W. Irzykowski, IGR PAN, Poznań. Przedstawiono zakres polimorfizmu genetycznego w populacjach izolatów grzybów chorobotwórczych wobec rzepaku badanych w Polsce i w Rosji. Badania dotyczyły populacji *Sclerotinia sclerotiorum*, *Leptosphaeria biglobosa* oraz grzybów rodzaju *Alternaria*. Badania dotyczyły zakresu zmienności w obrębie sekwencji ITS1-5,8s-ITS2 oraz polimorfizmu oznaczonego metodą RAPD. Wyniki badań są efektem współpracy zespołów z IGR PAN, WIZR oraz WNIIMK.
10. Nowe gatunki grzybów izolowanych z roślin kapustowatych – L.I. Beresteckaja, WIZR, Sankt Petersburg. Przedstawiono szczegółową charakterystykę mikologiczną trzech nowych gatunków grzybów izolowanych z roślin kapustowatych (*Brassicaceae*): 1) *Melanospora lobelii* (CORDA) FÜCKEL var. *minor* PIDOPL. (*Ascomycota*, *Ceratostomataceae*); 2) *Acremonium apii* (M.A. SMITH et RAMSEY) W. GAMS (*Hypocreales*); 3) *Truncatella angustata* (PERS.: LINK) HUGHES (syn.: *Pestalotia truncata* LEV.). Dwa pierwsze gatunki wyizolowano z kapusty warzywnej (*Brassica oleracea*) natomiast trzeci gatunek stwierdzono na nasionach rzepaku (*B. napus*). Wymienione gatunki grzybów wyodrębniono z roślin ka-

pustowatych po raz pierwszy w Rosji i nie wiadomo czy stanowią zagrożenie dla upraw rzepaku.

11. Grzybowe choroby rzepaku w rejonie północno-zachodniej Rosji – E.D. Gasicz, L.B. Chlopunowa, A.A. Drobin, M.M. Levitin, VIZR, Sankt Petersburg. Przedstawiono listę i charakterystykę chorób grzybowych obserwowanych na rzepaku jarym w północno-zachodniej części Rosji. Szczególne znaczenie przypisano zgorzeli siewek, mączniakowi rzekomemu, czerni krzyżowych oraz kile kapusty. Przedstawiono także inne choroby spotykane w tym regionie, takie jak zgnilizna twardzikowa, wędnięcie fuzaryjne, sucha zgnilizna kapustnych i mączniak prawdziwy.

Dyskusja, podsumowanie konferencji i wnioski na przyszłość

W dyskusji po każdej prezentacji, a także podczas ogólnej dyskusji podsumowującej przebieg konferencji, uczestnicy zgodnie podkreślali, że współpraca zespołów badawczych WIZR RASCHN oraz IGR PAN zapewniła:

- przeprowadzenie równoległego monitoringu fitosanitarnego stanu upraw rzepaku w Rosyjskiej Federacji oraz w Polsce;
- zebranie i zdeponowanie w herbarium okazów roślin rzepaku porażonych przez różne chorobotwórcze mikroorganizmy;
- zebranie i zidentyfikowanie składu gatunkowego grzybów powodujących choroby rzepaku;
- sporządzenie kolekcji grzybów izolowanych z rzepaku, które będą przedmiotem dalszych badań biochemicznych i molekularnych dla celów naukowo-badawczych oraz dla potrzeb hodowli odpornościowej;
- wykonanie molekularnej analizy izolatów *Sclerotinia sclerotiorum* zebranych w Rosyjskiej Federacji i w Polsce;
- wynikiem udanej i owocnej współpracy zespołów badawczych IGR PAN oraz WIZR RASCHN jest opublikowanie trzech prac badawczych, a kolejne są w druku lub przygotowaniu.

W ramach ogólnej dyskusji na zakończenie konferencji, a także podczas roboczych rozmów w laboratoriach rosyjscy oraz polscy uczestnicy konferencji uznali za bardzo celowe kontynuowanie współpracy w ramach następujących zagadnień:

- fuzariozy zbóż i rzepaku;
- polimorfizm DNA u gatunków *Alternaria* spp. izolowanych z rzepaku;
- poszukiwanie źródeł odporności rzepaku na suchą zgniliznę kapustnych (*Phoma lingam*) oraz na inne choroby grzybowe. W najbliższych czterech latach współpraca w zakresie powyższej tematyki będzie kontynuowana pomiędzy PAN i RANR.

Centralna Biblioteka Rolnicza oraz Bank Genów i Centrum Bioróżnorodności

Polska grupa miała możliwość zapoznania się z dużymi zbiorami książkowymi Centralnej Biblioteki Rolniczej na Placu Hercena w centrum Petersburga, która powstała w wyniku carskiej decyzji 27 stycznia 1838 r. Szczególnie jednak interesujące były kilkugodzinne wizyty w dwóch słynnych na cały świat instytutach: Wszechrosyjskim Naukowo-Badawczym Instytucie Uprawy Roślin RASCHN im. N.I. Wawiłowa (WIR) oraz we Wszechrosyjskim Naukowo-Badawczym Instytucie Ochrony Roślin (WIZR).

Wszechrosyjski Naukowo-Badawczy Instytut Uprawy Roślin został zorganizowany przez Akademika N.I. Wawiłowa, który kierował nim w latach 1920–1940 i stworzył słynną na cały świat kolekcję roślin uprawnych, będącą wynikiem ekspedycji naukowej m.in. do Ameryki Północnej i Południowej. Jednak wskutek oszczędzającej kampanii podjętej przez Akademika Trofima Łysenkę i fałszywych oskarżeń Wawiłow został usunięty ze swych stanowisk i zmarł w odosobnieniu. Obecnie WIR jest jednym z wiodących w świecie Banków Genów Roślinnych UNESCO. Polska grupa została bardzo szczegółowo poinformowana o imponującym zakresie badawczym Instytutu, który ma unikalną kolekcję roślinnych zasobów genowych przechowywaną w najnowocześniejszych urządzeniach i kabinach niskiej temperatury. Bank Genów WIR współpracuje z Ogrodem Botanicznym PAN w Powsinie, który jest w strukturze Wydziału V Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych.

Spis treści

Osiągnięcia i problemy genetyki i biotechnologii zwierząt

- M. Świtoński** — Zwierzęta domowe jako modele w badaniach chorób dziedzicznych człowieka 9
- Z. Smorąg, R. Słomski, J. Jura** — Transgeniczne zwierzęta w hodowli, farmacji i biomedycynie. 23
- J. Bieniek** — Modyfikacje genetyczne – stan i perspektywy zastosowań w hodowli zwierząt gospodarskich 35
- Z. Zduńczyk, J. Jankowski** — Bezpieczeństwo stosowania genetycznie modyfikowanych roślin w żywieniu zwierząt w świetle wyników dotychczasowych badań. 53
- I. Kosieradzka** — Krajowe doświadczenia in vivo w ocenie wartości odżywczej i dietetycznej wybranych roślin transgenicznych 71
- F. Brzońska, J. Koreleski, W. Korol** — Skutki wprowadzenia zakazu stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt 83

* * *

- M. Placek, A. Dobrowolska, K. Wraga, A. Zawadzińska, P. Żurawik** — Wykorzystanie chitozanu w uprawie, przechowalnictwie i ochronie roślin ogrodniczych 101
- W. Cegielkowska, S.W. Gawroński** — Uciążliwe chwasty wieloletnie w rolnictwie ekologicznym. 111
- A. Bochenek, J. Gołaszewski, I. Gielwanowska** — Współczesne poglądy na pojęcie spoczynku nasion 127

Kronika

- Nagrody naukowe Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN w 2008 roku — **A. Horubała** 137
- Problematyka Szczytu Klimatycznego (Poznań, 1–12 grudnia 2008 r.) — **Z.W. Kundzewicz**. 149
- Choroby rzepaku – Konferencja naukowa w ramach „Dni Nauki Polskiej w Federacji Rosyjskiej” Sankt Petersburg–Puszkina, 13–17 października 2008 — **J.J. Lipa, M. Jędryczka**. 153

Contents

Achievements and problems of animal genetic and biotechnology

M. Świtoński — Domestic animals as models in studies on human hereditary diseases	9
Z. Smorąg, R. Słomski, J. Jura — Animal transgenesis in breeding, pharmacy and biomedicine	23
J. Bieniek — Genetic modifications in animal breeding – state of the art and future prospects	35
Z. Zduńczyk, J. Jankowski — Safety aspects in the use of genetically modified plants in animal nutrition on the basis of actual knowledge	53
I. Kosieradzka — Polish in vivo experiments in evaluation of nutritional and dietetic value of selected transgenic crops	71
F. Brzóska, J. Koreleski, W. Korol — Consequences of a ban on GM feeds in animal nutrition	83

* * *

M. Placek, A. Dobrowolska, K. Wraga, A. Zawadzińska, P. Żurawik — The use of chitosan in cultivation, preservation and protection of horticultural plants.	101
W. Cegielkowska, S.W. Gawroński — Burdensome perennial weeds in organic farming	111
A. Bochenek, J. Gołaszewski, I. Gielwanowska — Current views on the concept of seed dormancy.	127

Chronicle

Scientific awards granted in 2008 by the Division of Agricultural, Forestry and Veterinarian Sciences, PAS — A. Horubala	137
The problems of Climate Summit Conference (Poznań, 1–12 December 2008) — Z.W. Kundzewicz	149
The rape (Brassica napus) diseases – Scientific Conference during the „Days of Polish Science in Russian Federation”, St. Petersburg–Pushkin, 13–17 October, 2008 — J.J. Lipa, M. Jędryczka	153