

RICHARD L. HELLMICH¹, JULIA GÓRECKA²

¹*USDA-ARS Corn Insects and Crop Genetics Research Unit*

Department of Entomology

Iowa State University, Ames

Iowa 50011-3130

E-mail: rhellmi@iastate.edu

²*Katedra Entomologii Stosowanej*

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

E-mail: juliag2@wp.pl

MOŻLIWOŚCI I WYZWANIA ZWIĄZANE Z WPROWADZANIEM DO UPRAWY ODMIAN ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE ODPORNYCH NA SZKODNIKI*

WPROWADZENIE

W przeciągu dwóch ostatnich wieków w rolnictwie został wprowadzony szereg nowych rewolucyjnych technologii, takich jak: orka przy pomocy stalowych pługów, wprowadzenie traktorów do uprawy gleby, nowych ulepszonych odmian wyhodowanych w profesjonalnych firmach hodowlanych, stosowanie syntetycznych chemicznych środków ochrony roślin (ch.ś.o.r.) i wysoko wydajnych przemysłowych nawozów mineralnych. Każda z tych technologii zwiększała wydajność rolnictwa, jednak konsekwencją jej stosowania był zauważalny wpływ na środowisko. Obecnie, mając do dyspozycji możliwości jakie stworzyła biotechnologia, ludzkość ma szansę na stworzenie systemu zrównoważonego rolnictwa, godzącego dotychczas trudne do pogodzenia priorytety – dalszy postęp w rolnictwie przy jednoczesnym ograniczeniu szkodliwego wpływu nowych technologii na środowisko.

Dzięki wykorzystaniu metod inżynierii genetycznej mamy do dyspozycji odmiany roślin uprawnych, które wytwarzają białka toksyczne dla gąsienic motyli (Lepidoptera) i larw

szkodliwych gatunków chrząszczy (Coleoptera) (Tabela 1). Substancje toksyczne wytwarzane są przez rośliny, zatem rolnicy mogą ograniczyć stosowanie syntetycznych insektycydów w ochronie roślin przed szkodnikami. Poza wprowadzeniem genów warunkujących odporność na szkodniki, otrzymano również genetycznie zmodyfikowane rośliny tolerujące wybrane herbicydy. Pozwala to na prowadzenie uprawy roli (i) bez orki, (ii) ważnego systemu upraw zapobiegającego erozji gleby, i (iii) stosowania bezpiecznych dla środowiska herbicydów do zwalczania chwastów.

Doceniając korzyści wynikające z uprawy odmian roślin uprawnych zmodyfikowanych genetycznie (ang. genetically modified, GM) naukowcy, pamiętając gorzką lekcję, jaką społeczeństwa przeszły w wyniku nadmiernie i często bezkrytycznie stosowanych pestycydów (chemicznych środków ochrony roślin z grupy chlorowanych węglowodorów), w wielu krajach podjęli badania nad oceną ewentualnych niekorzystnych oddziaływań na środowisko. Metodyka badań nad działaniami ubocznymi pestycydów na środowisko opra-

*Artykuł jest rozszerzoną wersją specjalnego wykładu Prof. R. L. Hellmich'a wygłoszonego w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w dniu 8.10.2007 i Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików w dniu 10.10.2007.

Tabela 1. Odmiany kukurydzy z genem *Bacillus thuringiensis* (Bt) :176, BT11, MON810 i TC1507 z wykazem protein i profilem ekspresji.

Odmiana	Właściciel	Nazwa hadlowa w USA	Proteina	Tkanki	Pyłek Bt
176	Mycogen Seeds Novartis Seeds	NatureGard Maximizer	Cry1Ab	zielone/pyłek	wysoka
BT11	Syngenta Seeds	YieldGard	Cry1Ab	wszystkie	bardzo niska
MON810	Monsanto	YieldGard	Cry1Ab	wszystkie	bardzo niska
TC1507	Dow Agrosciences	Herculex	Cry1F	wszystkie	niska

cowana przez specjalistów z zakresu ochrony roślin często służyła jako punkt wyjściowy w badaniach nad roślinami GM. W artykule tym postanowiliśmy przedstawić następujące zagadnienia związane z oceną ryzyka uwolnienia roślin GM z cechą odporności na szkodniki do środowiska: (i) *Bacillus thuringiensis* jako źródło genów odporności na szkodniki;

(ii) oddziaływania odmian GM na ekosystemy na przykładzie bawełny; (iii) aktualny stan wiedzy nad oceną oddziaływania pyłku roślin GM na owady na przykładzie motyla monarcha (*Danaus plexippus* [Linnaeus]; Danaidae, Lepidoptera) oraz (iv) sugestie odnośnie dalszych badań nad oddziaływaniem roślin GM na środowisko.

ZASADY OCENY RYZYKA UWALNIANIA ROŚLIN GM DO ŚRODOWISKA

Ludzie podejmują ryzyko codziennie. Większość zagrożeń, takich, jak: prowadzenie samochodu, stosowanie narzędzi elektrycznych, chodzenie po oblodzonych chodnikach, nie wspominając o paleniu tytoniu, picie alkoholu czy nadmiernym spożywaniu wysokotłuszczowej diety, jest powszechnie znana. Jednocześnie nowe sytuacje lub wprowadzenie nowego produktu zaskakuje ludzi, zmuszając ich do dodatkowej oceny podejmowanego ryzyka. Obawa wobec nowo wprowadzonego produktu związana jest często z poziomem edukacji jednostki, szczególnie w sytuacji, gdy produkt jest pozytywnie oceniany przez naukowców. Czasami wyjaśnienie wątpliwości wymaga przeprowadzenia dodatkowych badań. W przypadku roślin uprawnych GM posiadamy znaczną wiedzę o ich bezpieczeństwie. Przy ocenie bezpieczeństwa uprawy roślin kukurydzy i bawełny GM z ekspresją genów powszechnie występującej w glebie bakterii *Bacillus thuringiensis* (Bt) skorzystano z szeroko zakrojonych badań prowadzonych poprzednio nad bezpieczeństwem bio-insektycydów produkowanych na bazie tej bakterii. Insektycydy te od 40 lat są powszechnie stosowane w celu zwalczania szkodników z rzędu Lepidoptera. Ich aplikacja jest szczególnie popularna wśród rolników i ogrodników prowadzących uprawy ekologiczne, ponieważ preparaty te zawierają bakterie naturalnie i powszechnie występujące w glebie na całej kuli ziemskiej.

Niezależnie od tych faktów, instytucje odpowiedzialne za bezpieczeństwo zdrowia ludzi i zwierząt i ochronę środowiska wymagają przedstawienia dodatkowych danych z badań nad uprawami odmian GM. W Stanach Zjednoczonych ustawa federalna dotycząca insektycydów, fungicydów i rodentycydów (FIFRA) zobowiązuje Agencję Ochrony Środowiska (USEPA) do ustanowienia zasad stosowania i dystrybucji pestycydów w celu ochrony zdrowia ludzi i ochrony środowiska, jednocześnie biorąc pod uwagę korzyści wynikające ze stosowania tych środków ochrony roślin. Agencja ta ustanowiła również zasady dotyczące wprowadzania do uprawy roślin zmodyfikowanych genetycznie przed podjęciem decyzji o wpisaniu danej odmiany do rejestru. Ocena ta obejmuje analizę potencjalnego istotnego niekorzystnego oddziaływania tych roślin na środowisko (USNAS 2002). Dla odmian kukurydzy i bawełny z ekspresją genów z bakterii *Bacillus thuringiensis* oceny takiej dokonano na podstawie zasad obowiązujących dla oceny bio-insektycydów zawierających mikroorganizmy. USEPA wykorzystwała te zasady w celu zminimalizowania zmienności pomiędzy testami, opartymi na różnych metodykach. Są one dostępne na stronie internetowej Biura USEPA dotyczącej Prewencji, Pestycydów i Substancji Toksycznych (OPPTA) (USEPA 1996). Przed wydaniem zezwolenia na uprawę odmian GM przeprowadzono liczne doświadczenia nad

oceną oddziaływania produktów uzyskanych z roślin GM na zwierzęta w warunkach laboratoryjnych. Gatunkami, które poddano tym testom były: sumy, szczury, krowy mleczne, przepiórki amerykańskie, kurczaki, dżdżownice, dafnie, pszczoły miodne, biedronki, pasożytnicze błonkówki (*Hymenoptera*), złotooki (*Chrysoperla* spp.) i skoczogonki (*Collembola*). Gatunki te są łatwe w hodowli laboratoryjnej i są wykorzystywane od wielu lat w badaniach nad toksycznością chemicznych środków ochrony roślin.

Analiza ryzyka obejmuje dwie właściwości: efekt (ang. effect) i ekspozycję (ang. exposure). Zadaje się pytania: „Jaki może być efekt toksyczności?” oraz „Jakie jest prawdopodobieństwo ekspozycji?”. Jako przykład przeanalizujemy stosowanie aspiryny. Aspiryna może działać pozytywnie lub negatywnie na zdrowie człowieka w zależności od zakresu ekspozycji. Właściwe dawki aspiryny dają efekty lecznicze dla wielu ludzi, ale przy nadmiernym stosowaniu lek może prowadzić do śmierci. Efekt oddziaływania wielu produktów na dany organizm zależy od sposobu i wielkości ekspozycji. Oceny efektu i ekspozycji dokonuje się na podstawie etapowych doświadczeń, prowadzonych na gatunkach testowych. Pierwszy etap takich doświadczeń przeprowadza się wystawiając wybrany gatunek w krótkim okresie na podwyższone dawki badanej substancji, często 10-krotnie wyższych niż występujących w warunkach naturalnych. Metoda ta nazywana „najgroź-

niejszym przypadkiem” (ang. „worse-case”); pozwala na określenie, czy dany produkt powinien być poddany dalszym badaniom. Jeżeli dane doświadczalne wskazują na istnienie jakichkolwiek negatywnych oddziaływań, produkt ten włączany jest do dalszych testów. Z pierwszego etapu oceniającego krótkotrwałe oddziaływania wysokich dawek, przechodzi się do badań nad wpływami długofalowymi dawek normalnie występujących w przyrodzie. Większość tych badań przeprowadza się w warunkach laboratoryjnych, a następnie rozpoczyna się trzeci etap badań, w którym imituje się warunki naturalne lub prowadzi się obserwacje na większą skalę w warunkach polowych. Na każdym z tych etapów naukowcy dokonują oceny ryzyka wprowadzenia danego organizmu lub substancji do środowiska.

Metodyka ta jest stosowana od wielu lat w prowadzeniu testów nad nowymi pestycydami do stosowania w rolnictwie i ogrodnictwie. Gdy badany produkt stwarza jakiegokolwiek minimalne ryzyko, jego zastosowanie jest ograniczane konkretnymi zaleceniami. W przypadku niektórych pestycydów stwarzających zagrożenie dla ryb wprowadza się obostrzenia w ich stosowaniu w otoczeniu i sąsiedztwie ujęć wodnych. Inne pestycydy mogą być toksyczne dla pszczół. Obostrzenia obejmują więc okres ich stosowania (wcześniejszym rankiem) i ostrzeżeniami dla pszczelarzy, aby nie dopuszczali do wylotu pszczół w czasie trwania okresu karencji.

ODMIANY BAWELNY GM Z GENAMI Bt

Toksyczne białka Cry wytwarzane przez odmiany Bt bawełny działają selektywnie tylko na wybrane gatunki owadów i tylko w określonych warunkach. Przede wszystkim toksyna musi się dostać do przewodu pokarmowego owada, co następuje tylko w przypadku zjedzenia części rośliny GM. Poziom pH w układzie pokarmowym musi wynosić 9,5 lub więcej, aby specyficzne receptory błony przewodu pokarmowego zareagowały na obecność toksyny. Z tego powodu różne szczepy *Bacillus thuringiensis* działają tylko na wybrane grupy owadów. Białka Cry działające toksycznie na gąsienice motyli nie oddziałują na inne grupy owadów, jak chrząszcze, mszyce i inne grupy stawonogów o aparacie gębowym kłująco-ssącym (Homoptera i Heteroptera). W przewodzie pokarmowym ssaków pH jest niższe od 2 i brak jest receptorów, z któ-

rymi toksyczne białko Bt może się łączyć. Stąd z punktu widzenia toksyczności, białka Bt są wyjątkowo bezpieczne dla ssaków.

Bawełna jest powszechnie uprawianą rośliną w wielu regionach w świecie, a ilość stosowanych insektycydów do zwalczania licznych gatunków szkodników jest znacznie wyższą niż na jakiegokolwiek innej uprawie. Stanowi to ok. 25% ogólnie stosowanych insektycydów w świecie. Pierwszą komercyjną odmianę bawełny z ekspresją genów cry wprowadziła firma Monsanto w 1996 r. pod nazwą Bollgard®. Odmiana ta syntezuje białko Cry 1 Ac, zabezpieczające pąki kwiatowe i owocniki przed atakiem dwóch głównych gatunków szkodliwych gąsienic w Stanach Zjednoczonych: słonecznicy *Helicoverpa virescens* (Fabricius) i *Pectinophora gossypiella* (Saunders). Jednocześnie zapewnia częściową ochronę przeciwko

gąsienicom innego gatunku motyli: słonecznicy amerykańskiej (*Helicoverpa zea* [Boddie]). Dlatego firmy hodowlane włączyły do roślin bawełny (ang. pyramided) dodatkowy gen warunkujący syntezę białka Cry 2 Ab w celu zapewnienia ochrony przeciwko gąsienicom wszystkich trzech gatunków. Odmianę z dwoma genami Bt wprowadzono do uprawy w 2003 r. pod nazwą Bollgard II®. Odmiana bawełny z ekspresją tych dwóch białek zapewniła też skuteczniejszą ochronę przed gąsienicami innych gatunków z rzędu motyli, jak sówka *Spodoptera frugiperda* (Smith), *Pseudoplusia includens* (Walker) (ADAMCZYK i współaut. 2001). Inną odmianę z dwoma genami Bt zarejestrowano jesienią 2004 r. przez Dow Agrosiences. Odmiana ta wytwarza dwa białka: Cry 1 Ac i Cry 1 F i jest komercyjnie dostępna pod nazwą Widestrike®. W 1996 r. odmianę Bollgard® zarejestrowano do uprawy w Meksyku. Obecnie odmiana ta zajmuje ok. 1/3 całej powierzchni uprawy bawełny w Meksyku, a akceptacja jej przez farmerów jest związana ze składem gatunkowym szkodliwych gatunków gąsienic w danym regionie (HUESING i ENGLISH 2004).

Odmiany bawełny Bt są uprawiane we wszystkich głównych regionach produkcji tej rośliny na świecie. Ważną korzyścią wynikającą z ich uprawy jest znaczne ograniczenie stosowania syntetycznych insektycydów. W USA na tych odmianach ilość stosowanych pestycydów zredukowana została od 40 do 60%. W Chinach, gdzie większość uprawianej bawełny to odmiany Bt, stosowanie pestycydów zmniejszyło się od 50 do 80%. Na uwagę zasługuje fakt, że liczba przypadków zatruc spowodowanych pestycydami u rolników zmniejszyła się o ok. 75% (PRAY i współaut. 2002). W Australii nastąpiło zmniejszenie ich stosowania od 50 do 85% (LAWRENCE i współaut. 2005).

Jedną z ważnych korzyści wyeliminowania stosowania nioselektywnych insektycydów jest wzrost populacji naturalnych wrogów szkodników bawełny. Badania prowadzone w stacji doświadczalnej w zachodnich stanach USA, w których porównano nasilenie występowania 22 gatunków wrogów naturalnych na polach bawełny Bt i odmiany konwencjonalnej wykazały, że wpływ bawełny Bt na te gatunki jest znikomy (NARANJO 2005a). W

przeciwieństwie do poletek bawełny opryskiwanych zalecanymi insektycydami, gdzie obserwowano silny, negatywny wpływ na faunę wrogów naturalnych: 48% redukcji 13 gatunków pożytecznych w przeciwieństwie do 19% dla 5 gatunków na poletkach Bt. Wyniki wskazujące na liczniejsze występowanie wrogów naturalnych na uprawach bawełny Bt zostały następnie potwierdzone w badaniach prowadzonych na polach produkcyjnych w tych stanach (HEAD i współaut. 2005).

W Australii stosowanie insektycydów miało jeszcze bardziej negatywny wpływ na bioróżnorodność fauny owadów (LAWRENCE i współaut. 2005).

Wyniki licznych doświadczeń nie wykazały negatywnego bezpośredniego oddziaływania bawełny Bt na różnorodność fauny owadów. Wyniki 13-tu doświadczeń polowych przeprowadzonych w USA i Australii, nad długofalowym następczym działaniem bawełny i kukurydzy Bt na organizmy niedocelowe, wskazały na stosunkowo niewielkie ryzyko wpływu tych odmian na te organizmy (NARANJO i współaut. 2005). Dodatkowe 5-letnie badania prowadzone w południowo-zachodnich stanach USA wykazały, że nie ma istotnych różnic pomiędzy wpływem odmian bawełny Bt i konwencjonalnych na wrogów naturalnych 3-ech najważniejszych gatunków szkodników bawełny (NARANJO 2005b).

Jednym z możliwych efektów ubocznych zmniejszenia stosowania insektycydów w uprawach bawełny Bt może być wzrost populacji gatunków szkodników tzw. wtórnych. Populacje tych gatunków są obecnie utrzymywane na niskim poziomie przez insektycydy stosowane do zwalczania szkodników na konwencjonalnych odmianach bawełny. Odmiany bawełny Bt skutecznie kontrolują występowanie gąsienic *Pectinophora gossypiella* na terenie stanu Arizona, jednak nie chronią przed porażeniem przez mączlika poinsecjowego (*Bemisia tabaci* [Gennadius]) lub zmieników z rodzaju *Lygus* (Heteroptera). W większości przypadków rozwój populacji szkodników wtórnych jest ograniczany przez wrogów naturalnych, jednak w innych sytuacjach ich działanie nie hamuje rozwoju populacji tych szkodników, co może stanowić problem dla farmerów.

ANALIZA PRZYPADKU MOTYLI MONARCHA

W momencie rejestracji odmian kukurydzy Bt, Agencja Ochrony Środowiska USA

(USEPA) założyła, że bakterie *Bacillus thuringensis* o toksycznym działaniu na gąsienice

motyli stwarzają zagrożenie dla wszystkich gatunków z rzędu Lepidoptera, chociaż nie oczekuje się ich istotnej ekspozycji na działanie toksyny w agrocenozach. Dodatkowe informacje o działaniu toksyn Bt na gąsienice gatunków motyli, które nie są celem działania preparatów Bt czerpano z wieloletnich obserwacji nad powszechnym stosowaniem mikrobiologicznych preparatów owadobójczych, zawierających szczepy Bt *kurstaki* w zwalczaniu brudnicy nieparki (*Lymantria dispar* L.), powszechnie występującego szkodnika powodującego gołozery w lasach Ameryki Północnej (gatunek inwazyjny przeniesiony z Europy). Obserwowano zwiększoną śmiertelność pewnych gatunków niedocelowych z rzędu Lepidoptera w wyniku stosowania preparatów zawierających Bt (MILLER 1990, JOHNSON i współaut. 1995). Jednak gatunki, których larwy żerują w ukryciu w różnych częściach roślin, unikały ekspozycji na działanie toksyny. Preparat bakteryjny nie docierał do tych miejsc (NOVON 1993, WAGNER i współaut. 1996). Wskazuje to na znaczenie bezpośredniej ekspozycji owadów na działanie toksyny w wyniku żerowania. Ponieważ tylko gatunki motyli odżywiające się tkankami kukurydzy (tj. pierwotne i wtórne gatunki szkodników) są wystawione na działanie toksyny Bt wytwarzanej przez rośliny kukurydzy, można oczekiwać tylko niewielkiego wpływu na gatunki niedocelowe motyli.

Jest to wynikiem ich zachowania związanego z żerowaniem, unikającego ekspozycji na toksyczne białko znajdujące się w tkankach transgenicznych odmian kukurydzy. Agencja USEPA zatwierdziła odmiany kukurydzy Bt do uprawy w USA, biorąc pod uwagę fakt, że tylko gąsienice docelowych gatunków szkodników będą wystawione na działanie toksyn Bt, znajdujących się w tkankach roślinnych.

Założenie to zostało podważone przez doniesienie opublikowane w *Nature* w 1999 r., sugerujące, że pyłek kukurydzy Bt działa szkodliwie na gąsienice monarcha *Danaus plexippus* (L.) (LOSEY i współaut. 1999). Dorosłe motyle monarcha cieszą się powszechnym zainteresowaniem ludzi w Ameryce Północnej, ponieważ są częstymi gośćmi w ogrodach z kwitnącymi kwiatami. Populacje monarcha, które rozwijają się na wschód od Gór Skalistych w USA i Kanadzie, migrują masowo na zimowanie na pniach jodeł *Abies religiosa* (Lindl.) w okolicy Gór Transvolcanic, na zachód od Mexico City. Te długodystansowe migracje są powszechnie znane i są przydatne przy nauczaniu przyrody w szkołach podstawowych. Popularność tego gatunku owada zainspirowała jednego z entomologów do nazwania go „Bambim świata owadów”. Duża część społeczeństwa uważa go za gatunek symboliczny (ang. charismatic) dla USA.

Nie było więc zaskoczeniem, że doniesienie LOSEY'A i współaut. (1999), rozpowszechnione przez media, wywołało powszechne oburzenie w społeczeństwie i dało początek jednej z najbardziej kontrowersyjnych dyskusji. Aby dokładniej wyjaśnić to zjawisko powołano konsorcjum naukowców z różnych ośrodków badawczych w USA w celu przeprowadzenia dokładnych badań nad efektami i ekspresją toksyn Bt dla gatunku monarcha. W skład konsorcjum weszło ośmiu naukowców z uniwersytetów w Stanach Zjednoczonych, jeden z uniwersytetu w Kanadzie oraz dwóch przedstawicieli Agricultural Research Service (ARS) Laboratories (placówek naukowo-badawczych akredytowanych przez rząd Stanów Zjednoczonych). Komitet wykonawczy złożony z naukowców ARS, dwóch uniwersytetów udostępniających pola doświadczalne, oraz organizacje ekonomiczne i ekologiczne nadzorowały działalność i finanse konsorcjum.

BADANIA NAD ODDZIAŁYWANIEM TOKSYN Bt

Doświadczenia z tego zakresu mają na celu wyjaśnienie efektów działania toksyny na dany organizm (ang. effect studies). Zależy ono od rozmieszczenia i stężenia białka w różnych organach roślin. I tak różne odmiany mieszańcowe kukurydzy (hybrydy) charakteryzują się wytwarzaniem określonego białka Bt o różnej ekspresji w poszczególnych tkankach rośliny. Komercyjnie dostępne odmiany kukurydzy Bt w USA obejmują: YieldGard® z ekspresją toksyny Cry 1 Ab

(event Bt 11 i MON 810) i Herculex® (event 1507). Doświadczenia laboratoryjne, w których testowano toksyczne białko wprowadzone do sztucznej diety wykazały, że białko Cry 1 Ab jest szkodliwe dla rozwoju gąsienic monarcha, ale toksyna Cry 1 F nie wykazała negatywnego działania (HELLMICH i współaut. 2001). Jednak inne doświadczenia laboratoryjne z wykorzystaniem pyłku kukurydzy Bt naniesionym na liście trojeści (*Asclepias* sp.), rośliny żywicielskiej larw monarcha nie wy-

kazały niekorzystnego wpływu na przyrost masy ciała i ich śmiertelność. Liście pokryte pyłkiem w ilości ponad 1000 ziaren/cm² liści, a gąsienice żerowały przez 3–5 dni (HELLMICH i współaut. 2001).

Badania polowe potwierdziły wyniki testów laboratoryjnych. Larwy monarcha żerujące na liściach trojeści pokrytych dawką pyłku, który opada na nie w warunkach polowych w łanie odmian kukurydzy z cechą Bt 11 i MON 810, nie wykazały ostrych objawów chorobowych (STANLEY-HORN i współaut. 2001). Brak negatywnego działania pyłku tych mieszańców kukurydzy wynikał z niskiej zawartości białka Bt w ich pyłku. To odmiana kukurydzy z cechą Bt 176, badana przez LOSEY'A i współaut. (1999), była pierw-

szą odmianą transgeniczną kukurydzy z ekspresją wysokiej zawartości białka Cry 1 Ab w pyłku.

Ponieważ młode larwy drugiego pokolenia omacnicy prosowianki i innych gatunków motyli żerują na pylnikach hodowcy uważali, że ta wysoka ekspresja będzie cechą korzystną w ochronie kukurydzy przed szkodnikami. Odmiana z cechą Bt 176 zajmowała jednak tylko 2% ogólnej powierzchni upraw odmian transgenicznych kukurydzy w USA i obecnie została wycofana z rejestru odmian. Niemniej niekorzystne oddziaływania pyłku tej odmiany na larwy monarcha obserwowano już dla dawek, które występują w warunkach naturalnych w łanie kukurydzy (ok. 10 ziaren/cm² liści) (HELLMICH i współaut. 2001).

BADANIA NAD EKSPRESJĄ

Badania z tego zakresu miały na celu wyjaśnienie następujących zależności: (i) znaczenia roślin trojeści jako rośliny żywicielskiej dla gąsienic monarcha w agrocenozach i naturalnych biocenozach; (ii) nakładania się okresu rozwoju larw monarcha na okres pylenia kukurydzy i (iii) charakterystyki dystrybucji pyłku w otoczeniu uprawy kukurydzy. Należy pamiętać, że motyle monarcha składają jaja wyłącznie na roślinach z rodziny *Asclepiadaceae*. Oficjalny spis gatunków roślin przeprowadzony w północnych regionach środkowo-zachodnich stanów USA wykazał, że trojeść, szczególnie gatunek trojeści amerykańskiej (pospolitej) (*Asclepias syriaca* L.), występuje wyłącznie na nieużytkach i wokół pól uprawnych (HARTZLER i BUHLER 2000). Zagęszczenie roślin trojeści z reguły jest wysokie na obrzeżach terenów uprawnych, szczególnie wzdłuż brzegów pól, a nie na polach kukurydzy czy soi. Pomimo tego znaczną część populacji larw monarcha znajdowano wewnątrz i wokół pól kukurydzy, ze względu na przeważający udział upraw kukurydzy w ogólnym areale upraw polowych (OBERHAUSER i współaut. 2001). Na przykład w stanie Iowa określono, że ponad połowa populacji larw monarcha rozwija się na trojeści rosnącej wewnątrz i wokół pól kukurydzy, która zajmuje 36%, w ogólnym areale 89% zajęтым pod uprawę (SEARS i współaut. 2001).

Okres pylenia kukurydzy w środkowo-zachodnich stanach USA przypada głównie na 1–2 tygodnie w lipcu. Na tych obszarach monarcha rozwija dwa pokolenia. Składanie

jaj 1-go pokolenia przypada głównie na maj i nie nakłada się na okres pylenia kukurydzy. Składanie jaj 2-go pokolenia ma miejsce w lipcu i sierpniu, co częściowo zbiega się z pyleniem kukurydzy, w zależności od wysokości położenia terenu. Badania fenologiczne, biorące pod uwagę sumy temperatur efektywnych dla rozwoju obu gatunków wykazały, że nakładanie się okresu rozwoju larw monarcha i pylenia kukurydzy ma większe znaczenie na terenach północnych, niż na południowym obszarze terytorialnego rozwoju monarcha. Pylenie kukurydzy w regionach południowych następuje wcześniej niż na wyżej położonych terenach północnych. Procentowe nakładanie się tych okresów waha się od 5–10% na południu stanu Iowa do ok. 50–60% na terenach południowych Minnesoty (OBERHAUSER i współaut. 2001, DIVELY i współaut. 2004).

Trzecia grupa badań dotyczyła określenia charakterystyki depozycji pyłku na roślinach trojeści rosnących wewnątrz i poza polem uprawy kukurydzy. Wyniki kilku niezależnych badań wykazały, że osadzanie się pyłku było najwyższe (średnio 171 ziaren/cm²) wewnątrz pól kukurydzy i systematycznie spadało, aż do 14 ziaren/cm² w odległości 2 m od brzegów uprawy (PLEASANTS i współaut. 2001). Larwy monarcha nie mają więc szansy pobierać wysokich dawek pyłku poza polem upraw kukurydzy Bt, a tylko wyjątkowo mogą zjadać ponad 1000 ziaren/cm² pyłku osiadłego na liściach trojeści rosnącej wewnątrz pola.

OCENA RYZYKA

W oficjalnej ocenie ryzyka oddziaływania upraw odmian kukurydzy Bt na populację monarcha naukowcy wszechstronnie dokonali analizy danych odnośnie konkretnych efektów i prawdopodobieństwa ekspozycji. Określone ryzyko uprawy odmian Bt uznano za nieistotne, nie mające praktycznego znaczenia, ponieważ prawdopodobieństwo ekspozycji larw monarcha na pyłek kukurydzy Bt jest niskie. Do tego toksyczność bezpośrednia pyłku wytwarzanego przez obecne komercyjne odmiany kukurydzy Bt jest niewielka (SEARS i współaut. 2001). Jednak aby

wyeliminować wszelkie niepewności, dokonano również analizy długotrwałego oddziaływania pyłku Bt na populację monarcha. W tym celu prowadzono obserwacje nad wpływem pyłku Bt na rozwój gąsienic monarcha przez cały okres ich rozwoju. W badaniach tych stwierdzono pewne negatywne wpływy na rozwój gąsienic, jednak dokładniejsza analiza ekspresji potwierdziła, że ryzyko jest niewielkie (DIVELY i współaut. 2004). Wracając do poprzedniej analogii z aspiryną, ekspresja nigdy nie była na tyle istotna, aby być niebezpieczną dla populacji monarcha.

ODDZIAŁYWANIA NA ŚRODOWISKO I PRZYSZŁOŚĆ UPRAW GM

Rośliny zmodyfikowane genetycznie są uprawiane od ponad 10 lat, stąd badania nad określeniem ich oddziaływania na ekosystemy są stosunkowo nowe. Pomimo tego uzyskane do tej pory dane wskazują, że uprawa odmian GM mających cechę tolerancji na szkodniki bardziej uwzględnia ochronę środowiska, niż stosowanie insektycydów o szerokim spektrum działania przeciwko szkodnikom. Jest to szczególnie wyraźne w przypadku odmian GM bawełny i kukurydzy. Należy podkreślić fakt wprowadzenia genu Bt warunkującego syntezę białka Cry 3Aa, toksycznego dla groźnego szkodnika kukurydzy jakim jest zachodnia korzeniowa stonka kukurydziana (*Diatraea virgifera virgifera* [LeConte]). To przeciwko temu gatunkowi stosowano w nadmiernych ilościach syntetyczne pestycydy doglebowe (np. DDT, HCH, aldrynę, dieldrynę), powodując nieodwracalne zmiany w agrocenozach. Obecnie jest to nowy gatunek inwazyjny atakujący uprawy kukurydzy na południu Europy, ale już notowany w południowych regionach Polski i Niemiec.

Spadek ilości stosowanych insektycydów na uprawach odmian Bt ma korzystny wpływ na bioróżnorodność, zredukował on także ryzyko zatrucia ludzi w czasie przygotowywania do zabiegu i stosowania chemicznych środków ochrony roślin.

Ostatnie opracowania BROOKES'A i BARFOOT'A (2005) wskazują, że globalna redukcja stosowania insektycydów w wyniku wprowadzenia do uprawy odmian GM wyniosła 172 mln kg. Określili oni, że spadek ten równa się 14% całości oddzia-

ływania pestycydów na środowisko. Jeżeli dodamy do tego korzyści wynikające z uprawy odmian tolerujących herbicydy, to autorzy porównali oszczędności w wyniku wykorzystania biotechnologii, wyrażone w spadku wydzielania gazów cieplarnianych równym wyeliminowaniu 5 mln samochodów z użycia. Dane te wskazują, że wykorzystanie metod biotechnologicznych w rolnictwie jest właściwe i pożądane. Jednocześnie istnieje potrzeba określenia warunków i potrzeb tak, aby rozwój biotechnologii odbywał się we właściwym kierunku i spełniał oczekiwania producentów i społeczeństwa.

Jednym ze zjawisk budzących kontrowersje jest problem nabywania przez szkodniki odporności na białko Bt, w przypadku żerowania na roślinach uprawianych na szeroką skalę, w której cała populacja szkodnika jest wystawiona na silny czynnik selekcji. Zjawisko to często występuje w warunkach intensywnego stosowania chemicznych środków ochrony roślin na masowo występujące gatunki agrofagów i ma długą historię. Wycofanie się lub utrata zaufania przez część farmerów i mniejsze wykorzystanie biotechnologii musi wpłynąć na stan agrocenoz w przypadku powrotu do zwalczania szkodników przy pomocy pestycydów o szerokim spektrum działania. W USA opracowano strategię opóźniającą powstawanie populacji szkodników przełamujących mechanizmy odporności uzyskanej w klasycznej hodowli odpornościowej (GOULD 1998). Obecnie zalecana strategia przeciwdziałania przełamania tolerancji roślin GM na szkod-

niki opiera się na zapewnieniu wysokiej ekspresji toksycznego białka w tkankach kukurydzy i bawełny Bt, na których żerują szkodniki. Wysoka dawka białka w pokarmie gąsienic powinna działać na znaczną część populacji szkodnika. Drugim warunkiem tej strategii jest zapewnienie odpowiedniego procentu areалу uprawy konwencjonalnej odmiany danej rośliny bez modyfikacji genetycznych, będących refugiami, eliminujących istnienie czynnika selekcji (TABASHNIK i CROFT 1982, GOULD 1986). Zalecenia takie odnośnie lokalizacji i wielkości tych refugium dla każdej uprawy GM w danym regionie w świecie powinny opierać się na znajomości biologii szkodników i lokalnych systemów upraw rolnych.

Odmiany bawełny Bt okazały się tak skuteczne w zwalczaniu gąsienic *Pectinophora gossypiella*, głównego gatunku szkodnika bawełny z rzędu Lepidoptera, że prawie całkowicie wyeliminowały masowe pojawy ich populacji na znacznych obszarach (CARRIÈRE i współaut. 2003). Jednak wyeliminowanie głównego gatunku szkodnika w ekosystemie bawełny bez wątplenia wpłynie na populacje innych gatunków agrofagów w tym systemie uprawy. Z jednej strony zmniejszenie intensywności stosowania insektycydów pozwoli na wzrost populacji wrogów naturalnych, które zapewnią kontrolę populacji gatunków szkodników wtórnych. Z drugiej strony, mogą zaistnieć sytuacje, w których dynamika populacji gatunków szkodników wtórnych nie zostanie ograniczona przez wrogów naturalnych i staną się one szkodnikami o znaczeniu ekonomicznym, jak np. mączlik *Bemisia tabaci* czy gatunki pluskwiaków z rodzaju *Lygus* spp. w Arizonie. Równocześnie, ograniczenie rozwoju populacji głównych gatunków szkodników na znacznym obszarze (ng. area-wide suppression) jak: *Heliothis zea* Boddie (również *Heliothis armigera* [Hb.], *Spodoptera exigua* (Hb.) lub *Spodoptera frugiperda* (J.E.S.) zmniejszy ekonomiczne znaczenie tych szkodników na innych uprawach. Ochrona pożytecznych owadów w uprawach Bt może również spowodować wzrost populacji tych pożytecznych gatunków na poziomie krajobrazu. Należy jednak mieć na uwadze, że uprawa odmian GM może spowodować wiele zmian w powiązaniach troficznych, które będą oddziaływały pozytywnie lub negatywnie przy opracowywaniu programów ochrony roślin przed

szkodnikami. Bez wątplenia entomologów czeka wiele wyzwań, aby odpowiedzieć na te pytania.

Nie ma wątpliwości, że będą w przyszłości powstawać nowe typy roślin GM i każdy z nich będzie musiał zostać poddany skrupulatnej ocenie odnośnie potencjalnego zagrożenia dla środowiska. Już w tej chwili pracuje się nad włączeniem takich cech jak: polepszona wartość odżywcza dla ludzi czy cechy włókna. W pracach nad tolerancją roślin uprawnych na szkodniki zostaną zidentyfikowane nowe proteiny o właściwościach owadobójczych i albo zostaną dodane (efekt piramidyn) do istniejących białek toksycznych dla Lepidoptera i Coleoptera lub też je zastąpią jako bardziej efektywne. Problemem nadal pozostaje ochrona roślin przed owadami o aparacie kłująco-ssącym, ponieważ wiele gatunków pluskwiaków równoskrzydłych (Homoptera) jak mączliki i mszyce lub pluskwiaki różnoskrzydłe (Heteroptera) jest ważnymi szkodnikami wielu gatunków roślin uprawnych. Odmiany GM posiadające cechy tolerancji na te grupy owadów bez wątplenia zmniejszą koszty środowiskowe wynikające ze stosowania pestycydów o szerokim spektrum działania.

Jednocześnie należy sobie zdawać sprawę, że naukowiec nigdy nie może wykluczyć pewnych niepewności związanych z nowymi technologiami czy produktami. Jeżeli jednak decyzje podejmowane są na podstawie danych naukowych, to margines ryzyka będzie bardziej zrozumiały dla społeczeństwa, które może zaakceptować decyzję o podjęciu tego ryzyka, na podstawie zebranych solidnych faktów. Przedstawiony przykład motyla monarcha i pyłku kukurydzy Bt najlepiej obrazuje, że wiedza uzyskana w wyniku żmudnych badań naukowych może przeważać nawet w sytuacji, w której dany problem był szeroko znany w społeczeństwie i wysoce kontrowersyjny.

PODZIĘKOWANIA

Wymienianie produktów o zastrzeżonym znaku towarowym nie stanowi poparcia lub rekomendacji jego użycia przez Ministerstwo Rolnictwa Stanów Zjednoczonych lub Uniwersytet Stanowy Iowa.

Autorzy dziękują Michaelowi J. Weissowi i Jarradowi R. Prasifce za cenne uwagi oraz Zbigniewowi T. Dąbrowskiemu za wykonanie polskiego tłumaczenia.

OPPORTUNITIES AND CHALLENGES CONNECTED WITH CROPS GENETICALLY ENGINEERED FOR RESISTANCE TOWARDS INSECT PESTS

Summary

Maize and cotton genetically engineered for insect resistance have been commercially available in the United States for more than a decade. These crops have revolutionized pest control as broad-spectrum insecticides have been replaced with environmentally friendly protein toxins that are produced by the plants. These crops have been popular with most growers in the U.S. because they provide economic advantages and reduce the reliance on chemical insecticides. Prior to commercialization these crops underwent a comprehensive and rigorous

evaluation by three U.S. government agencies to demonstrate their safety to the environment and human and animal health. This article focuses on non-target risk assessment of genetically-engineered cotton and maize. By outlining the principles of risk assessment, exploring ecosystem effects of Bt cotton, presenting a case study of risk assessment using the monarch butterfly and Bt-maize pollen, and considering possible environmental impacts of current GE crops.

LITERATURA

- ADAMCZYK J. J., ADAMS L. C., HARDEE D. D., 2001. *Field Efficacy and Seasonal Expression Profiles for Terminal Leaves of Single and Double Bacillus thuringiensis Toxin Cotton Genotypes*. J. Econ. Entomol. 94, 1589-1593.
- BROOKES G., BARFOOT P., 2005. *GM crops: The global economic and environmental impact – the first nine years 1996-2004*. AgBioForum 8(2 and 3), 187-196. Dostępne na World Wide Web: <http://www.agbioforum.org/v8n23/v8n23a15-brookes.htm>
- CARRIÈRE, Y., ELLERS-KIRK C., SISTERTON M., ANTILA L., WHOTLOW M., DENNEHY T. J., TABASHNIK B. E., 2003. *Long-term regional suppression of pink bollworm by Bacillus thuringiensis cotton*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100, 1519-1523.
- DIVELY G. P., ROSE R., SEARS M. K., HELLMICH R. L., STANLEY-HORN D. E., RUSSO J. M., CALVIN D. D., ANDERSON P. L., 2004. *Effects on monarch butterfly larvae (Lepidoptera: Danaidae) after continuous exposure to Cry1Ab-expressing corn during anthesis*. Environ. Entomol. 33, 1116-1125.
- GOULD F., 1986. *Simulation models for predicting durability of insect-resistant germplasm: A deterministic diploid, two-locus model*. Environ. Entomol. 15, 1-10.
- GOULD F., 1998. *Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology*. Ann. Rev. Entomol. 43, 701-726.
- HARTZLER R. G., BUHLER D. D., 2000. *Occurrence of common milkweed in cropland and adjacent areas in Iowa*. Crop Protect. 19, 363-366.
- HEAD G., MOARW., EUBANKS M., FREEMAN B., RUBERSON J., HAGERTYA., TURNIPSEED S., 2005. *A multi-year, large scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields*. Environ. Entomol. 34, 1257-1266.
- HELLMICH R. L., SIEGFRIED B. D., SEARS M. K., STANLEY-HORN D. E., MATILLA H. R., SPENCER T., BIDNE K. G., DANIELS M. J., LEWIS L. C., 2001. *Monarch larvae sensitivity to Bacillus thuringiensis purified proteins and pollen*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98, 11925-11930.
- HUESING J., ENGLISH L., 2004. *The impact of Bt crops on the developing world*. AgBioForum 7(1 and 2), 84-95. Dostępne na World Wide Web: <http://www.agbioforum.org/v7n12/v7n12a16-huesing.htm>
- JOHNSON K. S., SCRIBER J. M., NITAO J. K., SMITLEY D. R., 1995. *Toxicity of Bacillus thuringiensis var. kurstaki to three nontarget Lepidoptera in field studies*. Environ. Entomol. 24, 288-297.
- LAWRENCE L., WHITEHOUSE M., WILSON L., FITT G., 2005. *Comparing Invertebrate Communities in Transgenic Bt and Conventional Cotton*. Outlooks on Pest Management 16, 196-198.
- LOSEY J. E., RAYOR L. S., CARTER M. E., 1999. *Transgenic pollen harms monarch larvae*. Nature 399, 214.
- MILLER J. C., 1990. *Field assessment of the effects of a microbial pest control agent on nontarget Lepidoptera*. Am. Entomol. 36, 135-139.
- NARANJO S. E., 2005a. *Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the abundance of non-target arthropod natural enemies*. Environ. Entomol. 34, 1193-1210.
- NARANJO S. E., 2005b. *Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the function of the natural enemy community*. Environ. Entomol. 34, 1211-1223.
- NARANJO S. E., HEAD G., DIVELY G. P., 2005. *Field studies assessing arthropod non-target effects in Bt transgenic crops: Introduction*. Environ. Entomol. 34, 1178-1180.
- NAVON A., 1993. *Control of lepidopteran pests with Bacillus thuringiensis*. [W:] *Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice*. ENTWISTLE P. E., CORY J. S., BAILEY M. J., HIGGS S. (red.). Wiley, New York, 125-146.
- OBERHAUSER K. S., PRYSBY M., MATILLA H. R., STANLEY-HORN D. E., SEARS M. K., DIVELY G. P., OLSON E., PLEASANTS J. M., LAM W.-K. F., HELLMICH R. L., 2001. *Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98, 11913-11918.
- PLEASANTS J. M., HELLMICH R. L., DIVELY G. P., SEARS M. K., STANLEY-HORN D. E., MATILLA H. R., FOSTER J. E., CLARK P. L., JONES G. D., 2001. *Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98, 11919-11924.
- PRAY C. E., HUANG J. K., HU R. F., ROZELLE S., 2002. *Five years of Bt cotton in China - The benefits continue*. Plant J. 31, 423-430.
- SEARS M. K., HELLMICH R. L., SIEGFRIED B. D., PLEASANTS J., STANLEY-HORN D. E., OBERHAUSER K. S., DIVELY G. P., 2001. *Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98, 11937-11942.
- STANLEY-HORN D. E., DIVELY G. P., HELLMICH R. L., MATILLA H. R., SEARS M. K., ROSE R., JESSE L. C. H., LOSEY J. E., OBRYCKI J. J., LEWIS L. C., 2001. *Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98, 11931-11936.

- TABASHNIK B. E., CROFT B. A., 1982. *Managing pesticide resistance in crop-arthropod complexes: Interactions between biological and operational factors*. Environ. Entomol. 11, 1137-1134.
- USNAS (U.S. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES), 2002. *Environmental Effects of Transgenic Plants: The Scope and Adequacy of Regulation*. National Academy of Sciences, Committee on Environmental Impacts Associated with Commercialisation of Transgenic Plants, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Sciences, National Research Council.
- USEPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY), 1996. *Microbial Pesticide Test Guidelines: OPPTS 850.0001 Overview for Microbial Pest Control Agents*. EPA 712-C-96-280, February 1996. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency. Dostępne na World Wide Web: http://www.epa.gov/opptsfrs/OPPTS_Harmonized/885_Microbial_Pesticide_Test_Guidelines/Series/885-0001.pdf
- WAGNER D. L., PEACOCK J. W., CARTER J. L., TALLEY S. E., 1996. *Field assessment of Bacillus thuringiensis on nontarget Lepidoptera*. Environ. Entomol. 25, 1444-1454.