

GMO 2.0: NOVI NAZIV – STARI PROBLEM¹

Ivica Kelam

Centar za integrativnu bioetiku
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Trg Sv. Trojstva 3, 31 000 Osijek
e-mail: kelamivica@gmail.com

Sažetak

Tijekom posljednjih godina došlo je do velikog napretka u tehnikama genetičkog inženjeringa, koji se očituje u većoj mogućnosti dubljeg i složenijeg zahvata u genetski sastav i metaboličke putove živih organizama. To je dovelo do pojave dvaju novih područja genetičkog inženjeringa koja se međusobno preklapaju: sintetičke biologije i skupa tehnika genetičkog inženjerstva koja se eufemistički zovu Nove tehnike oplemenjivanja biljaka (engl. New plant breeding techniques – NPBT). Trenutno postoji popis sedam „novih“ tehnika genetičkog inženjeringa pred Europskom komisijom, koja treba odlučiti pokrivaju li zakoni EU o GMO-u proizvode tih tehnika. Moguća primjena tehnika genetičkog modificiranja zahtijeva strogu primjenu načela opreza i potrebno je sustavno praćenje i evaluacija u svim fazama u skladu s EU Direktivom 2001/18. Biotehnološka industrija tvrdi da ove tehnike nisu tehnike genetičkog modificiranja u skladu s trenutnom pravnom definicijom GMO-a te da Direktiva 2001/18 treba izuzeti ove tehnike, budući da konačni proizvod ne sadrži genetički modificirani materijal, čak i ako je u nekom trenutku razvoja i korišten genetički inženjering. Europska komisija trenutno radi na pravnom tumačenju propisa o reguliranju, kao i mnoge odvjetnici iz biotehnološke industrije i civilnog društva. Potrebno je naglasiti, imajući u vidu tumačenja pravne regulative i rizika, da se neke od tih tehnika mogu koristiti također u kombinaciji s drugima, ili da se ista tehnika može koristiti više puta kako bi se postigao željeni učinak.

U radu ćemo prikazati ovih sedam tehnika iz znanstvene perspektive, a primarni nam je cilj bolje razumjeti ove tehnike i inherentne rizike povezane s njima. Istražujući vjerojatne neželjene učinke ovih tehnika postaje jasno da sve ove tehnike za koje se tvrdi da su iznimno precizne sve imaju efekt promašaja mete s nepredvidivim posljedicama. Zapravo, tzv. preciznost vrlo je neprecizan pojam, te se ne smije miješati s predvidljivošću. Očekivani doprinos rada ide prema prepoznavanju i naglašavanju činjenice da nove tehnike genetičkog modificiranja koje su zaštićene patentima vode privatni interesi, te ne mogu biti rješenje za budućnost poljoprivrede.

Ključne riječi: *okoliš, nove tehnike oplemenjivanja biljaka, genetski inženjering, poljoprivreda, GMO, EU Direktiva 2001/18*

¹ Ovaj rad nastao je u sklopu istraživačkog programa *Znanstvenog centra izvrsnosti za integrativnu bioetiku* (proglašen 10. studenoga 2014. odlukom ministra znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske), koji se ostvaruje na Filozofskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, instituciji nositeljici Centra.

1. UVOD

U Europskoj su uniji tehnike genetičkog modificiranja regulirane EU Direktivom 2001/18 koja propisuje točno definirane uvjete za sjetvu genetički modificiranih usjeva. Sustav je daleko od savršenog, a ako hrana ili usjevi proizvedeni pomoću metoda genetičkog modificiranja dobiju „zeleno svjetlo“ za sjetvu ili uvoz, direktiva jasno propisuje proces praćenja i označavanja. Ovo bi se moglo promijeniti na grupu takozvanih *Novih tehnika oplemenjivanja biljaka*, ukoliko se one izbjegnju pravno klasificirati kao tehnike genetičkog modificiranja koje potpadaju pod Direktivu 2001/18. Ove tehnike nisu uopće navedene u Direktivi 2001/18 kojom se utvrđuju pravila o genetičkom modificiranju, jer uopće nisu bile izumljene u vrijeme kada je napisana direktiva. Za ove tehnike oplemenjivanja bilja predviđa se da će u dogledno vrijeme zamijeniti klasične tehnike genetičkog modificiranja biljaka (Servick, 2016). Ove tehnike postale su poznate pod zajedničkim nazivom *Nove tehnike oplemenjivanja biljaka*, pri čemu sam naziv sugerira kako ove tehnike nemaju nikakve veze s tradicionalnom tehnikom genetičkog modificiranja, pri čemu se naglašava kako se kod ovih tehnika ne primjenjuje transgeneza². Upravo zbog stalnog naglašavanja razlike među njima, pokušava se stvoriti dojam u javnosti da su ove tehnike puno preciznije i sigurnije u odnosu na dosadašnje tehnike genetičkog inženjerstva. Međutim, a to je ključno za istaknuti, ove tehnike uključuju proces modificiranja genoma u laboratoriju, te stoga dijele iste opasnosti i rizike kao i postojeće tehnike genetičkog modificiranja, kao i mnoge nove. Ove nove tehnike nemaju povijest sigurne upotrebe te stoga nužno trebaju biti predmet odgovarajućih propisa. Upravo zbog velikih kontroverzi koje okružuju ove tehnike, EU komisija je trebala još 2015. donijeti odluku potpadaju li ove tehnike pod Direktivu 2001/18 o reguliranju GMO-a, ili ih nije potrebno posebno regulirati. Zbog velike kontroverze koju ove tehnike izazivaju u stručnoj javnosti, odluka je odgođena do proljeća 2016., da bi konačno krajem ožujka 2016. odlučeno da se odgađa donošenje odluke do daljnjeg (Michalopoulos, 2016). U međuvremenu nijedna od ovih tehnika ne može dobiti dozvolu za komercijalnu upotrebu na području Europske unije. Zbog svega navedenoga, u radu ćemo analizirati sedam tvz. novih tehnika oplemenjivanja biljaka te ćemo nakon kratkog objašnjenja ukazati na moguće neželjene posljedice i rizike svake od njih.

2. TEHNIKE UREĐIVANJA GENA – GENE EDITING TECHNIQUES

2.1. *Zinc finger nucleases*

Tehnici ZFN genetičkog inženjerstva je cilj namjerna promjena u genetskom sastavu i svojstvima organizma te pripada u tehnike uređivanja gena (engl. *gene editing techniques*). Cilj joj je moći promijeniti slijed DNK, kako bi se brisala, zamijenila ili stavila

² Transgeneza je proces unošenja stranih gena u živi organizam, rezultat ovog procesa je ispoljavanje novih svojstava i njihov prijenos na potomstvo.

DNK sekvenca na unaprijed određena mjesta u genomu (Krishna, 2003). Na taj način, ciljevi ove tehnike ne razlikuju se od bilo koje druge tehnike genetičkog inženjerstva. U slučaju tehnike „uređivanja“, to može značiti male promjene u 1-10 nukleotida (ZFN – 1 i 2), ili velikih hvatišta cijelih gena, uključujući i transgena (ZFN – 3). U tu se svrhu DNK molekulu prvo treba „rezati“ na određenom mjestu. ZFN su proteini koji su prilagođeni i dizajnirani za korištenje u tu svrhu. Zink finger komponenta može prepoznati određeni kratki dio DNK (9-12 baza) nukleazne komponente te će smanjiti DNK na tom mjestu. To zahtijeva dva ZFN – svaki treba pristati dijagonalno preko dvolančane DNK – za rezanje u oba smjera. Ovaj rez DNK će potaknuti stanični mehanizam popravka DNK te će je ponovno zajedno sastaviti na slobodnim krajevima, a što će rezultirati velikim brojem mogućih ishoda (Ramirez i sur., 2012).

ZFN tehnika je poznata po ne-specifičnom vezanju na ne-ciljne DNK i na taj način dovodi do povećane razine mutacija u genomu povezanih s efektom promašaja mete. Ove mutacije mogu: a) ako se događaju u kodirajućoj sekvenci imati za posljedicu promjene funkcije proteina, ili b) ako je u regulacijskoj sekvenci, dovesti do promjena u ekspresiji gena, kao što su povećana prisutnost biljnih toksina, ili odsutnosti proteina važnih za prehrana, obranu ili otpornost na bolesti (Fine i sur., 2014).

DNK predložak može se integrirati slučajno u genom bilo u cijelosti ili u dijelovima, kao što se događa kod transgenskih umetanja, što može dovesti do narušavanja gena i regulatornih sekvenci ili potencijalno rezultirati promjenom proteina. Posljedice mogu biti smanjenje performansi, pojačana podložnost bolestima, nakupljanje toksina i ostataka, povećanje alergena.

U proizvodnji ZFN genetički modificiranih biljaka koriste se transformacijski i transfekcijski procesi koji mogu dovesti do daljnjih mutacija. Možemo zaključiti da je ZFN tehnika, tehnika genetičkog inženjerstva te joj je svrha utjecati na namjerne promjene mehanizma genetskog popravljavanja u stanici kako bi se dobile poželjne osobine u organizmu. Zbog ZFN aktivnosti ova tehnika je sklona efektu promašaja mete, što može rezultirati stotinama mutacija i mnoštvu neželjenih efekata (Pattanayak i sur., 2011). Nadalje, mehanizam vlastitog popravka u biljaka koji je ključan za primjenu ove tehnike nije u potpunosti poznat što dodatno povećava neizvjesnosti i umnožava nepoznanice. Iako kod ZFN tehnike nema transgeneze te se po tim kriterijima a prema mišljenju promotora ove tehnike ne bi trebala smatrati tehnikom genetičkog modificiranja. Zbog svih drugih nepoznanica i mogućih posljedica tehniku ZFN treba tretirati sukladno Direktivi 2001/18 o GMO-u.

2.2. TALEN – transcription activator-like effector nucleases

TALEN su restrikcijски enzimi koji se mogu konstruirati u svrhu rezanja specifičnih sekvenci DNK. Oni se dobiju fuzioniranjem TAL djelovatelja s vezujućom domenom DNK na domenu cijepanja DNK (s nukleazom koja reže lance DNK). Transkripcijski aktivator nalik djelovateljima (TALE), mogu se konstruirati da vežu praktički bilo koju željenu DNK sekvencu, te u kombinaciji s nukleazom DNK se može smanjiti na određenim mjestima (Boch, 2011). Restrikcijски enzimi mogu se uvesti u stanice, za uporabu u uređivanju gena ili za uređivanje u samom genomu i to tehnikom poznatom kao

uređivanje genoma s proizvedenim nukleazama. Iako pojedini autori navodi kako je ova tehnika vrlo precizna, štoviše najpreciznija do sada (Wei i sur., 2013), moguća je pojava efekta promašaja mete koja može odvesti do pucanja dvostrukog lanca i premještanja kromosoma te posljedično do smrti stanice (Mussolino i sur., 2011). Upravo zbog efekta promašaja mete i mogućih nepredvidljivih štetnih posljedica o kojima se nedovoljno zna, nužan je oprez i tretiranje ove tehnike u skladu s Direktivom 2001/18.

2.3. CRISPR/Cas 9 – *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats*

CRISPR su dijelovi prokariotske DNK koja sadrži kratka ponavljanja baznih sekvenci. Svako ponavljanje slijede kratki segmenti „DNK odstojnika“ (engl. *DNA spacers*) iz prethodnih izlaganja djelovanju bakteriofaga ili plazmida (Marraffini i Sontheimer, 2010). CRISPR/Cas sustav je prokariotski imunološki sustav koji dovodi do rezistencije na strane genetičke elemente kao što su oni koji postoje unutar plazmida i bakteriofaga, te pruža oblik stečenog imuniteta (Redman i sur., 2016). CRISPR povezani proteini (CAS) koriste CRISPR odstojnike da prepoznaju i izrežu ove egzogene genetske elemente na način analogan onom miješanja RNK u eukariotskim organizmima. Dostavljanjem Cas9 nukleaze i odgovarajućim vođenjem RNK u stanici, stanični se genom može rezati na željenom mjestu, omogućujući da se postojeći geni mogu ukloniti i / ili dodati novi (Hendel i sur., 2015). Cas9 je bila prva otkrivena nukleaza, nakon čega slijedi Cpf1, koji je otkriven u CRISPR/Cpf1 sustavu bakterije *Francisella Novicida* (Zetsche i sur., 2015). Korištenje CRISPR za uređivanje genoma vrlo utjecajne *Američke udruge za unapređivanje znanosti* u prestižnom časopisu *Science* proglašeno je znanstvenim probojem godine 2015 (Travis, 2015). Bioetički problemi ove tehnike najviše se očituju u mogućoj primjeni ove tehnike za uređivanje ljudske zametne linije (Ledford, 2015). CRISPR/Cas9 tehnika izazvala je pravu revoluciju na području uređivanja gena (Stella i Montoya, 2016), zbog velikog potencijala koji ova tehnika ima na širokom području od uređivanja ljudske zametne linije preko uređivanja genoma životinja do primjene u poljoprivrednoj biotehnologiji. Unatoč velikim očekivanjima od ove tehnike, mnogi autori pozivaju na oprez, zbog mogućih nepredvidljivih posljedica kao npr. efekta promašaja mete, problema kod mehanizma koji identificira ciljano područje, katalitički mehanizam Cas9 (Peng i sur., 2015). Upravo zbog mnoštva nepoznanica koje okružuju ovu tehniku, unatoč njenoj potencijalnoj velikoj primjeni u budućnosti na mnoštvu područja, nužan je oprez i primjena Direktive 2001/18 uz striktno primjenjivanje načela opreza i primjerenu procjenu rizika.

3. USMJERENA MUTAGENEZA POMOĆU OLIGONUKLEOTIDA – OLIGONUCLEOTIDE-DIRECTED MUTAGENESIS (ODM)

Cilj je ove tehnologije stvoriti male i unaprijed osmišljene promjene u vrlo specifičnim mjestima u genima, kako bi promijenile funkciju genskog proizvoda ili zaustavili njegovu proizvodnju. Za to je ključan oligonukleotid koji je ustvari sintetski proizvod, a sastoji se od kratkog slijeda jednolančane nukleinske kiseline (Osakabe i sur., 2006). Oligonukleotid je dizajniran tako da je skoro identičan sekvenci DNK ciljanog gena

te se razlikuje u samo 1-4 nukleotida. Ovime će se napraviti nepodudaranje sekvenca kada se oligonukleotid veže na ciljani gen, izazivajući specifične promjene DNK (mutacije). Kada se stanični mehanizam vlastitog popravka DNK aktivira, u procesu popravka sačuva sekvencu oligonukleotida umjesto izvorne sekvence. Ova tehnika ima moguće štetne promjene i rizike koju uključuju: Učinak promašaja mete: Oligonukleotid može se vezati na druge dijelove DNK koji su dovoljno slični, gdje postoji vjerojatnost da će izazvati neželjene mutacije. To pak može rezultirati promjenama ili gubitkom funkcije proteina, ili promjene u ekspresiji gena, te dovodi do problema kao što su povećana prisutnost biljnih toksina. Oligonukleotid može se integrirati u biljni DNK na sličan način kao kod transgenskog umetanja, ometajući gene i regulatorne sekvence, a što može potencijalno rezultirati pojavom izmijenjenih proteina (Eckerstorfer i sur., 2014). Budući da se u ovoj metodi koriste kulture tkiva i metode genetičke modifikacije poput transformacije ili transfekcije, poznato je da one mogu dovesti do mnoštva nenamjernih mutacija (Beetham i sur., 1999). U blizini ciljnog mjesta uočene su mutacije u genetički modificiranim organizmima nastalim ovom tehnologijom (Zhu i sur., 2000). Ovisno o korištenju oligonukleotida, postoji rizik da oligonukleotidi mogu ometati regulaciju izražavanja gena u stanici, na način da se aktivira interferencija RNK (RNAi) a što može dovesti do utišavanja gena. To se može manifestirati kod nasljednih promjena, koje mogu trajati mnoge generacije, a koje opet ovise o različitim čimbenicima o kojima se ne zna dovoljno. Iz svega navedenoga možemo zaključiti da je tehnologija ODM tehnologija genetičkog inženjeringa, te može dovesti do istih ili sličnih izravnih i neizravnih negativnih utjecaja kao i trenutni proizvodi nastali genetičkim inženjeringom koji su na tržištu, bilo zbog željenog svojstva kao što je slučaj s CIBUS-ovom uljanom repicom otpornom na djelovanje herbicida na bazi sulfonilureje,³ ili zbog procesa i metoda koji se koriste te potencijalne integracija oligonukleotida. Zbog svega navedenoga nužan je oprez i potpuna procjena rizika, te kontinuirani monitoring, uz jasno pridržavanje Direktive 2001/18.

4. CISGENEZA I INTRAGENEZA – CISGENEZIS AND INTRAGENESIS

Cisgeneza i intrageneza su u osnovi iste kao i transgeneza, ali umjesto da je porijeklo sekvence DNK iz potpuno različitih vrsta ili se upotrebljava nova sintetička sekvenca DNK, umetnuta sekvenca DNK potječe iz iste ili bliske srodne vrste, one s kojima bi se biljka, barem u teoriji, mogla križati. U cisgenezi umetnuta DNK bit će izrađena u skladu s točnom sekvencom gena pronađenog u organizmu srodnog donatora. U intragenezi umetnuti genski slijed je kompozitni, sastavljen od sekvenci i

³ CIBUS-ova uljana repica otporna na djelovanje herbicida na bazi sulfonilureje je prvi komercijalni proizvod koji se nalazi na poljima SAD-a. CIBUS na svojoj mrežnoj stranici navodi kako je riječ o proizvodu ne-GMO, te najavljuje da će u narednih 10 godina na tržište plasirati mnoštvo proizvoda koji će svi biti proizvodi ne-GMO. Na taj se način suptilno naglašava kako proizvodi nastali uz pomoć ove tehnike nisu kontroverzni i etički upitni, za razliku od klasičnih GMO-a.

elemenata iz različitih gena jednog ili više usko srodnih vrsta. Stoga ne čudi da mnogi zagovornici ove tehnike predlažu kako nije potrebno regulirati cisgenezu i intragenezu kao transgenezu (Jacobsen i Schouten, 2008). Kada govorimo o neželjenim promjena i rizicima nevažno je dolazi li sekvenca DNK iz iste ili srodnih vrsta, proces genetskog inženjeringa je isti kao i kod transgeneze, te uključuje iste rizike i nepredvidljivosti. Može doći do slučajne integracije premještene DNK koja može narušavati drugi gen ili ometati regulaciju susjednih gena (pozicijski efekti). Na mjestu umetanja može doći do mutacije kao i mutacije na genomu, također dolazi do mnoštva mutacija koje proizlaze iz transformacijskih procesa, uključujući učinke na kulturi tkiva. To može uključivati brisanja, pregrađivanja i multipliciranje sekvenci DNK. Nadalje, postoji potencijal za utišavanja gena uvedenog gena ili vlastitih gena biljke ako promotorska sekvenca dijeli veliku sličnost (homolognost). Iako umetnuti gen dolazi iz srodnih vrsta, teoretski može doći do neželjenih i nepredvidljivih učinaka. Stoga se umetnuti gen može izraziti na drugačiji način od načina na koji je to učinio u biljci od kojeg je uzet i / ili djelovati (npr. ometati) mnoštvom čimbenika u regulaciji gena ili metaboličkih putova. To može dovesti do promijenjenog ponašanja i performansi te do veće osjetljivost na bolesti, izmjene sastava signalnih molekula, hranjive tvari, toksina i alergena (Allison i sur., 2006). Treba naglasiti da sekvenca DNK montirana u takav gen nikada ranije nije postojala u ovakvom sastavu niti u regulatornom kontekstu. Njihovo ponašanje i interakcije se ne mogu predvidjeti jednostavno time što znamo sekvencu DNK ili znamo da su ove sekvence izvedene iz sličnih organizama. Samo potpuna analiza i stroga procjena stvarnih učinaka i učinaka može pružiti odgovore. Možemo zaključiti da je s obzirom na rizike i moguće negativne utjecaje, teško razlikovati ove tehnologije od transgeneze te je dakle potrebna puna procjena rizika i molekularnih svojstava, uključujući i hranidbene testove na životinjama uz istovremenu primjenu Direktive 2011/18.

5. RNK OVISNA METILACIJA DNK – RNA-DEPENDENT DNA METHYLATION (RDDM)

Cilj je ove tehnike GM-a dobiti novo svojstvo tako da se unutar stanice utiša određeni gen (engl. *gene silencing*) te na taj način neće biti genetskog proizvoda iz tog gena. To pak može dovesti do željenih osobina kao što su: odgađanje dozrijevanja plodova, poboljšavanje sadržaja pojedinih hranjivih tvari ili muške sterilnosti. Ovisna RNK metilacija DNK (RdDM) je proces u kojem molekule RNK usmjeravaju stanicu da doda metilne skupine (CH₃ skupine) na određene nukleotide uzduž točno određenog dijela DNK kako bi se utišao ciljani gen. Metilacija promotorskog područja gena zaustavit će ekspresiju tog gena (Law i Jacobsen, 2010). Iako ovo utišavanje gena nije trajno, znanstvenici se nadaju da će biti naslijeđeno u mnoštvu narednih generacija. Treba naglasiti kako okidači za ukidanja postupka metilacije nisu poznati niti se razumiju. Ovisna RNK metilacija DNK djeluje na način da će svaka mala dvostruka zavojnica RNK sa sekvencom koja odgovara sekvenci DNK potaknuti proces metiliranja tih sekvenci DNK i na taj način utišati pripadajući gen. Kod ove tehnologije postoji mnoštvo ne-

željenih promjena i mogućih rizika. Najveći se rizik nalazi u efektu promašaja mete, koji za posljedicu može dovesti do utišavanja drugih gena, što opet može dovesti do promjene svojstava i potencijalnih negativnih utjecaja poput proizvodnje i akumulacije toksina i alergena, smanjenja sadržaja hranjivih tvari, osjetljivosti na bolesti (Okano i sur., 2008). Utišavanje ciljanog gena može ne samo zaustaviti proizvodnju genskog proizvoda (tj. proteina), već ovisno o mogućem angažmanu ovog proteina u drugim putovima, može uzrokovati druge nepredviđene posljedice. Posljedice mogu uključivati sve što je povezano s tim putovima, npr. faktori rasta, signalni mehanizmi i mehanizmi obrane, akumulacije spojeva itd. Zaključujemo kako nije bitno sadrži li biljka sekvence DNK, umetnute genetskim inženjeringom, u konačnom proizvodu.

6. CIJEPLJENJE NE-GMO CIJEPJA (IZDANAKA) NA GMO PODLOGE (I OBRNUTO) – GRAFTING: OF NON-GMO GRAFT (SCION) ON GMO ROOTSTOCK (AND VICE VERSA)

Cijepljenje ili kalemljenje način je oplemenjivanja raznih *sorti biljaka*.⁴ Kod ove tehnike radi se o *vegetativnom razmnožavanju biljaka* na način da se prenose istovjetne osobine plemka na drugu biljku. Prema tome, klasično je cijepljenje voća dobro poznata i tradicionalna tehnika oplemenjivanja voća i zbog tih razloga ne povlači za sobom nikakve kontroverze ili etičke prijemore. S druge strane, nova tehnika cijepljenja cijepa ne-GMO (kalema) na podloge GMO predstavlja najnoviju tehniku genetičkog inženjeringa, te je stoga s razlogom uvrštena u popis novih tehnika oplemenjivanja bilja. Klasičnim cijepljenjem dobivamo kimeru⁵. Kod ove tehnike cijep je konvencionalan, a podloga je GMO. Krajnji cilj ove tehnike je korištenjem genetički modificirane podloge stvoriti transplantata koji će imati koristi od genetički modificiranih karakteristika, bez da se novostvorena biljka definira kao GMO, a ipak, u cjelini, biljka jest GMO. Dakle, strogo govoreći, tkivo izdanka ne bi bilo genetički modificirano, dok podloga jest. Ipak, mnoštvo se molekula koje proizvodi genetički modificirana podloga, a to mogu biti: proteini, određene vrste RNK (npr. dsRNK), hormoni, signalizacija ili obrana molekule, može proširiti po cijeloj novoj biljci, uključujući i ne-GMO cijep (Alfonso i sur., 2015).⁶

⁴ Tehnika cijepljenja (kalemljenja) kod drvenastih biljaka poznata je preko 2000 godina i često se koristi kod cijepljenja vinove loze, raznih voćaka i ruža. U novije vrijeme, cijepljenje se koristi i kod povrća, i to većinom kod rajčice, krastavaca, lubenica i patlidžana.

⁵ Kimer (prema grč. *Χίμαιρα*: Himer), u biologiji, jedinka sastavljena od dijelova dviju ili više različitih rasa. U botanici su to biljke nastale cijepljenjem. U zoologiji se kimer dobivaju cijepljenjem cijelih zame-taka ili velikih dijelova zametaka različitih vrsta, radi istraživanja embrionalne determinacije i morfogeneze, ili pak inokulacijom stanica jednog soja u drugi, nakon prethodnoga tretmana imunosupresivima, kako bi se uklonila obrambena reakcija organizma. To su *transplantacijske* (presađivačke) *kimere*, koje služe u istraživanju odnosa presađak-domaćin.

⁶ Do širenja najčešće dolazi zahvaljujući biljnoj funkciji floema. Floem je složeno biljno provodno tkivo, čija je funkcija transport rastvorene organske materije od mjesta gdje se sintetiziraju, najčešće od lista pa do svih ostalih dijelova biljke. Osim transporta rastvorene organske materije (asimilati) od mjesta gdje se

Neželjene promjene i rizici ove tehnike GM-a mogu se očitovati prvenstveno u utjecaju podloge GM-a na okoliš, budući da se mogu potaknuti široke mutacije kroz proces samog genetskog inženjeringa, na mjestu umetanja stranog gena, te na samoj kulturi tkiva. Ovo može dovesti do promijenjenih i neočekivanih osobina te potencijalno negativnih utjecaja na tlo i okoliš. Do negativnog utjecaja može doći zbog pozicijskog učinka umetnutog gena, budući da može utjecati na ekspresiju susjednih gena. Spojevi i njihovi metaboliti koji nastaju u podlozi GMO mogu biti prisutni u cijepu ne-GMO i njenim proizvodima (npr. voću) te se može mijenjati sastav voća / proizvoda, koji s druge strane može mijenjati hranjivi sastav te utjecati na visinu alergenskog ili toksičnog sastava. Dodatni problem može predstavljati korištenje metode RNKi na podlozi GMO, budući da se aktivnost utišavanja gena podloge GMO može prenijeti na cijep ne-GMO prijenosom malih molekula RNK iz podloge na izdanak. Ovo može dovesti do efekta utišavanja gena na cijepu ne-GMO, te posljedično do mijenjanja svojstava izdanka i obrnuto (Schwab i sur., 2006). U konačnoj prosudbi ove tehnike, trebamo znati da bi se uopće dobila kimer-a GMO nužno je po definiciji koristiti genetički inženjering uključujući i rizike koje on sa sobom nosi. Činjenica da cijep ne-GMO ne sadrži u sebi gene GMO ne mora nužno smanjiti rizik za okoliš i zdravlje ljudi i životinja. Budući da molekule i spojevi mogu putovati pomoću floema od podloge GMO do cijepa ne-GMO, utječući na taj način na ponašanje i molekularni sastav ne-GMO cijepa ne-GMO. Nužno je cijelu biljku i cijep ne-GMO uključujući i njegove proizvode definirati kao GMO, te sukladno s tim regulirati u skladu s Direktivom 2011/18, posebno imajući u vidu nedostatan razumijevanje i poznavanje procesa i interakcija koji se odvijaju između podloge i cijepa.

7. OBRNUTO OPLEMENJIVANJE (RAZMNOŽAVANJE) – REVERSE BREEDING

Obrnuto oplemenjivanje je tehnologija genetičkog modificiranja namijenjena za rekonstrukciju genetski jedinstvene i čiste homozigotične⁷ roditeljske linije iz postojećih hibrida, čije roditeljske linije više nisu dostupne ili jednostavno više ne postoje. Velika je prepreka u tome što svaki put kada se proizvedu gamete (spolnih stanica), kromosomi iz prethodno stečenih roditeljskih linija mijenjaju podatke u fazi genetske rekombinacije, čime se pomiješa DNK. Da bi se to izbjeglo, odabrano hibridno sjeme je genetski projektirano za suzbijanje genetičke rekombinacije (pomoću RNKi). Uz pomoć kulture tkiva, pojedinačno dobivene gamete koriste za rekonstituciju biljke dva seta istih kromosoma (koji se nazivaju dupli haploidi). U kasnijoj fazi genetičke modifikacije gen se

stvaraju fotosintezom, odnosno od lista pa do svih dijelova biljke (primaoci), očito je da se ovom funkcijom obavlja i transport genetičkog materijala uzduž biljke, te se time omogućava prijenos genetičkog materijala iz podloge GMO na izdanak ne-GMO.

⁷ Homozigot je onaj genotip koji na oba homologna kromosoma ima dva istovjetna genska alela, tj. istovjetne varijante nukleotidne sekvence. To se javlja onda kada genski lokus za produkciju specifičnog proteina zauzimaju istovjetne sekvence genetičke informacije na oba homologa (npr. A_1A_1 ili A_2A_2).

poništi i izabrana roditeljska linija će u kombinaciji dovesti do željenog hibrida (Dirks i sur., 2009).

Neželjene promjene i rizici ove tehnike slične su kao i kod drugih tehnika genetičkog modificiranja, a što uključuje: obimne mutacije poput brisanja, pregrađivanja i multipliranja na mjestu umetanja, a koja proizlaze iz transformacijskih procesa koja uključuju i kulturu tkiva s nepredvidivim posljedicama koja mogu dovesti do promijenjene izvedbe i podložnosti bolestima, nakupljanja toksina te povećane proizvodnje alergena. Velika će većina tih mutacija ostati prisutna u obnovljenoj roditeljskoj liniji čak i ako sam genetički modificiran gen nije prisutan, s time da će se mutacije najviše pojavljivati na samom mjestu ugradnje. Metoda RNKi utišavanja gena može dovesti do ne ciljanog utišavanja gena kod drugih gena, a taj efekt utišavanja gena će se posljedično održavati u mnoštvu sljedećih generacija sjemena. Zbog toga je potrebno provoditi testove izvedbe i kompozicijske analize, nakon čega treba slijediti izrada pune procjene rizika. To je potrebno učiniti prije prve sadnje, ali i nekoliko generacija kasnije, nakon što namjerno i nenamjerno utišavanje gena izbljedi i svakako u izradu procjene rizika treba uključiti testove pokusnog hranjenja testnih životinja. Poseban problem predstavlja mogućnost da funkcionalni dijelovi ili pune sekvence genetički modificiranih gena mogu biti integrirani drugdje unutar genoma, a ne samo na mjestu primarnog umetanja. Postoji mogućnost da se funkcionalni dijelovi ne uklone u deselekcijskom procesu, što ih ostavlja potencijalno još uvijek u stanju da pokrenu proces utišavanja gena u ciljanoj regiji ili u ne-ciljanim područjima. Možemo zaključiti da roditeljske linije, kao i sjedinjeni novi hibridi moraju biti testirani na prisutnost genetički modificiranih sekvenci kao i na moguće neželjene efekte zbog neciljanog utišavanja gena i transformacija induciranih mutacijama, koje imaju potencijal da, na primjer, mogu dovesti do promijenjenih izvedbi i podložnosti bolestima, nakupljanja toksina, povećane proizvodnje alergena, promjene u nutritivnom sastavu. Zbog svega navedenoga nožno je izvršiti cjelovitu procjenu rizika.

8. AGRO-INFILTRACIJA – AGRO-INFILTRATION

Metoda agro-infiltracije uključuje dvije različite tehnologije (agro-infiltracija u najužem smislu i agro-infekcija) te joj nije prvotna namjera trajno umetanje i integriranje u biljni genom genetički modificiranog gena, već joj je cilj da genetički modificirani gen bude prisutan u stanice biljke samo privremeno i to najviše samo jednu generaciju. U tu svrhu, geni se kodiraju bilo za određene proteine ili za RNK u svrhu miješanja s vlastitim genima biljke (primjerice preko RNKi) te se ugrađuju u plazmid bakterije *agrobacterium tumefaciens*. Zatim se otopina takvog plazmida *agrobacteria tumefaciens* nanosi na specifična tkiva živih biljaka (npr. lišće), te se na taj način plazmid s genetički modificiranim genima inkorporira u stanicama u tkivu biljke i na taj način dolazi do genetičke modifikacije biljke. Ova tehnologija može se izvoditi zbog više ciljeva, od testiranja potencijalnih transgena, preko proučavanja djelovanja vlastitih gena biljke (primjerice, utišavanja gena putem RNKi), do ispoljavanja i stvaranja visoko vrijednih proteina u biljkama (npr. ovo je osobito zanimljivo i korisno u proizvodnji farmaceut-

skih proizvoda), proizvodnje sjemena i hibrida s promijenjenim svojstvima. Namjera je agro-infiltracije u najužem smislu lokalizirati i ograničiti ekspresiju genetički modificiranog gena. Ne očekuje se replikacija tako stvorenog genetskog konstrukta u stanici biljke primatelja. Kod agro-infekcija namjera je potpuno suprotna, proširiti određeni genetički modificirani gen uzduž cijele biljke u gotovo svim tkivima, ali bez integriranja genetički modificiranog gena u DNK biljke (Chen i sur., 2013).

Iako je svrha ove tehnologije lokalna primjena, genetski konstrukt može se proširiti po cijeloj biljci, s obzirom na korištenje plazmida *agrobacterije tumefaciens*. Genetski materijal može postati integriran u DNK biljke, uključujući i reproduktivna tkiva biljke, čime bi se nehotice dovelo do genetički modificiranog potomstva, iako je upravo cilj ove tehnologije privremena prisutnost genetički modificiranih gena najviše jednu generaciju. Integracija se može dogoditi na slučajnim mjestima unutar genoma, a može uključivati bilo koji od unesenih sljedova DNK, te je nemoguće znati gdje će se dogoditi integracija genetički modificiranog gena. Može doći do poremećaja gena zbog pozicijskog učinka ili zbog sekvenci prisutnih u konstrukciji gena, a koji mogu dovesti do negativnog utjecaja na izvedbu biljke, na okoliš i biološku raznolikost, odnosno na sigurnosti navedene biljke kao hrane. Posebno veliku opasnost predstavlja slučajno ispuštanje genetski modificirane *agrobacteria tumefaciens* u okoliš, do kojeg može doći zbog više razloga, onečišćenje bi moglo prodrijeti iz biljnog materijala koje je odbačeno ili uklonjeno, ili jednostavno kroz izlivanje otopine na test parceli. To bi moglo dovesti do neželjenih učinaka ukoliko se genetički modificirani konstrukti prenese na druge biljke ili mikroorganizme. Replikacija se genetički modificiranog gena može pojaviti u razinama preniskim da bi se otkrile u kraćem vremenskom razdoblju, te se na taj način povećava mogućnost za integraciju ili mutaciju koja za posljedicu ima stabilno i trajno nasljeđivanje privremeno ugrađenog genetički modificiranog gena. Može se zaključiti da sve biljke podvrgnute tehnici agro-infiltracije (uključujući naravno i agro-infekcije), zajedno s bilo kojim njihovim dijelovima i proizvodima, kao i njihovih potomci moraju biti testirani na prisutnost genetički modificiranog gena, kao i na prisutnost učinka utišavanja gena, ako je to bio prvotni cilj agro-infiltracija.

9. ZAKLJUČAK

U radu smo obradili sedam novih tehnika genetskog inženjeringa koje se zajedno nazivaju *Nove tehnike oplemenjivanja biljaka* te je jasno istaknuto da svaka od njih nosi rizike i neizvjesnosti. Iako su kod nekih od njih rizici i neizvjesnosti isti kao i kod starijih tehnika genetičkog modificiranja, postoje i ozbiljni dodatni problemi, kao kod tehnike RNK ovisne metilacije DNK (RdDM) kod koje je zbog mnoštva nepoznanica moguć negativan potencijalni utjecaj na okoliš i zdravlje ljudi i životinja. Novi stupanj nesigurnosti i rizika od neželjenih efekata nastaje kod korištenja tehnika za uređivanje gena (ZFN, ODM, CRISPR/cas9 i TALENs). Zbog svega navedenog, a posebno s obzirom na činjenicu da kod svih ovih tehnika u nekom trenutku dolazi do genetičke modifikacije, zaključujemo da se sve ove tehnike klasificiraju kao tehnike genetičkog modificiranja, te sukladno tome

regulira se njihovo korištenje jednako strogo i oprezno kao i do sada korištene tehnike genetičkog modificiranja u skladu s Direktivom 2001/18. Moramo uzeti u obzir moguće neželjene posljedice koje mogu predstavljati veliku potencijalnu opasnost za okoliš te uvijek trebamo biti svjesni da sve biljke koji se koriste u poljoprivredi moraju biti sigurne za sve potrošače i okoliš, te da sigurnost mora biti zajamčena svim fazama vegetacije i u svim okolišnim uvjetima. Iz toga proizlazi da je procjena rizika mnogo složenija nego za mnoštvo drugih proizvoda koji imaju stabilne kemijske strukturete koji su proizvedeni i primijenjeni pod strogo definiranim i posebnim uvjetima. Sve u svemu, mi znamo premalo o tim novim tehnikama da bismo mogli napraviti dobro informirane odluke o njihovom korištenju. Kao što još ne postoje empirijski potvrđeni odgovarajući podaci o naravi ili mogućim neželjenim posljedicama učinaka ovih tehnika, kod biljaka i životinja; tako ne postoje niti podaci o tome kako genetičke modificirane biljke mogu reagirati u uvjetima stresa ili u interakciji s ekosustavima / svojim sredinama. Ipak, do sada objavljene publikacije pozivaju na oprez i pokazuju da se učinci mogu razlikovati od slučaja do slučaja. Stoga, pozivi da se navedene tehnologije izuzmu od propisa koji obvezuju dosadašnje tehnike genetičkog modificiranja nemaju znanstvenu osnovu, budući da nisu do sada provedena dostatna istraživanja koja bi dokazala da se radi o etički neupitnim tehnikama. Iz perspektive etike i odgovornog odnosa prema zdravlju ljudi, životinja i okoliša, ističemo posebnu važnost sljedećih smjernica:

1. Uvođenje ovih kontroverznih novih tehnika u poljoprivredi ne bi trebalo biti dopušteno na temelju trenutnog znanja.
2. Treba se oduprijeti zahtjevima biotehnoške industrije da se *Nove tehnike oplemenjivanja biljaka* izuzmu iz propisa EU koji reguliraju područje genetičkog modificiranja. Dopušteno ispuštanje odgovarajućih genetički modificiranih biljaka bez procjene sigurnosti i njihovo sustavno praćenje i označavanje iz njih nastalih proizvoda bilo bi neodgovorno zbog potencijalno nesagledivih posljedica. Naprotiv, procjena rizika mora biti ojačana kako bi bilo moguće procijeniti složenost opasnosti novih tehnika od slučaja do slučaja.
3. Budući da ove nove tehnologije genetičkih manipulacija omogućuju radikalnu izmjenu genoma i funkcioniranja gena kod genetički modificiranih oblika života, nastaju i nova etička pitanja na koja treba dati odgovor. Na primjer, treba ozbiljno promisliti o regulatornim inicijativama za zaštitu integriteta genoma.
4. Trgovinski sporazumi kao što su CETA i TTIP ne smiju se koristiti za uvođenje odredbi kojima se dopušta izuzeće ovih novih tehnologija iz regulative EU o genetičkom modificiranju.

LITERATURA

- Beetham, P. R., Kipp, P. B., Sawycky, X. L., Arntzen, C. J. i May, G. D. (1999). A tool for functional plant genomics: chimeric RNA / DNA oligonucleotides cause in vivo gene-specific mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(15): 8774-8778.
- Boch, J. (2011). TALEs of genome targeting. *Nature Biotechnology*, 29(2): 135-136.
- Chen, Q., Lai, H., Hurtado, J., Stahnke, J., Leuzinger, K. i Dent, M. (2013). Agro-infiltration as an Effective and Scalable Strategy of Gene Delivery for Production of Pharmaceutical Proteins. *Advanced Techniques in Biology & Medicine*, 1(1): 103. DOI: 10.4172/atbm.1000103.
- Dirks, R., van Dun, K., de Snoo, C. B., van den Berg, M., Lelivelt, C. K. C., Voermans, W., Woudenberg, L., de Wit, J. P. C., Reinink, K., Schut, J. W., van der Zeeuw, E., Vogelaar, A., Freymark, G., Gutteling, E. W., Keppel, M. N., van Drongelen, P., Kieny, M., Ellul, P., Touraev, A., Ma, H., de Jong, H. i Wijnker, E. (2009). Reverse breeding: a novel breeding approach based on engineered meiosis. *Plant Biotechnology Journal*, 7(9): 837-845.
- Fine, E. J., Cradick, T. J., Zhao, C. L., Lin, Y. i Bao, G. (2014). An online bioinformatics tool predicts zinc finger and TALE nuclease off-target cleavage. *Nucleic Acids Research*, 42(6): e42. DOI: 10.1093/nar/gkt1326.
- Eckerstorfer, M., Miklau, M. i Gaugitsch (2014). *New plant breeding techniques and risks associated with their application*. Vienna: Environment Agency Austria Umweltbundesamt.
- Hendel, A., Bak, R. O., Clark, J. T., Kennedy, A. B., Ryan, D. E., Roy, S., Steinfeld, I., Lunstad, B. D., Kaiser, R. J., Wilkens, A. B., Bacchetta, R., Tsalenko, A., Dellinger, D., Bruhn, L. i Porteus, M. H. (2015). Chemically modified guide RNAs enhance CRISPR-Cas genome editing in human primary cells. *Nature Biotechnology*, 33(9): 985-989.
- Jacobsen, E. i Schouten, H. J. (2008). Cisgenesis, a New Tool for Traditional Plant Breeding, Should be Exempted from the Regulation on Genetically Modified Organisms in a Step by Step Approach. *Potato Research*, 51(1): 75-88.
- Krishna, S. S. (2003). Structural classification of zinc fingers: Survey and Summary. *Nucleic Acids Research*, 31(3): 532-550.
- Law, J. A. i Jacobsen, S. E. (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nature Reviews Genetics*, 11(3): 204-220.
- Ledford, H. (2015). CRISPR, the disruptor. *Nature*, 522(7554): 20-24.
- Marraffini, L. A. i Sontheimer, E. J. (2010). CRISPR interference: RNA-directed adaptive immunity in bacteria and archaea. *Nature Reviews Genetics*, 11(3): 181-190.
- Michalopoulos, S. (2016). Decision on new plant breeding techniques further delayed. *EURACTIV*. URL: <http://www.euractiv.com/section/agriculture-food/news/decision-on-new-plant-breeding-techniques-further-delayed/> (siječanj, 2017.)
- Mussolino, C., Morbitzer, R., Lutge, F., Dannemann, N., Lahaye, T. i Cathomen, T. (2011). A novel TALE nuclease scaffold enables high genome editing activity in combination with low toxicity. *Nucleic Acids Research*, 39(5): 9283-9293.

- Okano, S., Miki, D. i Shimamoto, K. (2008). Small interfering RNA (siRNA) targeting of endogenous promoters induces DNA methylation, but not necessarily gene silencing, in rice. *The Plant Journal*, 53(1): 65-77.
- Osakabe, K., Abe, K., Yoshioka, T., Osakabe, Y., Todoriki, S., Ichikawa, H., Hohn, B. i Toki, S. (2006). Isolation and characterization of the RAD54 gene from *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 48(11): 827-842.
- Pattanayak, V., Ramirez, C. L., Joung, J. K. i Liu, D. R. (2011). Revealing off-target cleavage specificities of zinc-finger nucleases by in vitro selection. *Nature Methods*, 8(9): 765-770.
- Peng, R., Lin, G. i Li, J. (2015). Potential pitfalls of CRISPR/Cas9-mediated genome editing. *The FEBS Journal*, 283(7): 1218-1231.
- Ramirez, C. L., Certo, M. T., Mussolino, C., Goodwin, M. J., Cradick, T. J., McCaffrey, A. P., Cathomen, T., Scharenberg, A. M. i Joung, J. K. (2011). Engineered zinc finger nickases induce homology-directed repair with reduced mutagenic effects. *Nucleic Acids Research*, 40(4): 5560-5568.
- Redman, M., King, A., Watson, C. i King, D. (2016). What is CRISPR/Cas9? Archives of Disease in Childhood. *Education and Practice Edition*, 101(4): 213-215.
- Schwab, R., Ossowski, S., Riester, M., Warthmann, N. i Weigel, D. (2006). Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 18(5): 1121-1133.
- Servick, K. (2016). U.S. looking to expert panel to predict future GM products. *Science*. URL: <http://www.sciencemag.org/news/2016/04/us-looking-expert-panel-predict-future-gm-products> (siječanj, 2017.)
- Stella, S. i Montoya, G. (2016). The genome editing revolution: A CRISPR-Cas TALE off-target story. *BioEssays*, 38(6): 4-13.
- Travis, J. (2015). And Science's 2015 Breakthrough of the Year is... *Science* URL: <http://www.sciencemag.org/news/2015/12/and-science-s-breakthrough-year> (siječanj, 2017.)
- Wei, C., Liu, J., Yu, Z., Zhang, B., Gao, G. i Jiao, R. (2013). TALEN or Cas9 – rapid, efficient and specific choices for genome modifications. *Journal of Genetics and Genomics*, 40(6): 281-289.
- Zetsche, B., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Slaymaker, I. M., Makarova, K. S., Essletzbichler, P., Volz, S. E., Joung, J., van der Oost, J., Regev, A., Koonin, E. V. i Zhang, F. (2015). Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. *Cell*, 163(3): 759-771.
- Zhu, T., Peterson, D. J., Tagliani, L., St Clair, G., Baszczyński, C. L. i Bowen, B. (1999). Targeted manipulation of maize genes in vivo using chimeric RNA / DNA oligonucleotides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(15): 8768-8773.

GMO 2.0: NEW NAME – SAME PROBLEM

Ivica Kelam

Abstract

Over the last years, there have been rapid developments in genetic engineering techniques (genetic modification), which allowed for an increase in the ability to make more profound and complex changes in the genetic makeup and metabolic pathways of living organisms. This has led to the emergence of two new fields of genetic engineering that overlap with each other: synthetic biology and, so called, New Plant Breeding Techniques (NPBTs). There is currently a list of seven “new” genetic engineering techniques before the European Commission, which needs to decide whether the products of these techniques, when applied to plants, are covered by the EU laws on GMO. Potential application of GM techniques requires a strict application of precautionary principles and a need for systematic monitoring and evaluation at all stages in compliance with EU Directive 2001/18. Biotechnological industry claims that these are not GMO techniques according to current legal definition of GMOs, but rather that they are made using the techniques exempted from such coverage, or that the final product, even if genetic engineering was used at some point during its production, does not contain GM material and is therefore no longer a GMO. The European Commission is currently working on the legal interpretation, as are many lawyers from industry and civil society. It is important to be aware, both in terms of legal interpretation and of risks, that some of these techniques may also be used in combination with each other, or that the same technique may be used several times over in order to achieve the intended effect.

This paper looks at these seven techniques from the scientific rather than the legal perspective, with the aim to better understand the techniques and inherent risks associated with them. Whilst examining the likely unintended effects it has become evident that all of the techniques claiming great precision are also found to have offtarget effects with unpredictable consequences. In fact, so called precision is actually a very imprecise notion and does not equate to predictability. The expected contribution of the paper goes toward recognizing and highlighting the fact that the new GM techniques are guided by private interests and protected by patents, and can not be a solution for the future of agriculture.

Keywords: *environment, new plant breeding techniques, genetic engineering, agriculture, GMO, EU Directive 2001/18*

GMO 2.0: NEUE BENENNUNG – ALTES PROBLEM

Ivica Kelam

Zusammenfassung

Während der letzten Jahre hat die Gentechnik große Fortschritte gemacht, die sich in einer größeren Möglichkeit eines tieferen und komplexeren Eingriffs ins genetische System und metabolische Wege von lebenden Organismen zeigen. Dies hat zur Entstehung von zwei neuen, sich gegenseitig überlappenden Gebieten der Gentechnik geführt: der synthetischen Biologie und einer Gruppe der Verfahren im Rahmen der Gentechnik, die euphemistisch Neue Techniken der Pflanzenveredelung (New plant breeding techniques – NPBT) genannt werden. Im Moment besteht eine Liste mit sieben „neuen“ Verfahren der Gentechnik und die Europäische Kommission muss entscheiden, ob die GMO-Gesetze der EU diese Verfahren rechtfertigen. Eine mögliche Anwendung von Techniken der genetischen Modifizierung verlangt eine strenge Anwendung von Vorsichtsprinzipien und eine systematische Überwachung und Bewertung in allen Phasen gemäss Richtlinie 2001/18/EG ist nötig. Die biotechnologische Industrie behauptet, diese Techniken seien nicht die Techniken der genetischen Modifizierung im Sinne der jetzigen rechtlichen Definition von GMO und die Richtlinie 2001/18/EG sollte bei diesen Techniken eine Ausnahme machen, weil das Endprodukt kein genetisch modifiziertes Material enthalte, auch wenn in einem Moment der Entwicklung die Gentechnik angewandt

wurde. Die Europäische Kommission, sowie viele Anwälte aus der biotechnologischen Industrie und aus der Zivilgesellschaft sind gerade dabei, die Regelungsvorschriften rechtlich auszulegen. Hinsichtlich der Auslegung der rechtlichen Regelung und der Risiken ist es nötig zu betonen, dass man einige dieser Techniken mit anderen kombiniert anwenden kann, oder dass man die gleiche Technik mehrmals anwenden kann, um den gewünschten Effekt zu erzielen.

In der Arbeit stellen wir diese sieben Techniken aus der wissenschaftlichen Perspektive dar und unser primäres Ziel ist es, diese Techniken und die mit ihnen gebundenen inhärenten Risiken besser zu verstehen. Wenn man die wahrscheinlich unerwünschten Effekte dieser Techniken erforscht, wird es klar, dass alle diese Techniken, von denen behauptet wird, sie seien außerordentlich präzise, oft mit unabsehbaren Folgen das Ziel verfehlen. Eigentlich ist die sogenannte Präzision ein sehr unpräziser Begriff und darf nicht mit der Vorausehbarkeit verwechselt werden. Der zu erwartende Beitrag dieser Arbeit zielt auf die Erkennung und Betonung der Tatsache hin, dass patentgeschützte neue Technologien der genetischen Modifizierung von privaten Interessen geführt werden, und dass sie keine Lösung für die Zukunft der Landwirtschaft werden können.

Schlüsselwörter: Umwelt, neue Techniken der Pflanzenveredelung, Gentechnik, Landwirtschaft, GMO, Richtlinie 2001/18/EG