

Rastline kot bioreaktorji

Za proizvodnjo rekombinantnih proteinov v rastlinah ne rabimo drage opreme (kot so npr. fermentorji) in visoko usposobljenega osebja. Največja ovira pri komercialni proizvodnji bi bila čiščenje produktov iz rastlinskega materiala. Doslej so rastline uporabili le v poskusih v manjšem obsegu.

Proizvodnja protiteles

Rastline so evkarionti (→ posttranslacijske modifikacije podobne kot pri živalskih celicah); integracija zapisa v kromosom je stabilna (pri dolgotrajnih fermentacijah mikroorganizmov s plazmidi se plazmid pogosto izgublja iz celic). Zaradi težav s shranjevanjem rastlinskih tkiv bi kazalo sintezo usmeriti v semena.

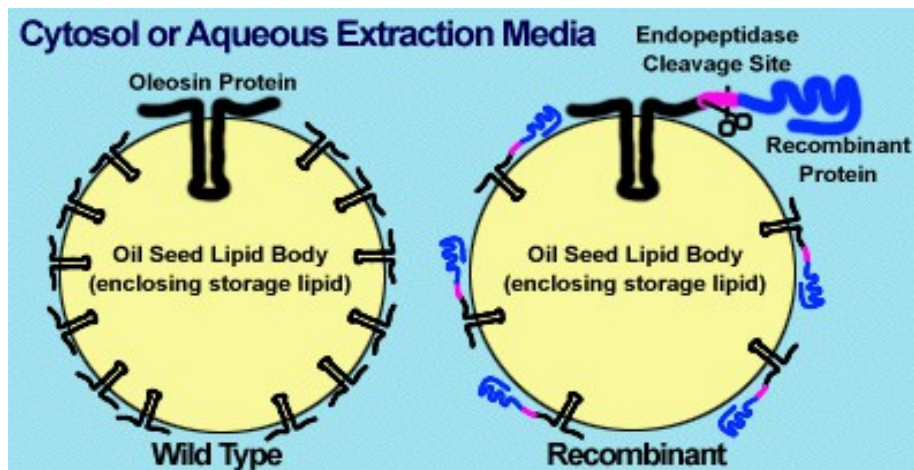
Rastline kot bioreaktorji /2

Polimeri

Biološko razgradljiva plastika je npr. polihidroksibutirat (PHB), po lastnostih primerljiva polipropilenu. V nekaterih bakterijah ta nastaja iz acetil-CoA v 3 stopnjah. V rastlino *Arabidopsis thaliana* so vstavili gene za vse 3 potrebne encime (po 1 preko plazmida Ti, nato pa s križanjem). Nekatere rastline so v listih proizvajale >1 mg polimera /g svežih listov.

Proteini v semenu

Več vrst rastlin ima v semenih oleozin, hidrofobni protein oljnih telesc. Le N- in C-končni del proteina sta hidrofilna in omogočata pripravo fuzijskih proteinov. Izolacija proteinov iz oljnih telesc je preprosta.



Zorenje plodov

Pri prodaji sadja in zelenjave je eden glavnih problemov predčasno zorenje plodov in mehčanje med prevozom. Med zorenjem se inducirajo geni za celulaze in poligalakturonaze (depolimerizirajo pektin v celičnih stenah), zato so pripravili rastline, ki so imele vključene te gene v nasprotni orientaciji. Za vnos so uporabili sistem *A. tumefaciens*.

Paradižnik (letna prodaja v ZDA 1,3 mrd USD), ki je sintetiziral protismerno mRNA za poligalakturonazo je imel aktivnost tega encima zmanjšano za 90 % (FLAVR SAVR, Calgene/Monsanto - dovoljenje FDA za uporabo v prehrani 1994 kot naravni paradižnik).

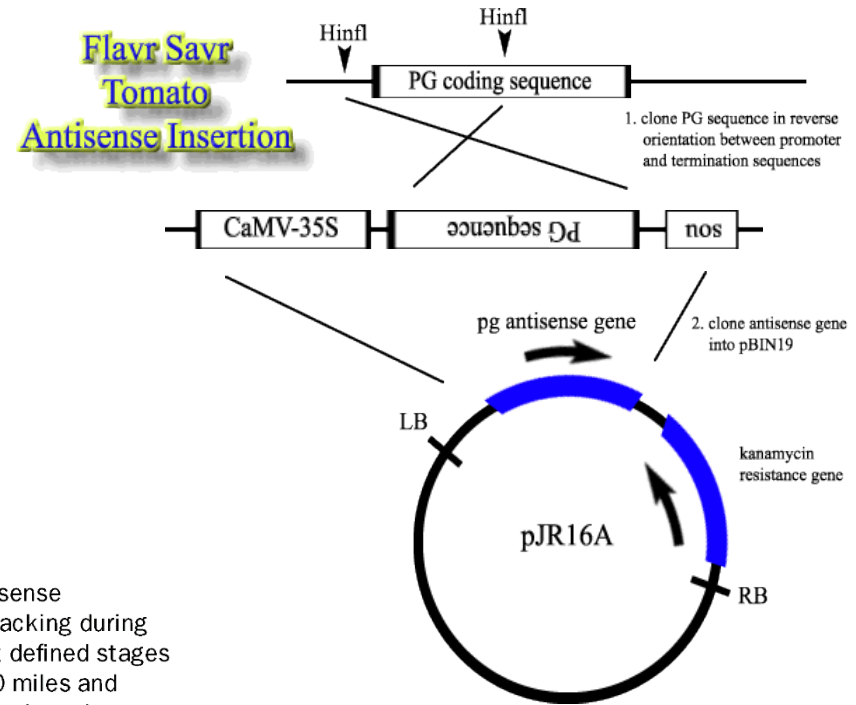


Figure 2

Resistance of normal or antisense polygalacturonase fruit to cracking during transport. Fruit harvested at defined stages of ripening were shipped 200 miles and percentage damaged fruit monitored

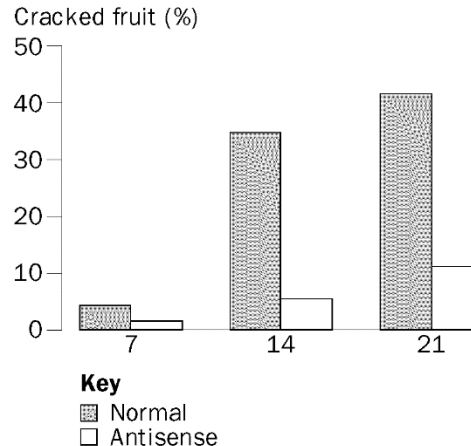
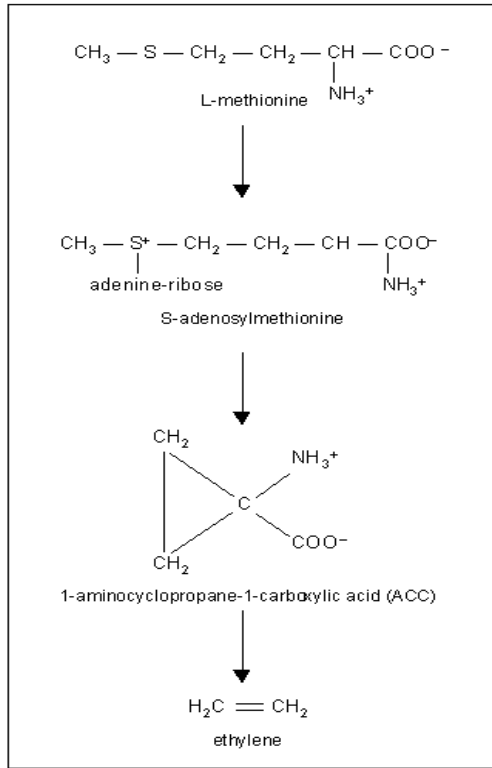


Table II

Pectin degradation in normal and transgenic fruit containing an antisense polygalacturonase construct and having 0.5 per cent of normal enzyme activity

Fruit type	Esterification (%)	Solubility (%)	Average molecular weight (KD)
Green normal	75	36	294
Ripe normal	56	59	111
Ripe antisense	53	52	248

Zorenje plodov / 2



Etilen inducira izražanje številnih genov, ki sodelujejo pri zorenju plodov. Biosinteza etilena poteka iz S-adenozil-Met preko 1-aminociklopropan-1-karboksilne kisline (ACC).

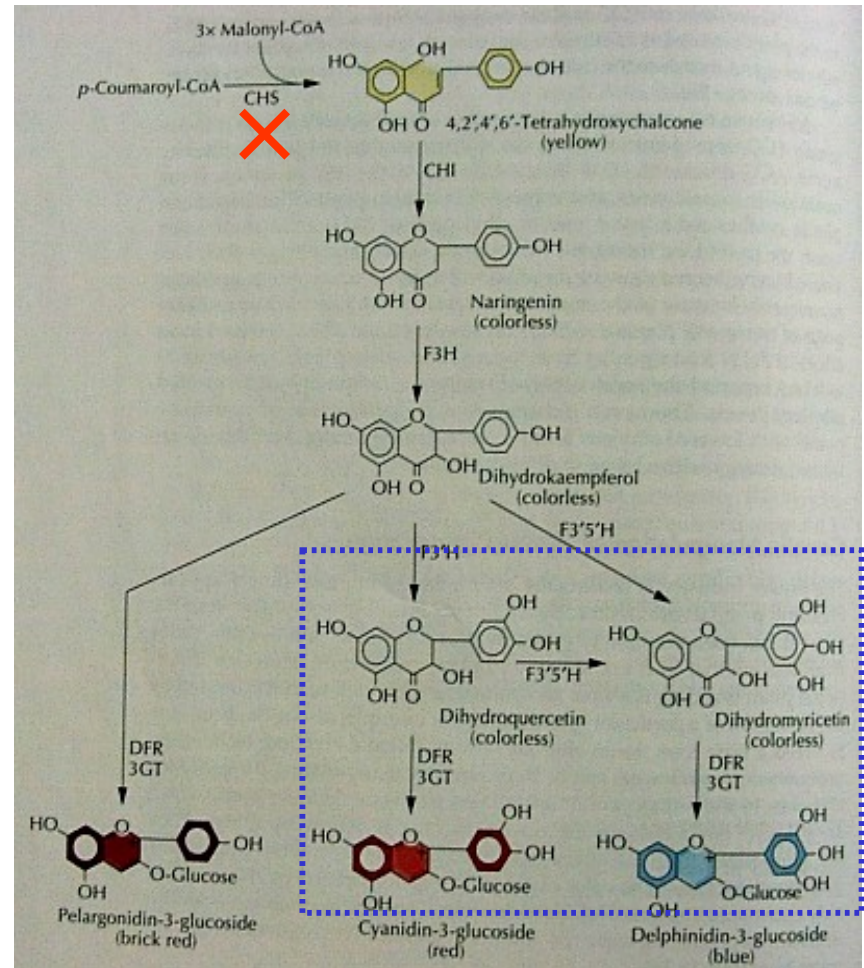
Prehitro zorenje lahko zavremo, če pripravimo rastline s protismerno RNA proti ACC-sintazi ali ACC-oksidazi. Iz talnih bakterij pa so izolirali tudi ACC-deaminazo, ki razgrajuje ACC, in njen gen vstavili v rastline paradižnika. Plodove so lahko dalj časa hranili, ne da bi se prekomerno zmečali.

Spreminjanje barve cvetov

Industrija okrasnih rastlin izkorišča tehnologijo rekombinantne DNA za spreminjanje barve cvetov. Z manipuliranjem biosinteze antocianinov iz Phe so uspeli razširiti spekter barv.

Tako so petunijam vnesli gen za dihidroflavonol-reduktazo iz korusa, ta pa je omogočil pretvorbo dihidrokampferola v pelargonidin-glukozid.

Bele cvetove lahko dobimo s pripravo transgenskih rastlin, ki proizvajajo protismerno cDNA za halkon-sintazo (npr. iz rožnatih krizantem so dobili bele).

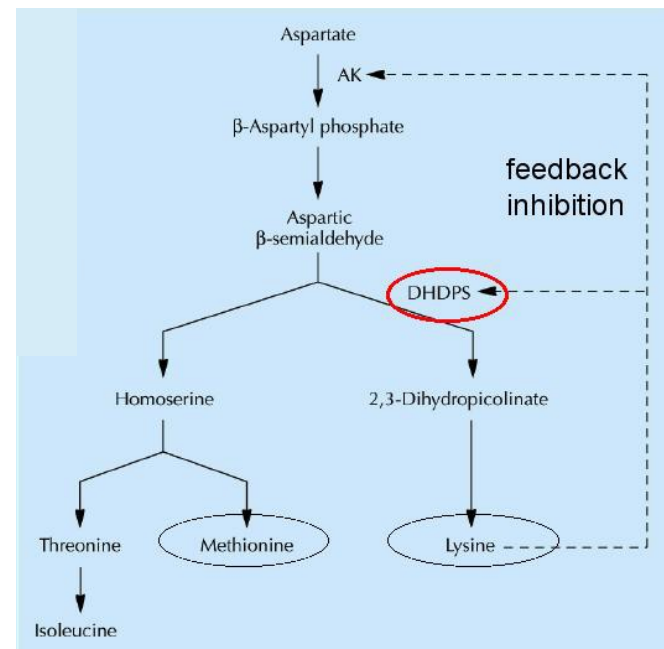


Spreminjanje hranilnih vrednosti

Semenski proteini služijo kot zaloga ogljika in dušika za razvijajoči se kalček, vendar med aminokislinami pogosto manjkajo esencialne (predvsem Lys in Met). Za študijske namene so gen za fazeolin (protein vsebuje širok spekter aminokislin) iz fižola prenesli v tobak. Lokalizacijo v semenih zagotavlja priprava fuzijskih proteinov: zapise za dodatne (esencialne) aminokislino pripravimo v bližino hipervariabilnega dela na C-koncu semenskih hranilnih proteinov.

Količino lizina v semenih lahko povečamo preko spreminjanja biosintezne poti iz Asp. Povratno regulacijo so ukinili tako, da so v rastline vnesli gene za biosintezne encime iz bakterij, ki so bolj enostavni in nimajo povratne regulacije. Transgenska soja in oljna repica sta imeli 100x več prostega Lys in 2-5x več skupnega Lys kot kontrolne rastline. Transgenske rastline bi lahko uporabili pri dohrmljanju živine, ki se pretežno hrani s koruzo (nima Lys).

Spremenimo lahko tudi sestavo lipidov v rastlinskih oljih in jim tako povečamo delež nenasičenih maščobnih kislin. Če pa želimo proizvesti pretežno nasičene maščobne kisline, pa uporabimo npr. protismerno DNA za stearat-desaturazo in tako preprečimo pretvorbo nenasičene stearinske v oleinsko kislino.

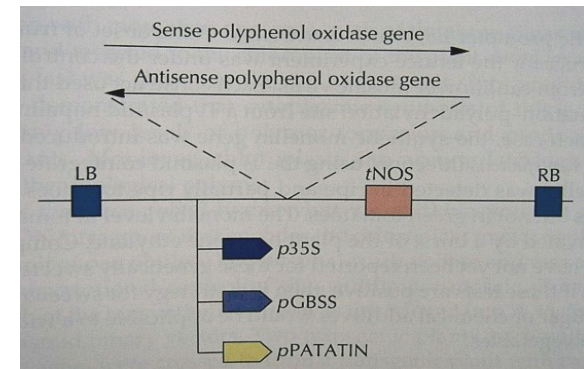


	Common name	Abbreviation
	Caprylic acid	C _{8:0}
	Capric acid	C _{10:0}
	Lauric acid	C _{12:0}
	Myristic acid	C _{14:0}
→	Palmitic acid	C _{16:0}
→	Stearic acid	C _{18:0}
	Petroselinic acid	Δ6C _{18:1}
→	Oleic acid	Δ9C _{18:1}
E →	Linoleic acid	Δ9,12C _{18:2}
E →	Linolenic acid	Δ9,12,15C _{18:3}
	Ricinoleic acid	12OHΔ9C _{18:1}
	Erucic acid	Δ13C _{22:1}

Spreminjanje okusa in izgleda

Da bi preprečili razbarvanje sadja in zelenjave, proizvajalci uporabljajo kemična sredstva (predvsem sulfite). Razbarvanje povzročijo encimi, med katerimi so najpomembnejše polifenol-oksidaze. Geni so na kromosomu, protein (Mr~59 kDa) pa najdemo v kloroplastni in mitohondrijski membrani. V poskusu so preverili vlogo tega encima pri krompirju, ki ima pogosto temne lise (encimsko-pogojene spremembe v barvi). V vektor so vključili zapis za polifenol-oksidazo v obeh orientacijah in s 3 različnimi promotorji (1 virusni, 2 krompirjeva). Transgenski krompir so obtokli in nato preverili obseg poškodb v obliki temnih lis.

Pri protismerni orientaciji zapisa je bilo poškodb bistveno manj kot pri kontrolnih rastlinah, pri smerni orientaciji pa več.



Sladkost sadja bi lahko povečali z izražanjem monelina.

Molarno gledano je ~105x slajši od saharoze, najdemo pa ga v plodovih afriške rastline *Dioscoreophyllum cumminsii*.

Gre za nestabilen dimer (45 aa + 50 aa, verigi povezani nekovalentno), ki ima strukturo podobno cistatinom.

Pripravili so stabilno enoverižno obliko in jo izrazili v plodovih paradižnika (promotor E8, specifičen za plodove; se aktivira ob zorenju) in listih solate (promotor 35S iz virusa mozaika cvetače).



Cystatin



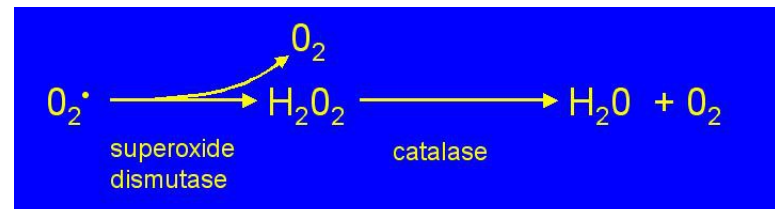
Monellin

Odpornost na stresne pogoje v okolju

Rastline se ne morejo izogniti razmeram v okolju (suša, vročina, UV-žarki). Na neugodne razmere se rastline pogosto odzivajo preko sinteze kisikovih radikalov. Če bi rastline lahko tolerirale višje koncentracije prostih radikalov, bi morda obstale v stresnih pogojih brez večjih posledic.

Oksidativni stres

Pogosto je kisikov radikal superoksidni anion, ki ga superoksid-dismutaza (SOD) pretvarja v H_2O_2 , tega pa katalaze cepijo do vode in kisika.



V rastlinah obstaja več različnih tipov SOD (Cu/Zn- v kloroplastu, Mn- v mitohondrijih). **Z vnosom genov pod močnimi promotorji so uspeli pridobiti rastline, ki so bile bolj odporne na močno svetlobo, povečano koncentracijo ozona in nekatere herbicide.**

Solni stres

V odgovor na povečano slanost zemlje (problem npr. pri prekomernem namakanju in suši) rastline izločajo LMW osmoprotektante, ki so pogosto sladkorji, alkoholi, betain ali prolin. Nekatere kulturne rastline ne proizvajajo **betaina**, zato so vanje vstavili gen za njegovo biosintezo (holin-dehidrogenaza *betA* iz *E. coli*). Tak transgenski tobak je bil 80 % bolj odporen na visoke koncentracije soli (0,3 M) kot kontrolne rastline.

Razvoj odpornih rastlin: insekticidi

Uporabo insekticidov bi lahko zmanjšali, če bi rastline same proizvajale insekticide. Razen tega taki insekticidi ne bi bili nevarni za druge živali in človeka.

V rastline zato vključujejo zapise za protoksin *B. thuringiensis* (Bt) in za inhibitorje amilaze ali proteaz (preprečujejo presnovo rastlinskega škroba in proteinov).

Geni za Bt iz podvrste *kurstaki* se v rastlinah izražajo v zelo majhnih količinah, zato so pripravili delecijejske mutante, ki so zajemale le zapis za toksični N-končni del protoksina (646/1156 aa). Pod kontrolo močnih rastlinskih promotorjev je prišlo do povečanega izražanja in zaščite pred insekti. Nadaljnje izboljšanje (do 10x) so dosegli z zamenjavo redkih kodonov. Ko pa so pripravili sintetični gen ob upoštevanju optimalne rabe kodona in odstranili zaporedja, ki bi lahko prispevala k tvorbi sekundarnih struktur na ravni mRNA, pa so dosegli 100x močnejše izražanje kot pri wt zapisu.

Table 18.1 Expression of some Bt genes

Plant(s)	Gene	% Expression	Insecticidal
Tobacco	<i>cryIA(b)</i> , full	0.0001–0.0005	No
Tobacco	<i>cryIA(b)</i> , truncated	0.003–0.012	Yes
Tobacco	<i>cryIA(a)</i> , full	Not detected	No
Tobacco	<i>cryIA(a)</i> , truncated	0.00125	Yes
Tobacco	<i>cryIA(c)</i> , truncated	<0.014	Yes
Tomato	<i>cryIA(b)</i> , truncated	0.0001	Yes
Cotton	<i>cryIA(b)</i> , truncated, WT	<0.002	No
Cotton	<i>cryIA(b)</i> , truncated, PM	0.05–0.1	Yes
Tomato, tobacco	<i>cryIA(b)</i> , truncated, WT	0.002	Yes
Tomato, tobacco	<i>cryIA(b)</i> , truncated, PM	0.002–0.2	Yes
* Tomato, tobacco	<i>cryIA(b)</i> , truncated, FM	0.3	Yes

WT = wild-type codons

PM = partially modified codons

FM = fully modified codons

Razvoj odpornih rastlin: Odpornost proti insektom

Ker je spekter delovanja Bt vendarle ozek, je pogosto treba uporabiti tudi kemične insekticide, a v manjši meri kot sicer.

Visoke ravni izražanja brez spreminjanja zapisa za Bt, hkrati pa večjo varnost uporabe transgenskih rastlin so dosegli s tem, da so zapis za Bt vključili v kloroplastno DNA. Zaradi podobnosti procesov transkripcije in translacije kot pri prokariontih se je bakterijski protein zlahka izražal saj je bil tudi prisoten v veliko kopijah (zaradi veliko kloroplastov v celici). Ker se kloroplastna DNA prenaša le po materinski liniji, ni nevarnosti, da bi gen za Bt zašel v druge rastline.

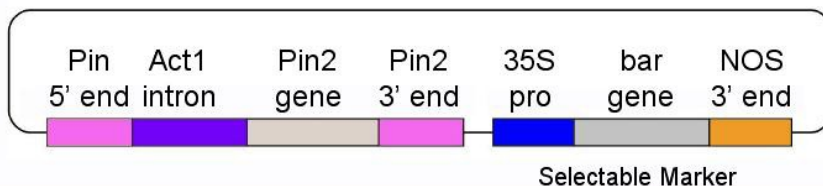
Omejevanje razvoja rezistence lahko povzročimo s tem, da uporabimo inducibilne promotorje (npr. PR-1a: protein, povezan s patogenezo pri tobaku; aktivator so patogeni organizmi ali salicilna kislina).

Odpornost z uporabo encimov in inhibitorjev

Zapis za inhibitor tripsina iz stročnice *Vigna unguiculata* so preko *A. tumefaciens* vgradili v tobak in zaznali bistveno manjše posledice delovanja tobačnega črva, če je bila raven izražanja $>2 \mu\text{g/g}$ proteina.

Po prenosu gena za inhibitor proteinaz II iz krompirja v riž so dobili rastline, odporne na ličinke rožnatega vrtalca, ki požira notranjost stebel.

Za pripravo transgenskih rastlin so pripravili plazmid, ki so ga vnesli v rastline z mikrobombardiranjem. Plazmid je imel med promotorjem in kodirajočo regijo za inhibitor vstavljen intron aktinskega gena; selekcijski marker je bila odpornost proti herbicidu (amonijev glufozinat, Basta) - gen je bil pod kontrolo promotorja 35S virusa mozaika cvetače.

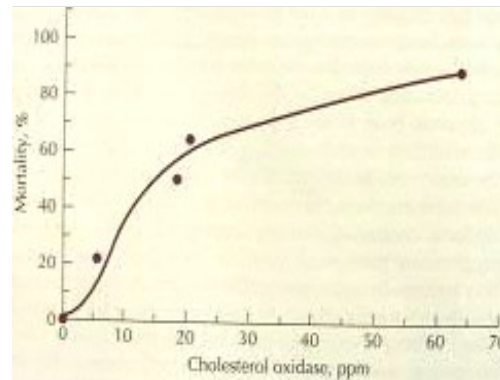
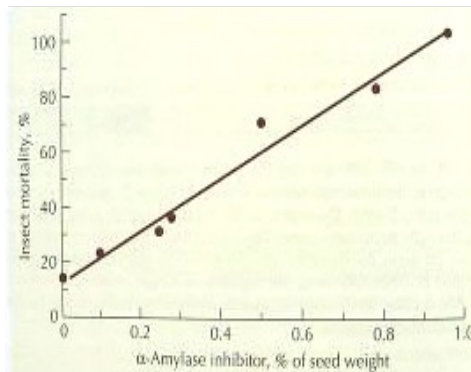


Odpornost z uporabo encimov in inhibitorjev /2

Rastline, ki so jih obdelali s šibkim Bt in nizkimi koncentracijami inhibitorja so bile 20x bolj odporne, kot če so uporabili samo Bt. Zato so pripravili transgenski tobak, ki je proizvajal funkcionalen fuzijski protein.

Razen inhibitorjev serinskih proteinaz lahko uporabimo tudi inhibitorje cisteinskih proteinaz, izbrane na podlagi inhibitornega spektra prebavnih encimov potencialnih škodljivcev - npr. ekvistatin iz morske vetrnice.

Žuželke, ki se hranijo s škorbnatimi semeni, lahko zatremo z uporabo inhibitorjev α -amilaze (npr. transgenski grah). Uporabimo lahko tudi bakterijsko holesterol-oksidadzo, ki spremeni epitel srednjega črevesa nekaterih vrst škodljivcev. Zapis za protein (55 kDa) so izolirali iz bakterij *Streptomyces* in ga preko vektorja vnesli v protoplaste tobaka, kjer se je izrazil v zadostni meri.



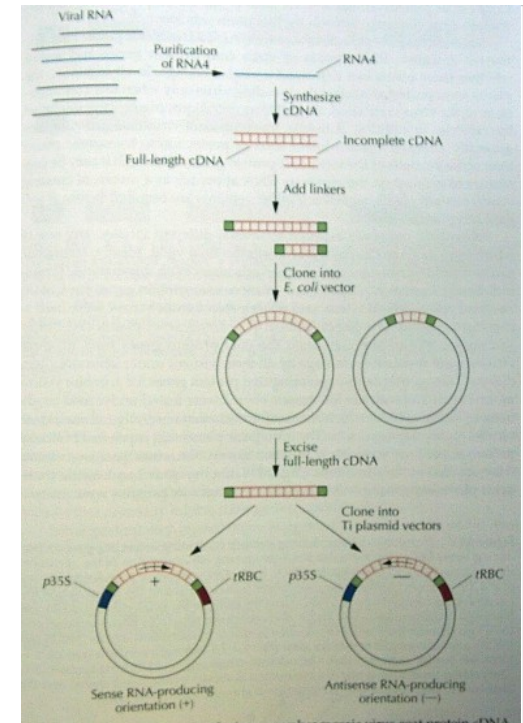
Odpornost proti virusom

Nekateri sevi rastlin so naravno odporni na okužbo z virusi. Pri prenosu odpornosti na sicer občutljive seve pogosto prihaja do revertiranja. Novi načini posredovanja odpornosti so z 'imunizacijo' z virusnimi geni (pogosto za proteine virusne ovojnice) ali z vnosom protismernih zaporedij.

V rastlinske celice, ki izražajo virusne antigene, se virus težje prebije in se v njih težje razmnožuje. Do protivirusnega učinka pride v zgodnji fazi virusnega cikla, kar še dodatno preprečuje razvoj rezistence. Popolne zaščite sicer običajno ne dosežemo, vendar so posledice okužb zanemarljive. Večkrat izražanje antigena po zapisu enega virusa zagotavlja neko stopnjo zaščite tudi pred nesorodnimi virusi.

Protismerna zaporedja so zaporedja, ki so komplementarna mRNA. Ob hibridizaciji se ustvarijo hibridne molekule dsRNA, ki so nefunkcionalne in se hitro razgradijo. V poskusu so primerjali dva pristopa zaščite pred virusom mozaika kumar (CuMV) pri tobaku.

Izkazalo se je, da je pristop s protismerno RNA učinkovit samo pri nizkih dozah virusov, medtem ko je izražanje virusnih antigenov delovalo ne glede na dozo.



Odpornost proti herbicidom

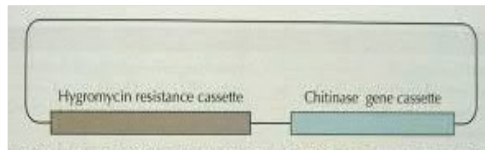
Zapleveljanje povzroča ~10 % manjši pridelek kljub letni porabi 10 mrd USD za >100 različnih kemičnih herbicidov, ki so večinoma nespecifični. Zato se je zdelo smiselno vnesti v kulturne rastline gen za odpornost proti herbicidom. Možnih je več pristopov:

- onemogočanje vnosa herbicida v rastlino (redko)
- prekomerno izražanje gena, ki je tarča herbicida
- zmanjšamo vezavne konstante tarčnega proteina za herbicid
- uvedemo sposobnost razgrajevanja herbicida

Več transgenskih odpornih rastlin so razvili v kombinaciji s herbicidom **glifozatom**, ki se v zemlji sorazmerno hitro razgradi do nestrupenih spojin. Herbicid je inhibitor encima EPSPS (5-enolpiruvil-šikimat-3-fosfat-sintaza), ki je pomemben pri sintezi aromatskih aminokislin. Gen za EPSPS so izolirali iz *E. coli*, odpornih na glifozat, in prenesli v različne rastline, kjer je dodatno izražanje bakterijskega encima zadoščalo za normalno rast rastlin v prisotnosti herbicida.

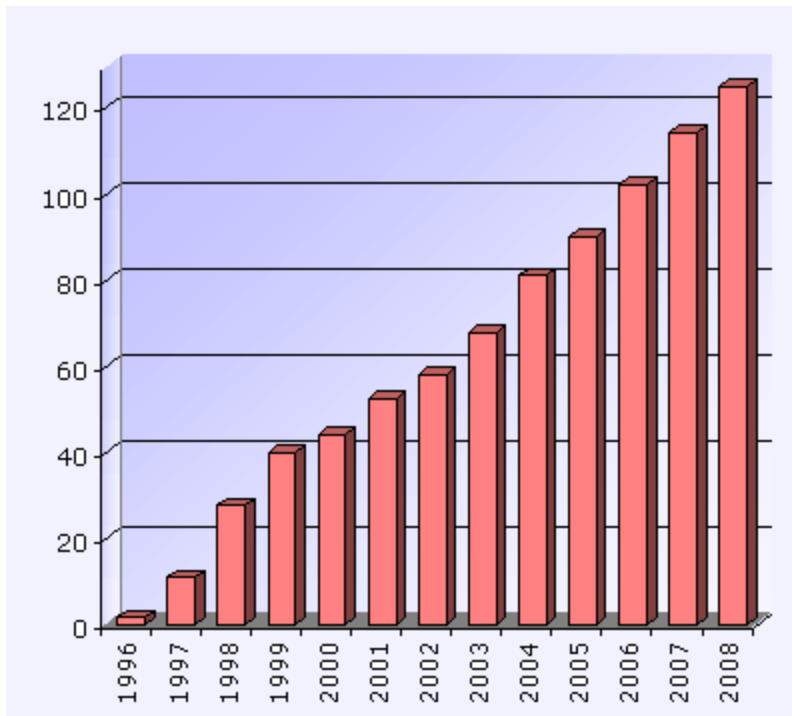
Odpornost proti okužbam

Bakterijske in glivne okužbe še dodatno prispevajo k zmanjšanju pridelka. Rastline se pred infekcijo same zaščitijo tako, da sintetizirajo vrsto PR-proteinov (s patogenezo povezanih proteinov), med njimi hitinaze, glukanaze, inhibitorje proteaz. Zato so pripravili transgenske rastline, ki stalno proizvajajo enega ali več proteinov iz te skupine. Take rastline so bile bistveno bolj odporne proti glivnim boleznim kot naravne.

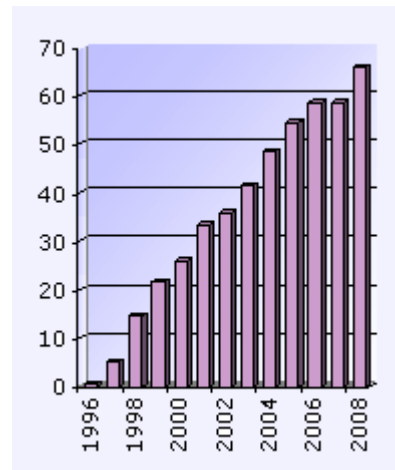


Na krompirju dela škodo bakterija *Erwinia carotovora*. Uporabnih odpornih rastlin v naravi niso našli, zato so pripravili transgenski krompir, ki je proizvajal fagni lizocim kot kratko fuzijo s signalnim zaporedjem ječmenove α -amilaze in z regulatornimi regijami virusa mozaika cvetače. Ravni izražanja so bile zelo nizke, a so zadoščale za zaščito pred bakterijami.

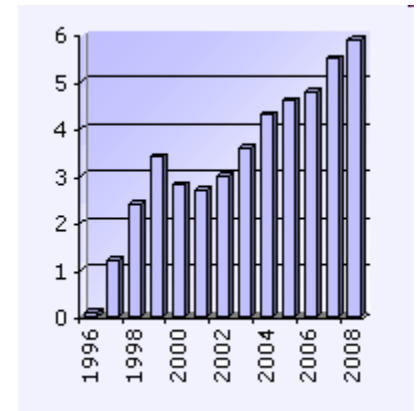




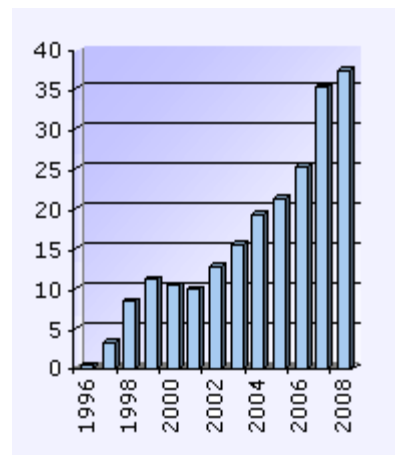
Površine, zasejane z GS rastlinami
(milijonov hektarov)



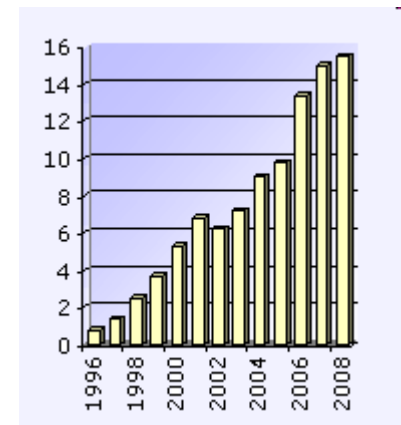
soja



oljna repica



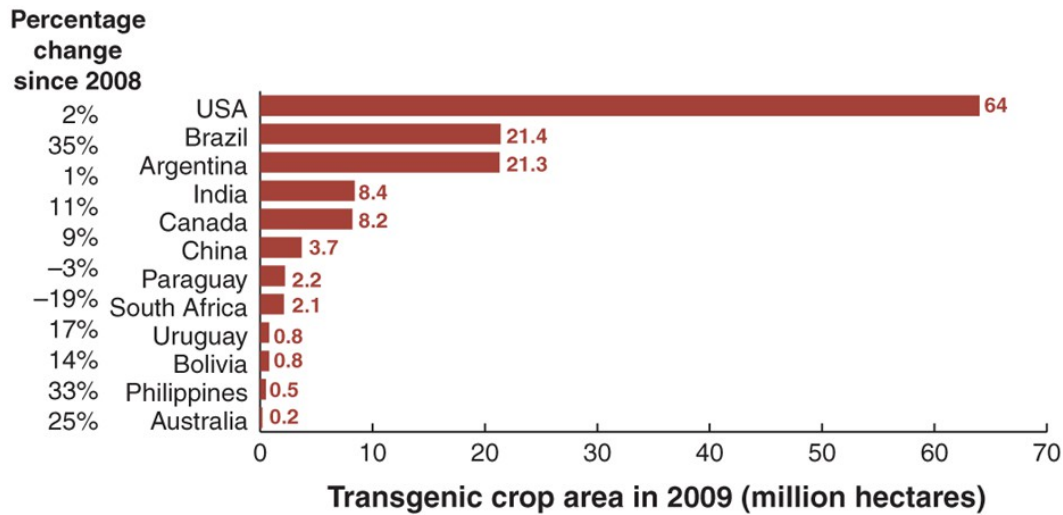
koruza



bombaž

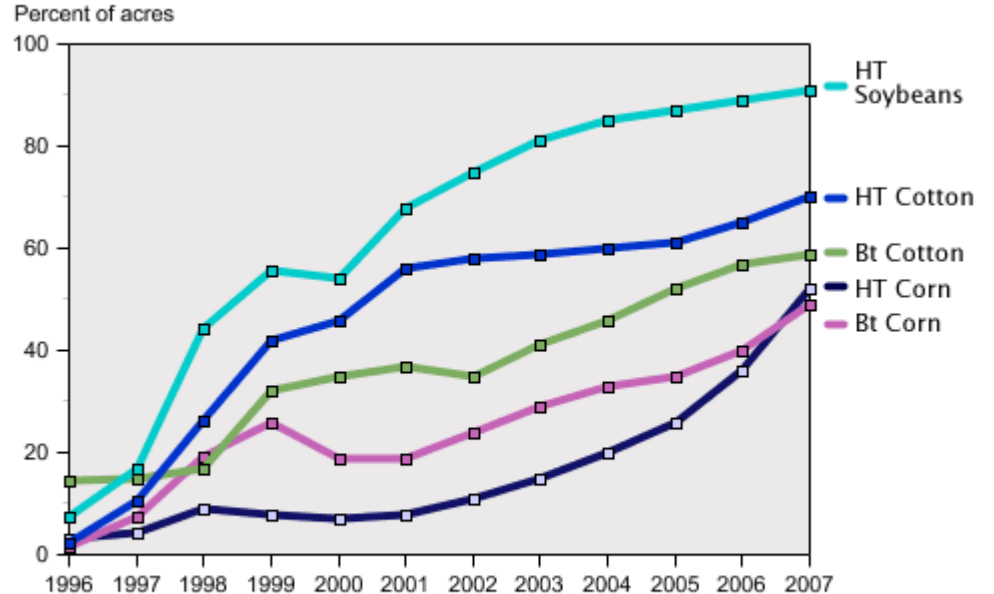
	skupna površina	površina GS	delež GS
soja	91	65,8	72%
koruza	161	37,3	23%
bombaž	33	15,5	47%
oljčna repica	28	5,9	21%

Površine zasejane s posameznimi posevki v svetovnem merilu (milijoni ha).



Source: International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications

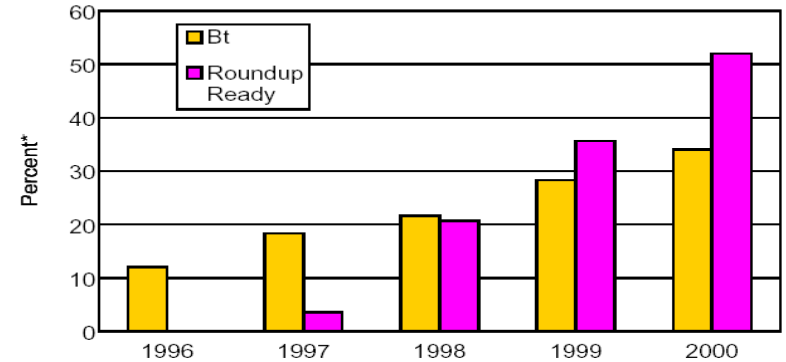
Adoption of genetically engineered crops grows steadily in the U.S.



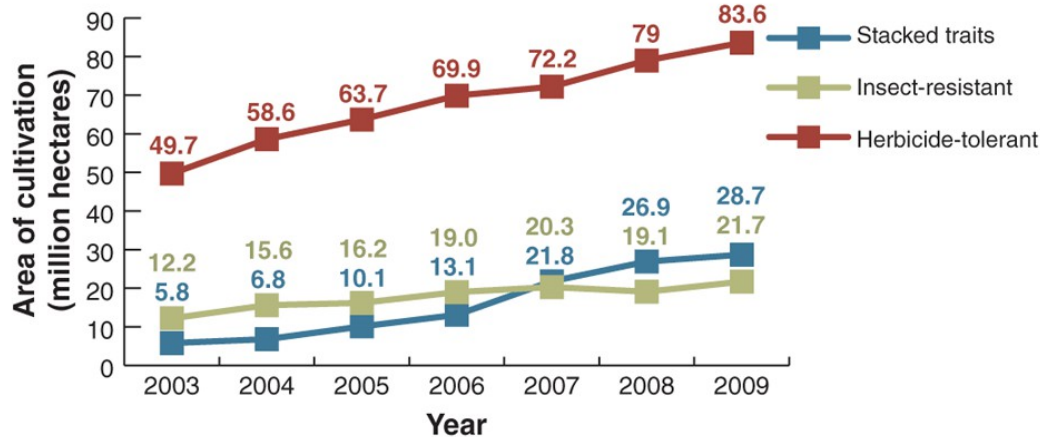
TRANSGENIC COTTON VARIETIES

Year of Registration	Trade Name	Pest-Managing Trait
1995	BXN [®]	Resistance to the herbicide, bromoxynil, Buctril [®]
1996	Bollgard [®]	Expression of a Cry1Ac <i>Bacillus thuringiensis</i> protein, toxic to certain lepidopterous larvae
1997	Roundup Ready [®]	Resistance to the herbicide, glyphosate, Roundup Ultra [®]

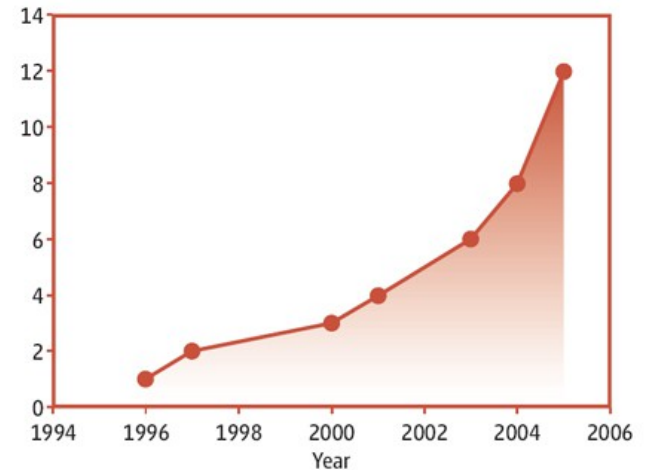
COTTON ACRES WITH Bt AND ROUNDUP READY[®] TRANSGENES



Growth in all categories of transgenic crop continued last year.



Number of Evolved Glyphosate-Resistant Weed Species



The farm level impact of using Bt maize in Spain

Graham Brookes

16 September 2002



Table 6: Summary of farm level impact on yield of Bt maize in the US 1997-2000

State	Number of studies examined	Average yield benefit of Bt maize: tonnes/ha (1)	Average benefit %	Range
Corn Belt	6	+0.68	+8.12	+4 to +12.8
Illinois	4	+1.02	+12.26	+1.1 to +22.6
Iowa	5	+0.45	+5.34	+2.2 to +9.2
Kansas	3	+0.49	+5.87	+2.8 to +9.0
Minnesota	1	+1.14	+13.69	+13.69 to +13.69
Nebraska	2	+0.46	+5.57	+3.2 to +7.9
South Dakota	2	+0.65	+7.75	+5.8 to +9.7
USA as a whole	5	+0.42	+5.04	+2.5 to +9.0

Source: Taken from Table 7 of Marra et al (2002) The pay-offs of agricultural biotechnology: an assessment of the evidence, International Food Policy Research Institute

Table 5: Yield comparisons of Bt and conventional maize in Spain 1997 (tonnes/hectare)

Region	Bt average yields	Conventional crop yields	% difference
Albacete	14.2	13.34	+6.4
Girona	13.63	12.07	+12.9
Huesca	13.35	12.54	+6.5
Lleida	13.72	13.13	+4.5
Madrid	14.70	14.28	+2.9
Zaragosa	12.01	11.32	+6.1
All regions above	13.30	12.51	+6.3

Source: Alcade E (1999) Symposium de Sanidad Vegetal. Sevilla

Table 7: Impact on key costs of maize production of using Bt maize in the Huesca region of Spain (€/hectare)

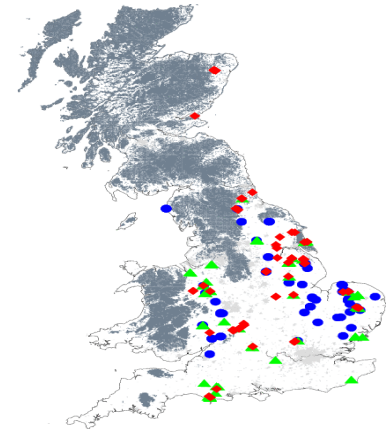
Cost element	Sarinena area: minimum	Sarinena: maximum	Sarinena: average	Barbastro area
Seed	+18.5	+18.5	+18.5	+18.5
Insecticide use	-24	-102	-42	No change
Net change	-5.5	-83.5	-23.5	+18.5
Labour cost	Benefit	Benefit	Benefit	No change

The Farm Scale Evaluations of spring-sown genetically modified crops

Philosophical Transactions: Biological Sciences

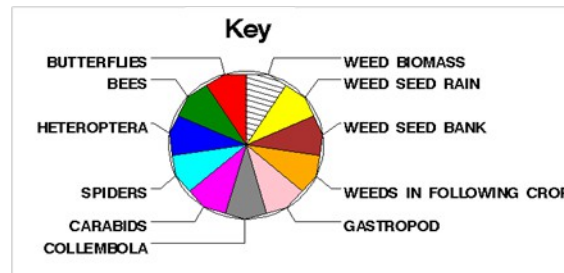
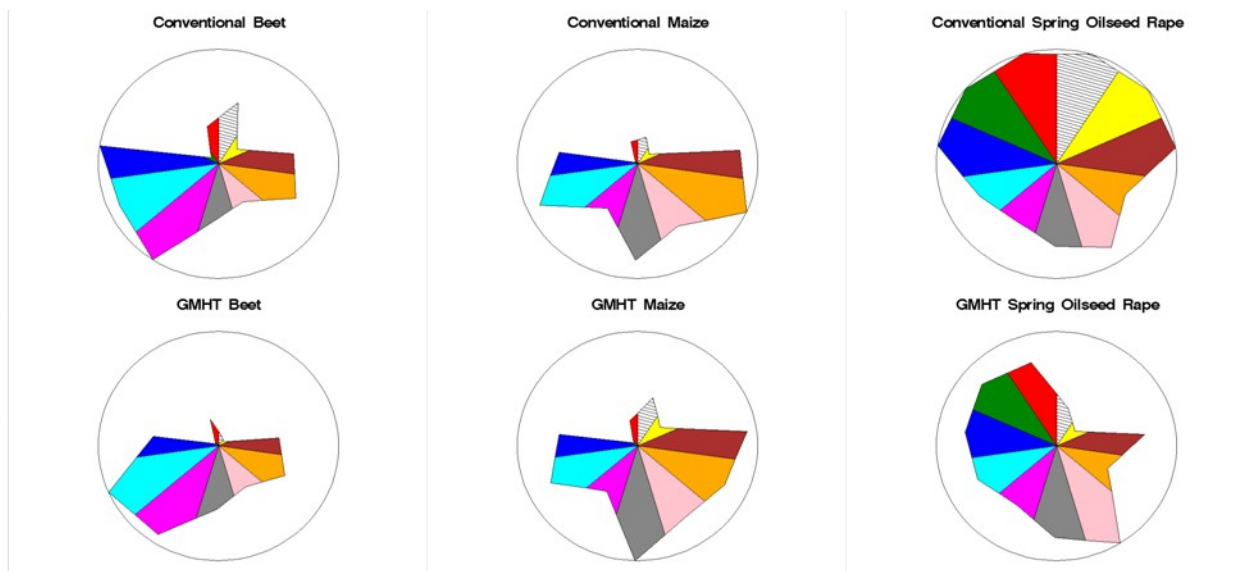
Series B Volume 358 Issue 1439 (29 November 2003)

Največja sistematična študija o GS-poljščinah na svetu (1999-2003, VB).



Ali lahko pridelava GS-poljščin vpliva na število in raznolikost živih bitij v okolju? Poskusi z GS peso, oljčno repico in koruzo, ki so odporne na herbicid; po >60 polj vsake poljščine - primerjava s konvencionalnimi poljščinami na sosednji lokaciji.

Preverjali so vpliv na gostoto in raznovrstnost plevelov, množino njihovih semen, na število letečih in talnih nevretenčarjev na poljih in v njihovi okolici. Meritve so opravljali 15-20x letno.



Zaključki:

Gojenje GS-pese in GS-oljne repice v velikem obsegu lahko negativno vpliva na ptice, čebele in metulje, saj imajo zaradi manj plevelov na voljo manj hrane. Dolgoročno gledano lahko pride do izginjanja posameznih vrst plevelov.

Gojenje GS-koruze v velikem obsegu lahko poveča količino plevelov, kar pomeni več hrane za ptice.

Kratkoročno gledano lahko gojenje GS-pese in GS-oljne repice vpliva na povečanje populacij talnih skakačev in njihovih plenilcev (hroščev in pajkov), ker je na voljo več gnijočih rastlin.

Kakšen bi bil vpliv na živa bitja ob kolobarjenju s kulturami, je treba še raziskati.

Vpliv je odvisen tudi od tega, kako velika so polja, posejana z GS-rastlinami oz. ali so v bližini polj tudi neobdelane površine z naravnim rastjem.

Ocena sprejemljivosti potencialno škodljivih vplivov pri sproščanju Bt koruze v okolje

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Ljubljana, 18. januar 2002

Avtorja študije:

dr. Ludvik ROZMAN, Stanislav GOMBOC

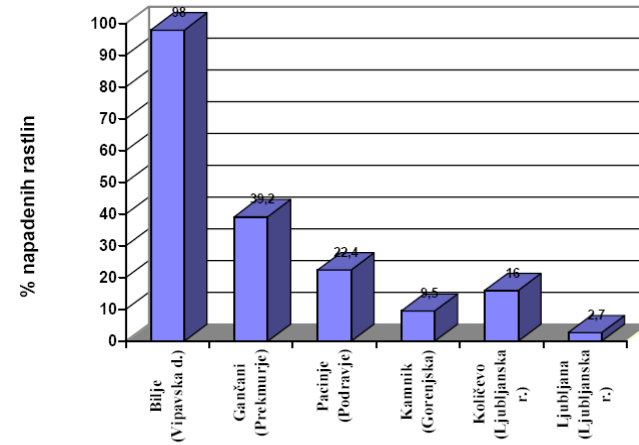


Slika 1: Število generacij koruzne večje na proučevanih lokacijah.



Slika 2: Pregled območij, kjer bi bila pridelava Bt koruze z vidika pridelovalca ekonomsko rentabilna - na podlagi doslej znanih argumentov.

Družinske kmetije v Sloveniji; popis 2000
Slovenija: 74.870 ha s koruzo = 44% njivskih površin



Graf 7: Štiriletno povprečje napada koruzne večje na koruzi po lokacijah, ob jesenskem vrednotenju napada (1994-1997).

Crop Name	Events	Phenotypic Trait
Argentine Canola	1	Oxynil herbicide tolerance, including bromoxynil and ioxynil.
Argentine Canola	1	Modified seed fatty acid content, specifically high laurate levels and myristic acid production.
Argentine Canola	2	Glyphosate herbicide tolerance.
Argentine Canola	3	Phosphinothricin (PPT) herbicide tolerance, specifically glufosinate ammonium.
Argentine Canola	1	Imidazolinone herbicide tolerance, specifically imazethapyr.
Argentine Canola	5	Glufosinate ammonium herbicide tolerance and fertility restored.
Argentine Canola	2	Modified seed fatty acid content, specifically high oleic acid, low linolenic acid content.
Carnation	1	Increased shelf-life due to reduced ethylene accumulation through introduction of truncated aminocyclopropane cyclase (ACC) synthase gene; Sulfonylurea herbicide tolerance, specifically triasulfuron and metsulfuron-methyl.
Carnation	2	Modified flower colour; Sulfonylurea herbicide tolerance, specifically triasulfuron and metsulfuron-methyl.
Chicory	1	Glufosinate ammonium herbicide tolerance and fertility restored.
Cotton	2	Resistance to lepidopteran pests including, but not limited to, cotton bollworm, pink bollworm, tobacco budworm.
Cotton	1	Oxynil herbicide tolerance, including bromoxynil and ioxynil.
Cotton	1	Resistance to lepidopteran insects; oxynil herbicide tolerance, including bromoxynil.
Cotton	1	Sulfonylurea herbicide tolerance, specifically triasulfuron and metsulfuron-methyl.
Cotton	1	Glyphosate herbicide tolerance.
Cotton	1	Phosphinothricin (PPT) herbicide tolerance, specifically glufosinate ammonium.
Cotton	2	Resistance to lepidopteran pests.
Creeping Bentgrass	1	Glyphosate herbicide tolerance.
Flax, Linseed	1	Sulfonylurea herbicide tolerance, specifically triasulfuron and metsulfuron-methyl.
Lentil	1	Imidazolinone herbicide tolerance, specifically imazethapyr.

Gensko spremenjena hrana

Prednosti GS hrane:

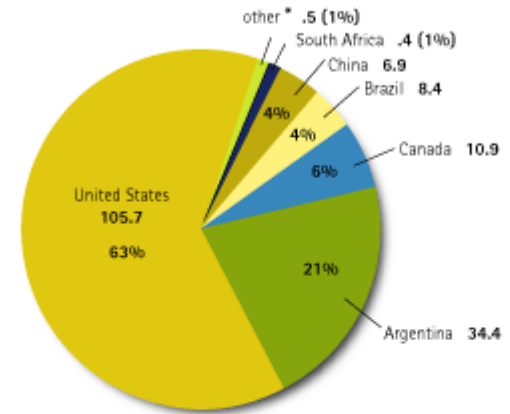
- manj pesticidov (prihranek energije, manjša ekološka obremenitev)
- večji donosi zaradi zatiranja škodljivcev
(5-7 % = pri koruzi 10 mio t/leto =
energetska vrednost za preživetje 60 mio ljudi)
- preprosta uporaba

“GS-rastline predstavljajo pomembno komponento trajnostnega razvoja: zagotavljanje hrane za človeštvo na manjših površinah, z manj kemičnimi sredstvi”

“GS-rastline - večja kvaliteta hrane”
(okus, hranljivost, obdelava)

2003: ~67 mio ha (~40x več kot 1996)

PERCENT OF GLOBAL LAND AREA PLANTED
IN BIOTECHNOLOGY VARIETIES BY COUNTRY
(2003 total global land area: 167.2 million acres)



Acres in Millions

* The following countries planted genetically modified crops totaling one percent of global GM crop production: Australia, Mexico, Romania, Bulgaria, Spain, Germany, Uruguay, Indonesia, India, Columbia, Honduras, and the Philippines. Differences between values shown and those calculated (from percent and total global acreage) are a likely consequence of rounding.

Source: International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA) Global Review of Transgenic Crops 2003.

Gensko spremenjena hrana /2

Največji proizvajalci GSO:

- **Monsanto**

koruza, soja, bombaž, oljčna repica **Roundup Ready** (odpornost na herbicid *Roundup Ultra* istega proizvajalca)

koruza **YieldGard** (odpornost na več vrst insektov, predvsem gosenico koruzne vešče)

bombaž **BollGard** (vsebuje toksin iz *B. thuringiensis kurstaki* proti škodljivim metuljem)

oljčna repica **High Laurate** (povišana raven lavrata in miristata v semenu; KanR - preko *A. tumefaciens*; za živilsko industrijo, živalsko krmo in kot surovina za proizvodnjo lavrata)

- **Aventis CropScience** (Bayer AG; 7,5 mrd EUR)

koruza (**SeedLink**, **LibertyLink**, **StarLink**: odpornost na herbicide, sterilne moške rastline), soja. Škandal 'StarLink' leta 2000: koruza je bila dovoljena za živalsko krmo, a so jo našli v prehrabnih izdelkih; 28 Američanov je morda dobilo alergične reakcije na protein Cry9C. Koruzo so umaknili s trga, kasneje pa dokazali, da za reakcije ni bil kriv bakterijski toksin.

- **Syngenta Seeds/Zeneca/Novartis**

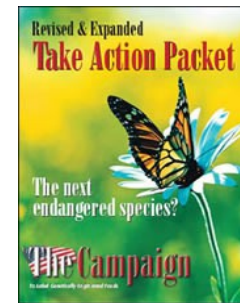
Novartis je leta 2000 objavil, da umika uporabo GMO iz otroške in ostale hrane, čeprav gre za enega najstarejših in največjih proizvajalcev s področja GMO.

Syngenta je razvila omejevalne sisteme (GURT = gene use restriction technology): 'terminatorsko' tehnologijo [proizvodnjo sterilnih semen] in sistem 'traitor' - ekspresijske sisteme z inducibilnim promotorjem, ki ga reguliramo s pomočjo sintetičnih spojin istega proizvajalca.

Gensko spremenjena hrana /3

(proti)argumenti in dvomi nasprotnikov GSH:

- “organska hrana je bolj okužena s koliformnimi bakterijami (gnojenje)”
- ni bilo dokazano; napačno interpretirana študija; gnojijo tudi GSO
- “GSO imajo pozitivne stranske učinke” (koruza, odporna na insekte, je uničevala tudi glive, ki sicer izločajo aflatoksine) - po drugi strani to kaže na nepopolno razumevanje procesov, ki so rezultat rekomb. DNA
- “le z GSO lahko prehranimo svet” - nasprotniki trdijo, da je pridelava s konvencionalnimi sredstvi zadostna, saj veliko hrane države uničijo, da bi vzdrževale višjo ceno pridelkov
- “pripraviti je mogoče hrano, na katero ne bi bili alergični” - to je sicer mogoče, a na polju bi lahko prišlo do mešanja GSO in naravnih kultivarjev, kar bi vneslo alergene v hrano, ki bi bila deklarirana kot nealergena
- “v rastlinah bi lahko pripravili rekombinantna zdravila” (npr. cepivo v bananah) - zaradi možnosti mešanja rastlin v nasadu bi lahko prišlo do usodnih zmot
- “GS hrana je lahko bolj hranljiva” (npr. riž z vitaminom A) - manjkajoče snovi lahko dobimo z drugo vrsto hrane, vprašanje pa je tudi, ali bi tako spremenjene rastline imele vse ostale želene lastnosti (donosi, neuravnoveženost hranil)



Gensko spremenjena hrana /4

- rastline proizvajajo rekombinantne insekticide, ki so **nespecifični**
- rastline, ki so odporne proti herbicidom, vodijo v še **večjo porabo sintetičnih herbicidov**
- škodljivci razvijajo **odpornost** proti biološkim insekticidom
- zaradi uporabe herbicidov v kombinaciji s transgenskimi rastlinami lahko pride do **izselekcijiranja plevelov**, odpornih na herbicide
- naravni pleveli se bodo križali z odpornimi GS-rastlinami in povzročili nastanek super-plevelov
- GSO **onesnažujejo pridelke**, dobljene s klasično ali organsko pridelavo (cvetni prah se širi dalj, kot so predvidevali)
- kmetje postajajo življenjsko **odvisni** od enega proizvajalca (semena in zaščitnih sredstev)
- dovoljenje za uporabo GSO izdajajo pristojni uradi na podlagi raziskav samih proizvajalcev; te zanemarjajo možne dolgoročne posledice uporabe ali uživanja GS hrane,
narava genetskih sprememb pri GSO pa ni dovolj raziskana
- genetski material, vstavljen v rastline, lahko preide v celice prebavnega trakta
- prišlo bo do **alergij** na nove proteine, ki jih izražajo GSO
- zagovorniki GSO so plačanci multinacionalnk

Table 1: Recommended separation distances to ensure cross pollination is below specified limits in non seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape

	Threshold levels of cross-pollination		
	1%	0.5%	0.1%
Oilseed rape (B. napus and rapa)	1.5 metres	10 metres	100 metres
Maize grain	200 metres	300 metres	Insufficient information to make a recommendation
Maize silage	130 metres	200 metres	420 metres
Sugar beet	0	0	0

Source: Ingram 2000

Zakon o sobivanju... (2009)