

GENETIČKI PREINAČENE KULTURE U ZAŠTITI BILJA

TRANSGENIC CROPS IN CROP PROTECTION

Z. Ostojić, Z. Martinić-Jerčić

SAŽETAK

Tijekom posljednjih godina genetičko inženjerstvo razvilo se je do tog nivoa da su nam danas dostupne različite genetičke modifikacije. Tehnike prenošenja gena u biljke omogućuju prijenos željenih gena različitog podrijetla a da se pri tome ne mijenja kakvoća kultivara dotične vrste. Ta svojstva se, primjenom ove tehnike, postižu znatno brže u odnosu na klasičnu selekciju. Pri tome je veoma značajno da se genetičkim inženjerstvom mogu postići preinake koje nam klasičnim križanjem nisu dostupne. Pored indirektnih metoda prijenosa gena pomoću bakterija iz tla *Agrobacterium tumefaciens*, poznate su i neposredne gen-transfer metode kao npr. kemijsko tretiranje s PEG ili upucavanje gena pomoću genske puške i dr. Sedam genetički preinačenih biljaka: soja, kukuruz, pamuk, uljana repica (kanola), krumpir, tikvice i papaja, bile su uzgajane u svijetu tijekom 1999. godine. Vodeće zemlje, s gledišta zasijanih površina, bile su SAD sa 2,87 mil. ha (72%), Argentina sa 6,7 mil. ha (17%) i Kanada sa 4 mil. ha (10%). Devet preostalih zemalja posijale su nešto više od 0,3 mil. ha, što je iznosilo samo 1% ukupnih površina. Osnovne preinake uglavnom su u dvije usporedne godine bile slične. Kulture tolerantne na herbicide bile su zasijane na 71% površina u 1998. i 1999. godini. Površine kultura otpornih na insekte smanjene su sa 28% iz 1998. na 22% u 1999. godini. Površine zasijanih kultura istovremeno otpornih na insekte i tolerantnih na herbicide, povećane su sa 1% na 7%. Na biljne viruse tolerantne kulture (kukuruz, tikvica, papaja) zauzimale su samo 1% površina.

Ključne riječi: prijenos gena u biljke, kulture otporne na herbicide, insekte, biljne viruse

SUMMARY

Plant transformation have developed rapidly in the last ten years and most of the major crops are now amenable to genetic modification. The methods of gen transfer in plants provide the opportunity of transferring desirable gens from various sources specifically into certain host plants without changing their existing qualities. Breeding objectives can be achieved more quickly, and previously impossible breeding objectives can be attempted. In addition to indirect gene transfer with aid of the soil bacterium *Agrobacterium tumefaciens*, there are various direct gen-transfer methods such as chemical treatment with PEG, particle bombardment etc. The seven transgenic crops grown in 1999 were, in descending order of area, soybean, maize, cotton, rapeseed (canola), potato, squash and papaya. Global area of transgenic crops in 1999 year were 40 million hectares representing 72% of the global area. Argentina with 6,7 millions hectares equivalent 17% of global area, Canada 4,0 million hectares representing 10%. All other nine countries representing only 1%. The relative ranking of the principal transgenic traits were the same in 1998 and 1999, with herbicide tolerance being by far the highest at 71% in both 1998 and 1999. Insect resistant crop decreased from 28% in 1998 to 22% in 1999. Stacked genes from insect and herbicide tolerance increased from 1% in 1998 to 7% in 1999. Virus resistance traits in potatoes, squash and papaya occupied less than 1%.

Key words: gen transfer in plants, herbicide resistance, insect resistance and virus tolerance crops

UVOD

Uzgojiti novu sortu ili hibrid određene biljne vrste klasičnom selekcijom, dugotrajan je i skup posao. Klasičnom selekcijom, odnosno križanjem, cijeli se genetski materijal dviju biljaka spaja u jednoj biljci, tvoreći hibrid. Nakon toga se potomstvo rečenog hibrida tijekom nekoliko godina povratno križa s jednim od roditelja, sve dotle dok se ne dobije biljka (hibrid) željenih svojstava. Povratno križanje, međutim, ograničeno je samo na jedinke iste vrste koje daju plodno potomstvo.

Upravo zbog toga, spriječena je mogućnost izmjena nasljednih osnova gena među različitim vrstama i sorata željenih svojstava. Tehnikom kulture tkiva i biljnih stanica, samo je u nekim slučajevima moguće preskočiti barijere neplodnosti. Stoga je razumljivo da je čovjek nastojao pronaći bolje rješenje,

kao što je genetičko inženjerstvo, koje omogućava genetsku transformaciju biljaka i uzgoj novih sorti (bez obzira na genetsku srodnost roditelja) "po mjeri čovjeka". Pod izrazom **genetska transformacija** podrazumjevamo kontrolirano unošenje pojedinih oblika (alela) istih gena davaoca u buduću novu sortu primaoca (recipijenta). Preciznim tehnikama genetičkog inženjerstva, omogućeno je, dakle, pojedinačne alele gena poznatog učinka prenositi iz bilo koje vrste u bilo koju vrstu, bez obzira na srodnost među tim vrstama.

Genetičko inženjerstvo možemo razvrstati u genetičko inženjerstvo na biljkama ili tzv. "zeleno inženjerstvo", te genetičko inženjerstvo na životinjama ili tzv. "crveno inženjerstvo". Kao što je iz dosad rečenog vidljivo, u ovom članku ograničili smo se samo na inženjerstvo na biljkama.

Uvođenje novih alela gena (određenih segmenata DNA) u stanice nove biljne vrste postiže se različitim tehnikama kao npr. uporabom prirodnih vektora-bakterija ili virusa koji uz svoju DNA sadrže DNA određenog poželjnog gena, koji unosimo u novu sortu. Male dijelove DNA, koji predstavljaju poželjni alel gena (poželjnu formu gena) moguće je unositi u nove sorte neposrednim postupcima mikroinjektiranja i upucavanjem mikroprojektila u biljne stanice (genskom puškom) u novu buduću sortu (Jelaska, S., 1994., Tomzik, J. E., 1995., Ooms, 1992.).

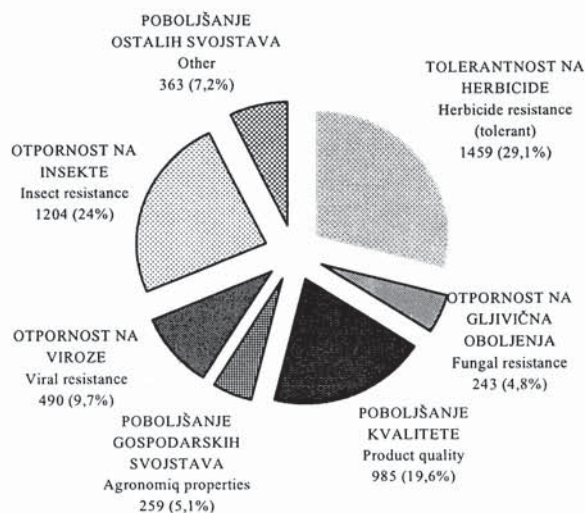
Otkako je 1982. godine postignuta prva genetska transformacija, odnosno otkako je postignut prvi uspješan unos nove forme (alela) istog gena DNA u stanice biljki, tehnike unosa znatno su uznapredovale. Danas je unošenje odsječaka DNA (alela gena) u biljne stanice usavršeno gotovo do rutinskih tehnika (Lazzeri, P. A., 1997.). Ipak, od prve uspješne genetske preinake biljnih sorti pa do njihova komercijalnog uzgoja u polju, proteklo je više desetljeća. Otada do danas, učinjen je čitav niz preinaka na komercijalno značajnijim sortama različitih kultura sa svrhom da se dobiju :

- sorte otporne na herbicide koji potpuno suzbijaju korove
- sorte otporne na kukce odnosno biljne štetočine
- sorte otporne na uzročnike biljnih bolesti (gljivična oboljenja) i biljne viruse (viroze)
- sorte većih priroda bolje kakvoće, povećane otpornosti na stres izazvan sušom, bolje reakcije na zaslanjeno tlo ili niske temperature, izmijenjenim aminokiselinskim sastavom
- sorte s promjenama u visini biljke, vremenu cvatnje ili dozrijevanja, s povećanom fiksacijom čistog ugljika i atmosferskog dušika, s poboljšanim čuvanjem proizvoda u skladištu, s povećanom otpornosti na transport, s poboljšanim nizom drugih gospodarskih svojstava.

Postoji još veliko neiskorišteno područje genetskih mogućnosti zanimljivih za prijenos u poljoprivredno značajne sorte. Neka poboljšanja sorti genetičkim inženjerstvom relativno je lako provesti, dok su druga vrlo teško dostupna (Jelaska, S., 1994.).

Prikaz 1. Broj poljskih pokusa s genetički preinačenim kulturama po namjeni (1987.-1998.)

Graph 1. Field Releases: Most Frequent Categories 1987 to 1998



Pri tome nam uvelike može pomoći molekularna biologija s tehnikama brzog pretraživanja nasljednih osnova s poželjnim učinkom na svojstva sorti. U tom smislu zanimljiva su razmišljanja dvojice istraživača s Cornell sveučilišta u SAD-u koji kažu da “križajući biljne vrste nastavljamo s gubitkom velikog dijela postojećeg genetskog potencijala umjesto da odmah pristupimo ‘mapiranju’ najboljih skupina svih gena u svim vrstama za svako svojstvo”. Na takvoj osnovi moguće je kreirati biljku gotovo idealnih svojstava. Da bi rečeno provjerili, najboljem kineskom hibridu riže, dodali su određene gene iz dva divlja srodnika te mu time uvećali prirod za 20-40%. Pokušavajući isto na primjeru rajčice, postigli su 48% veći prinos i umanjili omekšavanje ploda za 22%. Ipak, velika vrijednost genetičkog inženjerstva jest u spoznaji što omogućuje sasvim nov pristup problemu mijenjanja obilježja svojstava sorti. Ono nije zamjena oplemenjivanju bilja. Jer kako reče naš ugledni poljoprivredni genetičar i oplemenjivač pšenice prof. dr. Z. Martinić-Jerčić, “smisao biljne genetike, kako

klasične tako i genetičkog inženjerstva jest da služi oplemenjivanju bilja”. Stoga se s pravom očekuje da će se uz genetičko inženjerstvo u 21. stoljeću lakše nastaviti trend povećanja rodnosti poljoprivrednih biljnih vrsta, uspješno započet i razvijen do zavidne visine klasičnim genetskim metodama u 20. stoljeću.

Do sada su najveći rezultati u genetskoj transformaciji učinjeni na području zaštite bilja, što je vidljivo iz broja pokusa postavljenih tijekom jedanaest-godišnjeg razdoblja u prikazu 1.

Kao što je iz priloženog prikaza vidljivo po broju preinaka prednjače preinake otpornosti kultura na herbicide. Stoga u tablici 1 navodimo dinamiku komercijalnog uvođenja preinačenih kultura i herbicide na koje su selektivne (Phillips, M. et al, 1997.).

Tablica 1. Dinamika komercijalnog uvođenja genetički preinačenih kultura tolerantnih na primjenu herbicida

Table 1. Release dates of herbicide tolerant crops in initial markets

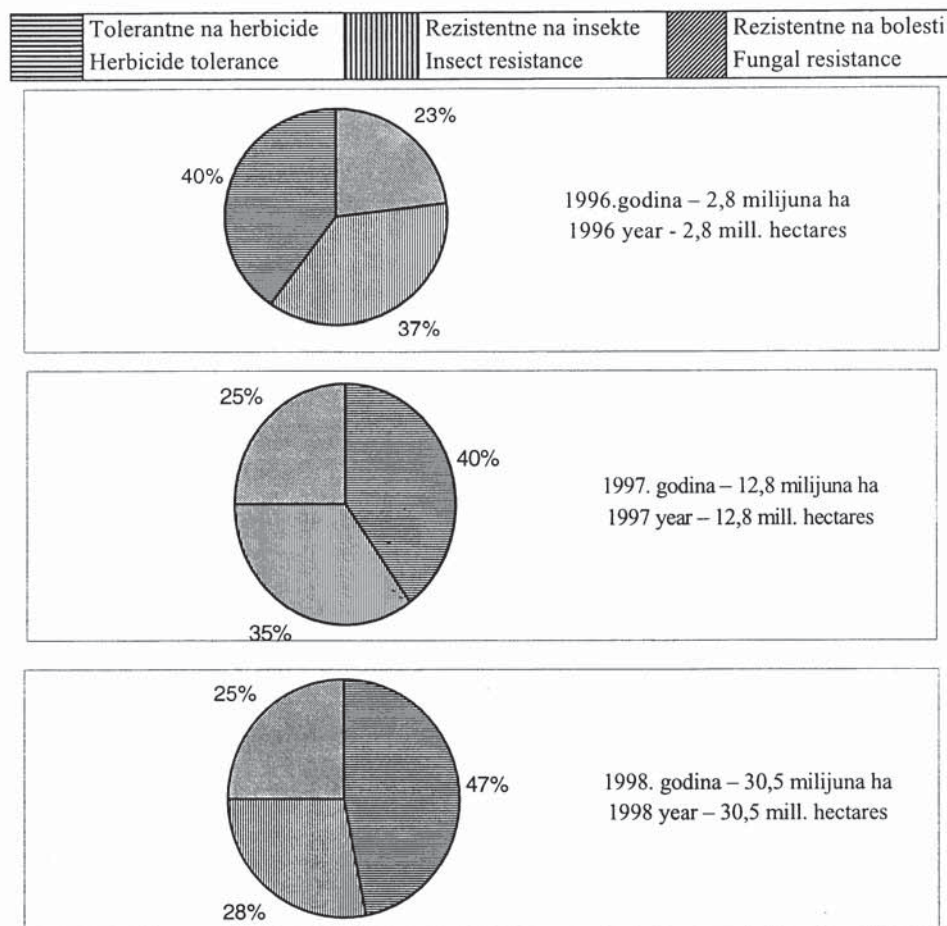
Godina Year	Tvrtka Company	Kultura i selektivni herbicid Crop	Komercijalna kratica Commercial common name
1992	Cyanamid	Imidazolinon rezistentni kukuruz	IMI Corn
1993	Du Pont	Sulfonilureja tolerantna soja	STS Beans
1995	Calgene	Bromoksinil rezistentni pamuk	BXN Cotton
1995	AgrEvo	Glufosinat rezistentna kanola	Liberty Link Canola
1996	Monsanto	Glifosat rezistentna soja	Roundup Redy Soybean
1996	Monsanto	Glifosat rezistentna kanola*	Roundup Redy Canola
1997	Monsanto	Glifosat tolerantni pamuk	Roundup Redy Cotton
1997	AgrEvo	Glufosinat tolerantni kukuruz	Liberty Link Maize
1997	AgrEvo	Glufosinat tolerantna soja	Liberty Link Soybean
1998/99	Monsanto	Glifosat tolerantni kukuruz	Roundup Redy Maize
1998/99	Rhone Poulenc	Bromoksinil tolerantni kanola, uljana repica i duhan	BXN Canolla, BXN Oilseed Rape, BXN Tobacco
2000 i kasnije	Monsanto	Glifosat tolerantne šeć. repa i uljana repica	Roundup Redy Sugar Beet, Roundup Redy Oilseed Rape
2000 i kasnije	AgrEvo	Glufosinat uljana repica i šećerna repa	Liberty Link Oilseed Rape, Liberty Link Sugar Beet

Kanola* = kanadska jara uljana repica

Canola*= Canadian oil seed rape

Iako je prva genetski preinačena kultura posijana u polje već 1992. godine, komercijalno značajnije površine požnjevene su tek tijekom 1996. godine. Ipak, rečene je godine vrijednost rezistentnih kultura na herbicide i kultura otpornih na insekte iznosila samo 235 milijuna dolara. Ukupno je bilo posijano 2,8 milijuna hektara, da bi samo dvije godine kasnije, ukupne površine zasijane genetički preinačenim biljkama iznosile 30,5 milijuna hektara (vidi prikaz 2).

Prikaz 2. Površine genetički preinačenih kultura u svijetu do 1998. godine
Graph 2. Global area of Transgenic Crops 1996 to 1998 (mill. of hectares)



Tablice 2 i 3 prikazuju površine genetički preinačenih kultura po namjeni i ukupne površine zasijane po pojedinim državama u svijetu u 1998. i 1999. godini (Clive, J., 1999). Kao što se može uočiti gotovo sve zasijane površine otpadaju na tri prekomorske zemlje.

Tablica 2. Površine zasijane genetički preinačenim biljkama po namjeni u 1998. i 1999. (mil. ha)
Table 2. Global Area of Transgenic Crops in 1998 and 1999 (mill. of hectares)

Namjena - Trait	98	%	99	%	Povećanje Increase
Tolerantne na herbicide	19,8	71	28,1	71	8,3
Rezistentne na insekte (Bt)	7,7	28	8,9	22	1,2
Bt/tolerantne na herbicide	0,3	1	2,9	7	2,6
Rezistentne na viruse/i dr.	<0,1	<1	<0,1	<1	<0,1
Ukupno - Total	27,8	100	39,9	100	12,1

Tablica 3. Površine zasijane genetički preinačenim biljkama po državama u 1998. i 1999. (mil. ha)
Table 3. Global Area of Transgenic Crops in 1998 and 1999 (mill. of hectares)

Država Country	98.	%	99.	%	Poveć. 98/99 Increase 98/99	Odnos Ratio
USA	20,5	74	28,7	72	8,2	0,4
Argentina	4,3	15	6,7	17	2,4	0,6
Kanada	2,8	10	4,0	10	1,2	0,4
Kina	<0,1	<0,1	0,3	1	0,2	3,0
Australija	0,1	1	0,1	<1	<0,1	-
J. Afrika	<0,1	<1	0,3	<1	<0,1	-
Meksiko	<0,1	<1	0,3	<1	<0,1	-
Španjolska	<0,1	<1	0,3	<1	<0,1	-
Francuska	<0,1	<1	0,3	<1	<0,1	-
Portugal	0	0	<0,1	<1	<0,1	-
Rumunjska	0	0	<0,1	<1	<0,1	-
Ukrajina	0	0	<0,1	<1	<0,1	-
Ukupno - Total	27,8	100	39,9	100	12,1	0,4

Naime, dozvolu za komercijalnu sjetvu genetički preinačenih kultura još uvijek posjeduje veoma mali broj zemalja. U Europi samo su Francuska i Španjolska imale dopuštenje. Uglavnom se sjetva svodi na nekoliko prekomorskih zemalja i na područje Kine. Površine kojom su zastupljene pojedine genetički preinačene kulture prikazane su tablicom 4 (Clive, J., 1999).

Tablica 4. Površine zasijane genetički preinačenim biljkama po zastupljenosti u 1999.

Table 4. Global Area of Transgenic Crops in 1999 by Crops (mill. of hectares)

Kultura - Crop	mil. ha	% gen. preinačenih % Transgenic
Soja tolerantna na herbicide	21,6	54
Bt kukuruz	7,5	19
Ulj. repica tolerantna na herbicide	3,5	9
Bt/herbicid tolerantni kukuruz	2,1	5
Pamuk tolerantan na herbicide	1,6	4
Kukuruz tolerantan na herbicide	1,5	4
Bt pamuk	1,3	3
Bt/herbicid tolerantni pamuk	0,8	2
Ukupno - Total	39,9	100

Nasuprot SAD-u i rečenim sljedbenicima, europske zemlje, naročito članice Europske zajednice, imaju znatno pažljiviji pristup. Za sada se vrše pokusi na ograničenim površinama na većem broju kultura s različitim preinakama. Pokusi s duhanom otpornim na bromoksinil (pripravak Pardner), uljanom repicom rezistentnom na glufosinat (Liberty Link), i s Bt kukuruzom istovremeno otpornim i na herbicid glufosinat, provode se već nekoliko godina u mnogim članicama EU. U tranzicijskim zemljama Europe, provode se pokusi s imidazolinon rezistentnim hibridima kukuruza (IR i IT), Roundup Redy i Liberty Link hibridima kukuruza kao i Bt hibridima kukuruza. U Danskoj i Vel. Britaniji već duže vrijeme provode se pokusi s preinačenim sortama šećerne i stočne repe otporne na herbicide. I pokusi s preinačenim krumpirom otpornim na virusne bolesti su u tijeku.

Uljana repica otporna na glifosat, glufosinat i bromoksinil koja se već uzgaja u Kanadi, u Francuskoj se proučava u poljskim pokusima. Tek nakon što se prouči mogućnost križanja s nekim srodnim samoniklim vrstama, donijet će se konačna odluka. Tijekom protekle godine u Francuskoj na 23.000 ha i u

Španjolskoj na 2.000 ha uzgajan je Bt kukuruz otporan na kukuruznog moljca. Međutim, ove godine zbog moratorija od tri godine, kojeg je donijela EU, sjetva u komercijalne svrhe nije obavljena. Računa se da će genetički preinačene kulture i u 2000. godini biti uzgajane uglavnom na području gdje se i danas uzgajaju.

Kroz posljednje tri godine i u Hrvatskoj su postavljeni pokusi s kukuruzom preinačenim na herbicide glifosat i glufosinat te s Bt hibridima otpornim na kukuruznog moljca. Jednako kao i u drugim zemljama, i u Hrvatskoj dopuštenje za postavljanje pokusa potrebno je zatražiti od kompetentne institucije. U Hrvatskoj je u svibnju 1998. godine Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva osnovalo Povjerenstvo za praćenje istraživanja i razvoj svojstava genetički preinačenih biljaka. Za provođenje pokusa zadužuju se stručnjaci specijalisti dotične specijalnosti, zaposleni u znanstvenim institucijama. Istovremeno Povjerenstvo određuje i stručnu nadzornu osobu, kojoj je zadaća nadzirati pokus i voditi brigu da se on izvede po propisanoj metodici i da su poduzete propisane higijenske mjere (Rukavina, B. et al, 2000.).

No i pored nepobitnih koristi koje donosi genetičko inženjerstvo, mnoge stvari koje se odnose na ovu problematiku nisu još, ili su samo djelomično, razjašnjene (Rukavina, B. et al, 2000., Hill, J. K., 1998.). Najčešća pitanja vezana uz ovu problematiku mogu se svesti na sljedeće:

- zakonska regulativa
- briga za okoliš
- sigurnost namirnica i ishrane novostvorenim biljnim plodinama
- procjena rizika
- etička upitnost
- odnos između znanosti i društva
- agronomski aspekt
- zakonska zaštita biotehnologije i politika patenata
- organizacija kolektivnog nadzora.

Osvrnut ćemo se samo na neka značajnija pitanja. Zakonska regulativa, osnovica je na kojoj mora počivati sva problematika u svezi s genetičkim inženjerstvom. Nažalost, u našoj državi jednako kao i u većini europskih zemalja, još nije donijet Zakon koji bi pravno regulirao ovu problematiku. Vlada Republike Hrvatske osnovala je u travnju 1999. godine Bioetičko povjerenstvo radi praćenja problematike plasmana na tržište proizvoda koji sadrže ili se sastoje od genetski modificiranih organizama. Nešto kasnije, u

srpnju mjesecu, ponovnom odlukom Vlade preinačen je naziv u Bioetičko povjerenstvo za praćenje genetski modificiranih organizama. Povjerenstvo je održalo tri sjednice i kao prioritetnu zadaću odredilo si je da izradi prijedlog Zakona koji će pravno regulirati ovu problematiku. Kod izrade prijedloga Povjerenstvo treba voditi računa da on bude u skladu s kriterijima EU i WTO. Upravo radi rečenog, prijedlog Zakona zasnivat će se na Direktivi Vijeća 90/220/EEC, što je osnovica za iste propise u zemljama članicama EU. U travnju 2000. godine odlukom Ministarstva poljoprivrede i šumarstva Republike Hrvatske s radom je prestalo Povjerenstvo za praćenje istraživanja i razvoj svojstava genetički preinačenih biljaka. Kao razlogom ovakvoj odluci, navodi se da sve vezano uz genetički modificirane organizme, s potpunom odgovornošću može obavljati rečeno Bioetičko povjerenstvo.

Već duže vrijeme putem sredstava javnog priopćavanja u našoj javnosti relevantna tijela nekih političkih stranaka, pojedinci, predstavnici različitih nevladinih udruga (Zelena akcija), ali i predstavnici nekih vladinih institucija, kroz brigu za okoliš iskazuju nezadovoljstvo neriješenim statusom problematike vezane uz genetičko inženjerstvo. Slična situacija je i u drugim europskim zemljama. Donošenjem zakonske regulative, riješit će se samo dio ove problematike.

I nadalje će ova problematika biti predmetom interesa javnosti, jednako tako kao što su u prošlosti to bile neke nove tehnologije.

LITERATURA

- Gatehouse, A. M. R., Brown, D. P., Wilkison, H. S., Down, R. E., Ford, L., Gatehouse, J. A.** (1998): The use of transgenic plants for the control of insect pests. 1998 BCPC Symposium Proceedings No. 71, str. 23-33.
- Hill, J. E.** (1998): Public concerns over the use of transgenic plants in the protection of crops from pest and diseases and government responses. 1998 BCPC Symposium Proceedings No. 71, str. 55-65.
- James, C.** (1999): Preview – Global Review of Commercialized Transgenic Crops. 1999 ISAAA Broad of Directors, str. 10.
- James, C.** (1999): Preview – Global Review of Commercialized Transgenic Crops. 1999 ISAAA Broad of Directors, str. 43.
- Jelaska, S.** (1994): Genetska transformacija biljaka i genetičko inženjerstvo. Kultura biljnih stanica i tkiva, str. 293-309, Školska knjiga, Zagreb.

- Lazzeri, P. A.** (1998): Techniques for the development of transgenic crops in crop protection. 1998 BCPC Symposium Proceedings No. 71, str. 3-10.
- Melchers, L. S., Stuiver, M. H.** (1998): The development of transgenic plants for the control of plant diseases. 1998 BCPC Symposium Proceedings No. 71, str. 11-21.
- Ooms** (1992): genetic engineering of plant cultures. In "Plant biotechnology". Eds. Fowler, M. W. and Warren, G. S., str. 233-257, Pergamon Press Oxford.
- Phillips, M., Galloway, F., Mc Dougall, J.** (1997): The impact of transgenic plants on markets. Cultivar, Special issue, str. 18-20.
- Rukavina, B., Ostojić, Z., Nežić, Lj.** (2000): Agricultural biotechnology in Croatia, pp 9, Central and Eastern European Forum on Biotechnology, Nitra.
- Sykes, G. L.** (1998): The commercial aspects of the development of transgenic crop with herbicide tolerance. 1998 BCPC Symposium Proceedings No. 71, str. 87-97.
- Tomzik, J. E.** (1995): Significance of gene transfer for plant breeding. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer, Special Issue, str. 6-21.

Adresa autora – Author's address:

Primljeno: 20. 9. 1999.

Prof. dr. Zvonimir Ostojić,
Prof. dr. Zdravko Martinić-Jerčić
Agronomski fakultet Zagreb
Svetošimunska 25, 10000 Zagreb