

GENETIČKI MODIFIKOVANE BILJKE - DECENIJA KOMERCIJALNOG GAJENJA

DRINIĆ MLADENović SNEŽANA, DRINIĆ G., VANČETOVIC JELENA¹

IZVOD: *Godina 2005. obeležava početak desete uzastopne godine komercijalnog gajenja genetički modifikovanih biljaka u svetu. Prve genetički modifikovane sorte gajenih biljaka su se pojavile na tržištu 1995. godine i od tada su površine zasejane ovim usevima povećane na 81 milion hektara u 2004. godini. U navedenom periodu stvorene su genetički modifikovane sorte i hibridi gajenih biljaka sa unetim genom za tolerantnost na herbicide, otpornost na insekte, produženo vreme sazrevanja i poboljšan kvalitet. Gajenje genetički modifikovanih useva i promet brane poreklom od genetički modifikovanih biljaka pod strogom je kontrolom Evropske Unije koja je izdala nekoliko direktiva: 90/220, 2001/18, 2002/53, 1830/2003 kojima je ova oblast regulisana. U našoj državi Zakon o genetički modifikovanim organizmima usvojila je Savezna skupština u maju 2001 godine. Ovaj zakon sadrži opšte odredbe i u saglasnosti je sa regulativom Evropske unije. Pristupstvo GM u semenu i proizvodima može da se utvrdi detekcijom transgene DNK (PCR tehnik) ili proteina, produkata te DNK (imunološki metod).*

Ključne reči: *genetičke modifikacije, biljke, gajenje, regulativa*

Genetički modifikovane biljke

Cilj moderne biotehnologije je povećanje poželjnih svojstava biljaka, životinja i mikroorganizama unošenjem (modifikacijom ili utišavanjem) željenog gena. Razvoj molekularne biologije, genetike, metoda transformacije, kulture tkiva je omogućio identifikaciju i izolaciju gena iz različitih organizama, bakterija, virusa, gljiva, biljaka, životinja, i njihovo unošenje u biljni genom. Tako su prevaziđene reproduktivne i filogenetske barijere kao limitirajući faktor klasičnog oplemenjivanja. Genetičke modifikacije obuhvataju identifikaciju i izolaciju gena za željeno svojstvo iz odgovarajućeg organizma donora gena, njegovo ugrađivanje, integraciju i ekspresiju u biljci primaocu. Uneti gen postaje deo genoma biljke domaćina i nasleđuje se u potomstvu. Primenom tehnologije rekombinantne DNK dobijene su genetički modifikovane biljke (GMB).

Ova tehnologija se koristi za modifikaciju biljaka sa različitim poželjnim osobinama kao što su: tolerantnost na herbicide, otpornost na

insekte, tolerantnost na abiotički stres - sušu, niske i visoke temperature, zaslanjenost, poboljšani i promenjeni kvalitet. Bt gen je izolovan iz zemljišne bakterije *Bacillus thuringiensis* i prenet u biljke, gde se kao rezultat aktivnosti unetog gena sintetiše protein koji, kada se hranjenjem određenih vrsta insekata GM biljkama unese u digestivni trakt, vezuje za ćelije creva i izaziva njihovu liziju i smrt insekata. Transgen unet u Bt kukuruz je modifikovan gen *cry1Ab* (Carozzi and Koziel, 1997) koji obezbeđuje otpornost kukuruza na kukuruzni plamenac - *Ostrinia nubilalis*. Bt krompir sadrži modifikovan *cry3Ab* gen i otporan je na *Leptinotarsa decemlineata* (Perlak et al., 1993). Genetički modifikovan pamuk otporan na *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea* i *Pectinophora gossypiella* je modifikovan sa *cry1Ac* genom (Perlak et al., 1990). Genotipovi pamuka (Bolgard II) otporni i na *Spodoptera exigua* i *S. frugiperda* sadrže pored *cry1Ac* gena i *cry2Ab2* gen. Genotipovi kukuruza sa genom za rezistentnost na *Diabrotica virgifera* virgifera iz *Bacil-*

Pregledni rad (Review paper)

¹ DRINIĆ MLADENović SNEŽANA, naučni savetnik, DRINIĆ GORAN, naučni savetnik, VANČETOVIC JELENA, naučni saradnik, Institut za kukuruz ZemunPolje, Beograd

lus thurginesis tenebrionis su 2003. godine komercijalizovani u Americi. Kukuruz u koga su uneta dva gena *cry1Ab* i *cryBb*, otporan na kukuruzni plamenac i kukuruznu zlaticu je odobren za komercijalno gajenje u Americi.

Genetički modifikovane biljke tolerantne na herbicide su dobijene kao rezultat unošenja gena koji sprečavaju negativno dejstvo herbicida na rast i razvoj biljke. Do sad su stvorene genetički modifikovane biljke tolerantne na herbicide glifosat, glufosinat amonijum, imidazolin, sulfonurea, setoksidim i bromoksinil (Hart and Wax, 1999, Carpenter and Gianesi, 1999).

Mehanizam dejstva glifosata zasniva se na inhibiciji enzima 5- enolpiruvatsikamat 3-fosfat sintetaze (EPSPS) koji učestvuje u sintezi aromatičnih amino kiselina (tirozin, triptofan, fenilalanin). Nakon tretiranja, biljke apsorbuju herbicid listovima i transportuju ga u sva tkiva. Metabolizam biljaka se poremeti i biljka počinje da žuti, pa dobija braon boju, zatim dolazi do razgradnje korena i biljka uginje. Donor gena za otpornost na herbicid je bakterija *Agrobacterium tumefaciens* soj C4. Iz nje je izolovan gen za sintezu izmenjenog oblika enzima 5-enolpiruvatsikamat 3-fosfat sintetaze tzv. CP4EPSPS gen. Ovaj gen kodira enzim za koji se herbicid ne vezuje i sinteza aminokiselina se ne prekida (Padgette et al., 1993, Padgette et al., 1996).

Mehanizam dejstva herbicida širokog spektra dejstva čija je aktivna materija glufosinat se sastoji u inhibiciji sinteze enzima glutamin sintetaza koji učestvuje u konverziji amonijaka i glutamata u aminokiselinu glutamin. Ako je ovaj enzim inhibiran, u biljnoj ćeliji se taloži amonijak koji je u većoj koncentraciji toksičan i dovodi do smrti ćelije. Gen za otpornost na herbicid izolovan je iz zemljišnih aktinomiceta *Streptomyces sp.* i prenet u biljku. Ovaj gen kontroliše sintezu enzima fosfinotricin-acetil transferaza koji modifikuje molekul fosfinotricina dodajući mu N-acetil grupu, i ovakav izmenjeni PPT ne može da inhibira enzim glutamin sintetazu. Za dobijanje ove osobine poslužile su dve vrste aktinomiceta: *Streptomyces viridochromogens* i *Streptomyces hygroscopicus*.

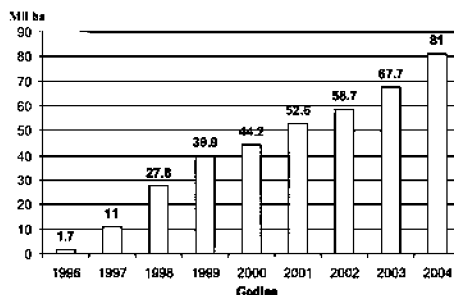
Genetički modifikovane biljke - komercijalno gajenje

Površine komercijalno zasejane genetički modifikovanim biljkama su se povećale 47 puta, od 1.7 mil ha u 1996. godini do 81 mil ha u 2004. godini (grafikon 1.). Više od trećine

ukupne površine je u zemljama u razvoju i u odnosu na prethodne godine po prvi put su površine zasejane genetički modifikovanim biljkama veće u zemljama u razvoju u odnosu na industrijske zemlje. Genetički modifikovane biljke gaji oko 8.25 miliona farmera u 17 država (James, 2004). Od toga 14 su biotehnoške mega države (sa 50.000 hektara): SAD, Argentina, Kanada, Brazil, Kina, Paragvaj, Indija, Južna Afrika, Urugvaj, Australija, Rumunija, Meksiko, Španija i Filipini. U EU Španija je jedina država koja gaji genetički modifikovane biljke na značajnijim površinama, uglavnom Bt kukuruz (na 58.000 ha). U Rumuniji se uglavnom gaji genetički modifikovana soja, kukuruz u Bugarskoj i u Nemačkoj na simboličnim površinama. Znatno veći broj država 63 je uključen u programe razvoja i ispitivanja genetički modifikovanih biljaka.

Graf. 1. Površine komercijalno zasejane genetički modifikovanim usevima 1996-2004 godina

Fig. 1. Global area of GM crops from 1996 to 2004



U protekloj deceniji u svetu su komercijalno gajene četiri genetički modifikovane biljne vrste soja, kukuruz, uljana repica i pamuk. Genetički modifikovana soja zauzima 48.4 mil ha, kukuruz 19.3 mil ha, pamuk na 9.0 mil ha, uljana repica 4.3 mil ha (tabela 1). Od ukupnih površina zasejanih sa ove četiri biljne vrste, 284 miliona hektara, 29% su genetički modifikovane biljke i to 56% od ukupne površine pod sojom je GM soja, uljana repica 19%, pamuk 28% i 14% od ukupnih površina pod kukuruzom je GM kukuruz.

U periodu od 1996 do 2004 godine dominantna osobina je tolerantnost na herbicide, 72% površina je zasejano GM biljkama sa ovom osobinom. Sledi otpornost na insekte sa 19% i kombinacija dve osobine, tolerantnost na herbicide i otpornost na insekte, sa 8.5%.

Tab. 1. Površine komercijalno zasejane genetički modificiranim biljkama u 2004. godini u svetu
Tab. 1. Global area of transgenic crops in 2004 year

Biljna vrsta	Tolerantnost na herbicide	Otpornost na insekte	Tolerantnost na herbicide + Otpornost na insekte	Ukupna površina GM biljke (mil ha)	Ukupna površina (mil ha)	Površina pod GM biljkama kao % ukupne površine
Soja	48.4	-	-	48.4	86	56%
Kukuruz	4.3	11.2	3.8	19.3	32	28%
Pamuk	1.5	4.5	3.0	9.0	23	19%
Uljana repica	4.3	-	-	4.3	143	14%
Ukupno mil ha	58.5	15.7	6.8	81.0	284	29%

Zakonska regulativa u EU i SCG

Svaki novi proizvod, uključujući i genetički modificirani, podleže rigoroznom ispitivanju bezbednosti, pre nego što se uključi u lanac ishrane. To uključuje molekularne, biohemijske, tehnološke, nutricionne, i podatke o alergenicima. Pojedini genetički modificirani proizvodi sadrže sastojke koji nikad ranije nisu bili deo lanca ishrane, i potrošači imaju prava da znaju šta jedu i da li je hrana bezbedna. Većina država je usvojila sopstvenu regulativu kojom je regulisano uvođenje u životnu sredinu, gajenje, promet i komercijalizacija genetički modificiranih organizama. Evropska zajednica izdala je nekoliko direktiva kojima se regulišu gajenje genetički modificiranih biljaka, kao i promet hrane koja vodi poreklo od njih (Official Journal of the European Union). Direktiva 90/220/EEC je doneta 1990. godine u cilju zaštite zdravlja ljudi i domaćih životinja, kao i zaštite životne sredine. Na osnovu nje odobreno je 18 GMO. U junu 1999. godine u EU uveden je moratorijum na uvođenje novih GM varijeteta u proizvodnju.

Tokom 2001. godine usvojena je direktiva 2001/18/EC kojom su pooštrena pravila za uvođenje GMO u životnu sredinu, obavezno praćenje nakon uvođenja na tržište, informisanje javnosti, obeležavanje GMO kao takvih ili u svim proizvodima u svim fazama stavljanja u promet. Zahtev za obeležavanje GMO i proizvoda se prvi put spominje u Smernici 258/97 Novel food ali su Smernicom 1139/98 postavljene odrednice za obeležavanje hrane i sastojaka hrane proizvedene iz RR soje i Maximazer kukuruza. Evropska komisija je tokom 2003. godine usvojila nove pravilnike o GMO (1829/2003, 1830/2003) koji uspostavljaju harmonizovan sistem za sledljivost i obeležavanje kao i stavljanje u promet GM prehrambenih proizvoda i stočne hrane. Uvedeno je pravilo jednavrata - jedan

ključ što znači da nije potrebno tražiti posebnu dozvolu za hranu za ljude i stočnu hranu, već se vrši jedinstvena procena rizika i daje se jedno odobrenje za sve moguće namene. Definisani su novi pragovi tolerancije, prag od 0,9% prisustva odobrenih GMO i prag od 0,5% za prisustvo GM koji su pozitivno ocenjeni na rizik ali nisu odobreni za stavljanje u promet, za obeležavanje GM prehrambenih proizvoda i stočne hrane. Takođe metode detekcije genetskih modifikacija moraju biti dostupni javnosti. Metodi su neophodni ne samo za detekciju prisustva GMO u prehrambenim proizvodima, već i za identifikaciju specifične modifikacije i određivanja količine prisutnog GMO u hrani.

Detekcija genetskih modifikacija u hrani biljnog porekla vrši se imunološkim i PCR metodama. Osnova svake detekcije je razlika između modificiranog i nemodificiranog genotipa na osnovu prisustva nove DNK sekvence (PCR metoda) ili ekspresije novog proteina (ELISA). U Evropskoj uniji je PCR metod prvi priznat za detekciju većine GMO trenutno prisutnih na tržištu (Lipp et al., 1999). Ovaj metod je razvio Pietsch et al. (1997), na osnovu detekcije kontrolnih sekvenci koje ograničavaju novo unet gen, 35S promotor i nos terminalna sekvenca. ELISA test je prihvaćen za detekciju RR soje (Lipp et al., 2000).

U našoj državi Zakon o genetički modificiranim organizmima usvojila je Savezna skupština u maju 2001 godine (Službeni list, 2001). Ovaj zakon sadrži opšte odredbe i u saglasnosti je sa regulativom Evropske unije. Zakonom su propisani uslovi za ograničenu upotrebu, proizvodnju i promet genetički modificiranih organizama i proizvoda kao i uslovi i mere da se izbegnu nepovoljni efekti prilikom ograničene upotrebe, proizvodnje i prometa genetički modificiranih organizama i proizvoda.

LITERATURA

- CAROZZI, N., and KOZIEL, M.G. (1997). Transgenic maize expressing a *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein for control of European corn borer. In *Advances in insect control: The role of transgenic plants* (Eds). N. Carozzi and M.G. Koziel (London, Taylor and Francis), pp 63-74.
- Directive 2001/18/EC, Official Journal of the European Union L 106, 17.04.2001
- HART, E.S. and WAX, M.L. (1999). Review and future prospectus on the impacts of herbicide resistant maize on weed management. *Maydica* 44, 25-36
- JAMES, C. (2004). Global review of commercialized transgenic crops. ISAAA, Ithaca, N.Y.
- LIPP, M., ANKLAM, E., STAVE, J.W. (2000). Validation of an immunoassay for detection and quantification of a genetically modified soybean in food and food fractions using reference materials: Intralaboratory study. *Jour. of AOAC International* 83, 919 - 927.
- LIPP, M., BRODMANN, P., PIETSCH, K., PAUWELS, J., ANKLAM, E. (1999). IUPAC collaborative trial study of a method to detect genetically modified soybeans and maize in dried power. *Journal of AOAC International* 82, 923-928.
- PADGETTE, S.R., RE, D.B., GASSER, C.S., EICHHOLTZ, D.A., FRAZIER, R.B., HIRONAKA, C.M., LEVINE, E.B., SHAH, D.M., FRALEY, R.T. & KISHORE, G.M. (1993). Purification, cloning, and characterization of a highly glyphosate-tolerant EPSP synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4. Monsanto Tech. Report MSL-12738, St. Louis, MO.
- PADGETTE, S.R., N.B. TAYLOR, D.L. NIDA, M.B. BAILEY, J. MACDONALD, L.R. HOLDEN, and R.L. FUCHS. (1996). The Composition of Glyphosate-tolerant Soybean Seeds is Equivalent to Conventional Soybeans. *J. Nutrition* 126:702-716.
- PIETSCH, K., WAIBLINGER, H., BRODMANN, P., WURZ, A. (1997). Screening Verfahren zur Identifizierung gentechnisch veränderter pflanzlicher Lebensmittel. *Deutsche Lebensmittel Rundschau* 93, 35-38.
- PERLAK, F.J., STONE, T.B., MUSKOPF, Y.M., PETERSON, L.J., PARKER, G.B., MCPHERSON, S.A., WYMAN, J., LOVE, S., REED, G., BIEVER, D., FISCHHOFF, D.A. (1993). Genetically improved potatoes: Protection from damage by Colorado potato beetle. *Plant Mol Biol.*, 22:313-321.
- PERLAK, F.J., DEATON, R.W., AMSTRONG, T.A., FUCHS, R.L., SIMS, S.S., GREENPLATE, J.T., FISCHHOFF, D.A. (1990). Insect resistant control plants: *Bio/Technology*, 8: 939-943.
- Službeni list SRJ (2001): Zakon o genetički modificiranim organizmima. Br. 21, Beograd, 11.maj.2001

GENETICALLY MODIFIED PLANTS - DECADE OF COMMERCIAL CULTIVATION

DRINIĆ MLADENović SNEŽANA, DRINIĆ G., VANČETović JELENA

SUMMARY

The year 2005 marks the beginning of the 10th consecutive year of commercial cultivation of genetically modified plants all around the world. The first GM variety of crops appeared on market during 1995 year and from that global area of biotech crops increased to 81 mil hectares in 2004. Genetically modified plant tolerant to herbicides, resistant to insects, improved quality have been developed. The use of GMO, their release into environment, cultivation, utilisation as food and feed is regulated in the EU by set of directives: 90/220, 2001/18, 2002/53, 1830/2003. In former Yugoslavia the law about GMO was adopted in may 2001. That law consist of common regulation and it is in accordance with EU regulation. Detection of genetic modification in seed and food could be done by PCR or ELISA methods.