



# VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

<b>Klasifikace:</b> Draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Finální dokument	<input type="checkbox"/> <i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/> <i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

## Oblasti potenciálních rizik geneticky modifikovaných plodin

Poznámka:

VVF-07-02  
Zpracovatel: RNDr. Jana Řepková, CSc. (PřF MU)

## Obsah

Abstrakt.....	3
1. Úvod.....	4
2. Předpoklady pro posuzování bezpečnosti GM rostlin.....	5
2.1. Základní ekvivalent.....	5
2.2. Pravidla pro stanovení bezpečnosti potravin.....	7
2.3. Zkušenosti s odhadem rizik GM plodin.....	10
2.3.1. Vyhodnocení bezpečnosti nově exprimovaných proteinů.....	10
2.3.2. Vyhodnocení bezpečnosti konzumace celých rostlin.....	11
3. Jednotlivé oblasti rizik GM rostlin.....	12
3.1. Rezistence k antibiotikům.....	12
3.2. Bezpečnost transgenů kódujících toxické proteiny.....	14
3.2.1. Herbicidy.....	14
3.2.2. Bakteriální endotoxin.....	14
3.3. Bezpečnost transgenů pro rezistenci k virům.....	15
3.4. Rizika alergenních reakcí k proteinům.....	15
3.5. Vedlejší účinky GM rostlin.....	16
3.6. Transgeny v přírodním prostředí.....	17
4. Metody testování GM potravin.....	18
5. Literatura.....	19

## Přehled použitých zkratk

GM	genetické modifikace
GMO	geneticky modifikované organizmy
npt	neomycin fosfotransferáza
hpt	hygromycin fosfotransferáza
T-DNA	<i>transferred</i> DNA
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
PCR	polymerázová řetězová reakce
RT	reverzní transkriptáza

## Abstrakt

Nově vytvářené geneticky modifikované rostliny s cizími geny ve svých genomech produkují nové látky a je potřebné znát jejich potenciální biologická, environmentální, potravinářská a zdravotní rizika. Veškeré využívání geneticky modifikovaných rostlin v České republice musí být v souladu se zákonem 153/2000 Sb. zákonů České republiky „O nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty“. Sledování rizik a jejich vyhodnocování prošlo v celosvětovém měřítku vývojem a postupně byly získávány zkušenosti s pěstováním geneticky modifikovaných rostlin a s jejich praktickým využíváním i jako složek potravin k výživě člověka. Právě v této oblasti narůstají nároky na bezpečnost a vyloučení jakýchkoliv rizik geneticky modifikovaných rostlin během pěstování i dalšího využívání. Postupně byly vypracovány směrnice pro hodnocení bezpečnosti geneticky modifikovaných plodin, které získaly mezi odborníky široký mezinárodní konsenzus.

K odhadům rizik geneticky modifikovaných plodin patří vyhodnocení bezpečnosti nově exprimovaných proteinů, což znamená především studium toxicity těchto proteinů, a bezpečnosti při konzumaci celých rostlin, jestliže jsou určeny pro potravinářské účely. K dalším oblastem potenciálních rizik patří rezistence k antibiotikům, bezpečnost virových proteinů a možnost alergenních reakcí vůči proteinům geneticky modifikovaných rostlin.

## 1. Úvod

Geneticky modifikované (GM) nebo-li transgenní rostliny jsou rostliny, do jejichž genetického základu byl vnesen jeden nebo více genů z nepříbuzných organismů metodami molekulární biologie. Genetické modifikace jsou tedy definovány jako přímé a cílené zásahy do dědičného materiálu organismů, čímž rozumíme DNA (Ondřej et al., 1999).

Genové inženýrství, které je základem transgenozy, se začalo rozvíjet na počátku 70. let. Zahrnuje metody umožňující rekombinaci DNA u druhů, které nejsou vůbec příbuzné. Vytvářejí se tak organismy s novými kombinacemi znaků; u rostlin je zájem zaměřen především na znaky s praktickým využitím v zemědělství, lékařství nebo farmacii. Klasické metody šlechtění rostlin umožňují využití genů pouze v rámci dostupného genofondu křížitelného druhu.

Cizí geny začaly být do genomů rostlin začleňovány v polovině 80. let. V průběhu přibližně 20ti let byla nashromážděna řada poznatků genového inženýrství významných z hlediska transformačního procesu i jeho aplikace ve šlechtitelských programech.

V současné době jsou již pěstovány a prakticky využívány geneticky modifikované odrůdy tzv. 1. generace s introdukovanými znaky rezistence k herbicidům (kukuřice, sója, bavlník, cukrová řepa, řepka olejná), rezistence k hmyzím škůdcům (rajče, kukuřice, brambor, bavlník), rezistence k virovým patogenům (brambor, tykev) (<http://www1.oecd.org/ehs/-table.htm>). Dále se vytvářejí nové geneticky modifikované odrůdy 2. generace. U nich je cílem zvýšení kvality, jako je např. zvýšený obsah vitamínu E u řepky olejné, zvýšený obsah beta-karotenu u rýže, vyšší obsah železa, nižší alergenní účinky, bezkofeinové kávové boby, zvýšení rezistence k abiotickým stresům, jako je např. přizpůsobení půdám bohatým na hliník u papáje, dále tvorba rostlin produkujících protilátky, vakcíny a produkty pro farmaceutický průmysl.

Z uvedeného stručného přehledu je zřejmé, že tyto nově vytvářené GM rostliny s cizími geny produkují nové látky a je potřebné znát jejich potenciální biologická, environmentální, potravinářská a zdravotní rizika. Veškeré využívání GM rostlin v podmínkách České republiky musí být v souladu se zákonem 153/2000 Sb. zákonů České republiky "O nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty". Tento zákon je kompatibilní s obdobnými zákony států Evropské unie a ukazuje základní strategii, kterou se řídí státy EU. Sledování rizik a jejich vyhodnocování prošlo vývojem během postupného získávání

zkušeností s pěstováním GM rostlin a s využíváním nových GM odrůd jako složek potravin k výživě člověka. Tím narůstají nároky na bezpečnost a vyloučení jakýchkoliv rizik GM rostlin během jejich pěstování a dalšího využití. To předpokládá poznání funkcí jednotlivých genů použitých při transformaci (transgenů), mechanismů jejich regulace, genové interakce a v neposlední řadě působení produktů genů používaných při genetických modifikacích. To je často možné jen na základě řady experimentů, poznání problému a volby vhodného postupu jeho řešení.

## **2. Předpoklady pro posuzování bezpečnosti GM rostlin**

Brzy po první úspěšné transformaci u rostlin (tabák) IFBC (International Food Biotechnology Council) publikovala r. 1988 první zprávu na téma bezpečnosti nově vytvářených odrůd. Srovnávací přístup použitý v této zprávě položil základy pro pozdější postupy vyhodnocení bezpečnosti GM rostlin. Další organizace, jako je OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), FAO (Food and Agriculture Organization), WHO (World Health Organization) a ILSI (International Life Sciences Institute) se podílely na přípravě směrnic pro hodnocení bezpečnosti GM plodin, které získaly široký mezinárodní konsenzus mezi odborníky zabývajícími se vyhodnocováním bezpečnosti především u potravin, jejichž součástí je GM produkt (Kuiper et al., 2001). Roku 1993 OECD formulovala představu tzv. základního ekvivalentu jako hlavního nástroje pro odhad bezpečnosti GM plodin využívaných jako potraviny, což bylo v následujících letech dále rozpracováno (OECD, 1993a; OECD, 1996; OECD, 1998).

### **2.1. Základní ekvivalent**

Pro určení bezpečnosti GM rostlin vůči prostředí byla koncepce obeznámení se s biologii příslušných druhů doplněna o koncepci tzv. základního ekvivalentu (obr. 1). Ta je založena na principu, že nové rostliny jsou srovnávány s jejich nemodifikovanými protějšky, které jsou dlouhodobě a bez rizik pěstovány a využívány. Cílem je určit, zda nová rostlina znamená nějaké nové nebo zvýšené riziko v porovnání s tradičně pěstovaným protějškem, nebo zda ji lze využít místo jejího tradičního protějšku bez negativního vlivu na prostředí, ve kterém se pěstuje. Aplikace této koncepce porovnání GM s tradičně pěstovaným protějškem vyžaduje vhodné údaje získané z literatury nebo jejich získání pomocí experimentů.

Cílem odhadu rizik GM rostlin vůči přírodnímu prostředí je identifikovat a vyhodnotit rizika spojená s uvolněním a pěstováním těchto rostlin v porovnání s tradičním protějškem,

který má již určitou historii pěstování. Mezi zeměmi, které mají přijaté regulační programy pro odhad rizik GM rostlin vůči prostředí, existují společné bezpečnostní zásady (OECD, 2000). Důležitou roli zde hrají informace o hostitelském a donorovém organismu, zvláště tehdy, jestliže se jedná o druh patogenní nebo toxický vůči prostředí, nebo má jiné znaky, které mohou ovlivnit zdraví člověka. K těmto nezbytným informacím patří:

- 1) molekulární charakteristika a stabilita genetické modifikace,
- 2) možnost přenosu genu do příbuzného organismu,
- 3) možnost přenosu genu do nepříbuzného organismu,
- 4) možnost zplanění,
- 5) sekundární a vedlejší účinky.

Pro stanovení odhadu bezpečnosti GM rostlin k prostředí je nezbytné znát biologii jednotlivých druhů, zemědělské a pěstitelské postupy. Je nezbytné identifikovat vlastnosti, které mohou být ovlivněny novými znaky. To předpokládá následující znalosti:

- 1) taxonomie,
- 2) cílové využití plodiny,
- 3) šlechtitelské postupy, semenářství, agrotechnické postupy,
- 4) biologie reprodukce, způsob opylení, mechanismy šíření pylu a semen, možnosti úniku genů,
- 5) možnost vzniku a životaschopnosti vnitrodruhových, mezidruhových a mezirodových hybridů,
- 6) centra původu a genetické diverzity druhu,
- 7) ploidy plodiny, kompatibilní druhy,
- 8) rozšíření a ekologie příbuzných druhů nebo planých ekotypů, údaje o možnostech zplaňování,
- 9) obvyklé choroby a škůdci,
- 10) možné interakce s jinými organismy, jako jsou opylovači, mykorhizní houby, ptáci, půdní mikroorganismy, půdní hmyz, další živočichové.

**Obr. 1: Koncepce základního ekvivalentu**

#### Koncepce základního ekvivalentu

- Počáteční stav pro odhad bezpečnosti
- Porovnání mezi geneticky modifikovaným organismem a jeho nejbližším tradičně pěstovaným protejškem
- Identifikace rozdílů, na které by měl být zaměřen odhad bezpečnosti

## 2.2. Pravidla pro stanovení bezpečnosti potravin

Odhad bezpečnosti potravin je postaven na principu, že nové (GM) potraviny jsou porovnatelné s existujícími a rizikové faktory (přítomnost nutričních a antinutričních látek, toxinů a možnost alergenního charakteru) jsou stejné pro všechny potraviny bez ohledu na technologii, kterou byly vyprodukovány. Odhad možných rizik se zaměřuje na definici rozdílů mezi novými a existujícími potravinami a na vlivy, které může mít exprese nových genů na existující rizikové faktory.

Existující nabídka potravin rostlinného původu je považována za bezpečnou na základě dlouhodobého užívání, ikdyž je nutno připustit, že mohou obsahovat antinutriční a toxické látky, které mohou mít na člověka i živočichy v určitých koncentracích škodlivé účinky. Koncepce ekvivalentu pomáhá identifikovat možné rozdíly mezi existujícími potravinami získanými klasickými šlechtitelskými postupy a novými produkty, které jsou podrobeny další toxikologické analýze. Předpokládají se tři scénáře, podle kterých by geneticky modifikované rostliny mohly být 1. zcela totožné se základním ekvivalentem, 2. totožné se základním ekvivalentem kromě včleněného znaku a 3. nejsou ekvivalentní. V případě 1. scénáře nejsou nutná další testování, protože produkt byl charakterizován jako ekvivalentní s tradičním protějškem, jehož konzumace je bezpečná z dlouhodobého hlediska (např. škrob brambor). Podle 2. scénáře základní ekvivalent lze použít vyjma včleněného znaku, proto se pozornost zaměří na testování tohoto znaku, např. tvorba insekticidního proteinu geneticky modifikovanými rajčaty. Bezpečnostní testy zahrnou testování na specifickou toxicitu podle charakteru a funkce nově exprimovaného proteinu, na možný výskyt vedlejších účinků, na možný přenos genu z geneticky modifikované potraviny do střevní mikroflory člověka nebo živočichů, na alergenní vlivy nového produktu, je-li součástí potravin (obr. 2). Podle 3. scénáře nová plodina nebo potravina nemůže být ekvivalentní s tradičním protějškem a odhad rizik musí být proveden případ od případu podle charakteru nového produktu.

U rostlin bylo identifikováno několik látek, které mají antikarcinogenní efekt (saponiny, glukosinoláty, isoflavony), pozitivní vliv na osteoporózu (izoflavony) a na kardiovaskulární choroby (flavonoidy), zatímco jiné složky rostlin mohou mít nepříznivé mutagenní a karcinogenní účinky (Essers et al., 1998). Analýzy obsahu různých látek u GM rostlin a jejich výsledky jsou obsahem mnoha diskusí na úrovni národních i mezinárodních setkání zabývajících se problematikou bezpečnosti produktů odvozených od GMO. V tab. 1 jsou přehledně uvedeny využívané GM plodiny a údaje o obsahu některých látek, které byly

analyzovány a výsledky publikovány. Do analýz jsou zahrnuty jak nutriční, tak antinutriční látky.

**Obr. 2: Bezpečnostní hlediska s ohledem na genetické modifikace potravin**

**Bezpečnostní hlediska geneticky modifikovaných potravin**

- Postup genetické modifikace
- Bezpečnost nově exprimovaných proteinů
- Výskyt a důsledky vedlejších účinků
- Přenos genu do střevní mikroflory
- Alergenní charakter nových proteinů
- Úloha nového produktu v potravinách
- Vliv nového produktu na zpracování potravin

ILSI vypracoval první konsenzus dokument týkající se hodnocení bezpečnosti nových potravin (Jonas et al., 1996). Tento dokument je návodem pro získání požadovaných údajů týkajících se nových potravin včetně jednotlivých složek potravin odvozených od GM organismů. Jsou zde zahrnuty údaje týkající se T-DNA, fenotypu, složení nutričních látek, antinutričních látek a toxinů. Pro získání informací o potenciálním alergenním charakteru se posuzuje zdroj transgenu, sekvenční homologie produktu transgenu se známými alergenními proteiny, imunitní reakce produktu transgenu testovaného se séry jedinců, kteří jsou alergenní k různým zdrojům, stabilita produktu transgenu v podmínkách zažívacího traktu nebo v podmínkách tepelného či jiného zpracování.

FAO a WHO organizují pracovní schůzky a konzultace zabývající se bezpečností GMO již od r. 1990. Ve společných dokumentech se shodli na konkrétních parametrech hodnocení: molekulární a fenotypová charakteristika, klíčové nutriční látky, toxické látky a alergeny (FAO/WHO, 1996). Komise při FAO a WHO tzv. Codex Alimentarius Commission se zabývá mezinárodní harmonizací potravinových standardů. Tyto potravinové standardy by měly být přijaty účastnickými vládami. Během 1. zasedání v březnu 2000 (FAO/WHO, 2000a) byly odsouhlaseny definice pojmů „odhad rizika“ a „analýza rizika“ pro GMO. „Odhad rizika“ pokrývá takové pojmy jako je bezpečnost potravin, základní ekvivalent a dlouhodobé zdravotní vlivy, zatímco „analýza rizika“ představuje přijetí rozhodnutí o monitorování v době uvolnění na trh.



Při konzultacích odborníků uskutečněných v Ženevě r. 2000 byly vyhodnoceny zkušenosti shromážděné od r. 1996. Projednávanými tématy byly základní ekvivalent, vedlejší účinky genetických modifikací, bezpečnost nových potravin, nutriční vlastnosti, selektovatelné (markerové) geny pro rezistenci k antibiotikům a alergenní charakter produktů transgenů. Schválili koncepci základního ekvivalentu jako pragmatický přístup pro odhad bezpečnosti GM potravin a závěr, že není k dispozici žádná vhodná alternativní strategie. Stanovení ekvivalentů je výchozí bod pro odhad bezpečnosti prostřednictvím identifikace konkrétních rozdílů mezi GM potravinami a jejich nemodifikovaným protějškem, které by měly být dále analyzovány (FAO/WHO, 2000b). Byl diskutován možný výskyt vedlejších účinků vlivem genetické modifikace, jako je ztráta existujícího znaku nebo získání nového znaku v důsledku rekombinace a genových interakcí. Především u GM rostlin 2. generace by pravděpodobnost vedlejších nežádoucích účinků mohla vzrůstat. Za nezbytné pro získání informací o charakteru nově exprimovaných proteinů jsou považovány testy na zvířatech, které jsou analogické s konvenčními testy toxicity potravinových aditiv.

Konzultace expertů FAO a WHO uskutečněná v Římě 2001 (FAO/WHO, 2001) přijala nové rozhodnutí týkající se hodnocení alergenního charakteru GM rostlin. Jestliže zdroj transgenu kódující nový protein je alergenní, provádí se vyhodnocení sekvenční podobnosti proteinu se známými alergeny a následný skrínig *in vitro* se séry pacientů alergických ke konkrétnímu zdroji alergie. Kritériem pro pozitivní výsledek je sekvenční podobnost (identita) aminokyselin mezi exprimovaným proteinem a alergenem větší než 35% nebo identita šesti po sobě následujících aminokyselin (Kuiper et al., 2001). Jakýkoli pozitivní výsledek definuje produkt jako alergenní a další vývoj se zastavuje. Při negativním výsledku se provádí další skrínig cílového séra, testování exprimovaného proteinu na rezistenci k pepsinu a testování imunogenního charakteru na živočišných modelových druzích. Testování séra *in vitro* se uskutečňuje se séry pacientů alergických k materiálům, které jsou příbuzné se zdrojem, ze kterého je použit příslušný gen.

FAO a WHO společně s IPCS (Internation Program on Chemical Safety) vyvinuly strategii pro vyhodnocení bezpečnosti chemických látek, které mohou být přítomné v potravinách (WHO, 1987; WHO, 1990). Jedná se o potravinová aditiva, rezidua pesticidů a různých veterinárních léčiv nebo potravinových kontaminací. Jde o stanovení denní dávky, která je pro člověka zdravotně nezávadná. Pro většinu toxických účinků lze stanovit prahové hodnoty. Byla provedena celá škála standardizovaných testů na laboratorních zvířatech a studium akutní toxicity chemických látek, genotoxicity, studium karcinogenních účinků,

imunotoxicity, reprodukční a vývojové toxicity. Protokoly těchto studií byly vypracovány OECD (OECD, 1993b).

Existuje obecná shoda v přístupu jednotlivých států na vyhodnocení bezpečnosti potravin vycházející z GM plodin (MacKenzie, 2000). Odpovídají mezinárodnímu konsenzu, avšak existují některé rozdíly mezi jednotlivými zeměmi, Austrálií, Novým Zélandem, Kanadou, EU, Japonskem a USA.

V tzv. Konsensus dokumentech (OECD, 2001a) jsou v přehledu shrnuty informace nezbytné pro žádost o uvolnění GM plodiny do prostředí a pro odhad jejího rizika. Týkají se určitého organismu nebo vlastnosti. Takové podrobné dokumenty byly vypracovány pro rezistenci k virům, pro rod *Bacillus* nebo pro rostlinné druhy *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, *Solanum tuberosum*, *Glycine max* a *Brassica napus* (<http://www1.oecd.org/ehs/cd.htm>). Podobně Canadian Food Inspection Agency publikovala údaje o *B. napus*, *B. rapa*, *Linum usitatissimum*, *Zea mays*, *S. tuberosum*, *Glycine max* a *T. aestivum* (<http://www.inspection.gc.ca/english/toce.shtml>). Tyto dokumenty slouží jako návod, které látky mají být u nově vyvíjených GM rostlin sledovány a analyzovány. V této oblasti je nezbytná mezinárodní standardizace a harmonizace dokumentů.

### **2.3. Zkušenosti s odhadem rizik geneticky modifikovaných plodin**

#### *2.3.1. Vyhodnocení bezpečnosti nově exprimovaných proteinů*

Bakteriální proteiny Bt jsou příkladem proteinů, které byly introdukovány do nových plodin genetickou modifikací. Geny pro Bt proteiny (Cry proteiny) z organismu *Bacillus thuringiensis* byly introdukovány do GM plodin pro jejich insekticidní vlastnosti vůči stádiím larev (Peferoen, 1997). GM rostlina produkuje toxin, který je toxický pro úzké spektrum hmyzu, většinou pro jeden druh. Rostlina vlastně produkuje vlastní insekticid. Mechanismus je založen na specifických receptorech epiteliálních buněk ve střevu hmyzu v citlivém larválním stadiu. Po vazbě s toxinem dochází k lyzi buněk, desintegraci epitelu a smrti larev v důsledku hladovění. Základní nedostatek je ten, že exprimované proteiny charakteru pesticidů, jako jsou Bt toxiny a lektiny, jsou často přítomny v GM rostlinách v koncentracích velmi nízkých pro všechny potřebné analýzy.

V případě proteinů Cry1Ab5 a Cry9C se uskutečnily různé analýzy týkající se vazby na tkáň trávicího traktu hlodavců a primátů, včetně člověka (EPA, 2000a; Noteborn et al., 1995). Podobné receptory nebyly identifikovány ve střevních buňkách savců, ani není známá

homologie aminokyselin se známými proteinovými toxiny a potravinovými alergeny. To vysvětluje absenci toxicity proteinů pro ostatní organizmy.

Řada testů na toxicitu byla provedena s ohledem na stravitelnost a stabilitu v podmínkách *in vitro* simulovanými trávicími tekutinami a na živočišných modelech v podmínkách *in vivo*. Byla provedena řada experimentů s jednorázovými i opakovanými dávkami proteinů Cry1Ab5 a Cry9C na úrovni až 10 000x větší než produkují GM rostliny; ani tyto dávky nebyly toxické pro laboratorní krysy a histopatologická analýza neprokázala vazbu Cry proteinů na střevní epitel hlodavců ani tkáň dalších savců.

Před registrací Bt kukuřice, u které dochází k expresi proteinů toxickým k některým zástupcům hmyzu, EPA iniciovala testování odhadu rizika Bt endotoxinů vůči širokému spektru organismů, včetně ptáků, vodních bezobratlých živočichů, užitečného hmyzu jako je včela medonosná, slunéčko sedmitečné, dále dešťovkám a dalším necílovým a ohrožených organismům. Hlavní zájem se soustředil na motýla *Danaus plexippus* (monarch) a na škodlivé účinky pylu z Bt kukuřice (Shelton, Sears, 2001).

Lze jednoznačně říci, že možná rizika Bt plodin vůči různým organismům jsou široce analyzována a vyhodnocována. Paradoxně menší nebo žádná pozornost se věnuje širokospektrálním insekticidům, které mohou také negativně působit na necílové organizmy a potenciálně představují stejná rizika pro přírodní prostředí i zdraví člověka.

V tab. 2 jsou shrnuty příklady studia toxicity některých proteinů exprimovaných v komerčně využívaných GM plodinách, které slouží jako potravina. Další toxikologické analýze byly podrobeny i jiné produkty transgenů, jako je acetolaktát syntetáza (zdroj transgenu *Arabidopsis thaliana*), thioesteráza (*Umbellularia californica*), deamináza (*Pseudomonas chloroaphis*), barnáza (*Bacillus amyloliquefaciens*), barstar (*B. amyloliquefaciens*),  $\beta$ -glukuronidáza (*Escherichia coli*), bromoxynil nitriláza (*Klebsiella pneumoniae*), plášťové proteiny (viru bramboru Y, viru mozaiky melounu, viru žluté mozaiky cukíny), různé typy endotoxinů (*B. thuringiensis*), enolpyruvátšikimát fosfosyntetáza (*Agrobacterium*), glyfozát oxidoreduktáza (*Ochromobactrum anthropii*), neomycin fosfotransferáza II (*E. coli*) a fosfinitricin acetyltransferáza (*Streptomyces hygroscopicus*, *S. viridochromogenes*).

### 2.3.2. Vyhodnocení bezpečnosti konzumace celých rostlin

Uskutečnily se experimenty s Bt rajčaty, která byla podávána krysám v denní dávce 200 g, což odpovídá denní dávce 13 kg u člověka. Nebyly pozorovány žádné klinické, toxikologické ani histopatologické abnormality (Noteborn, Kuiper, 1994).

Fares a El Sayed (Fares, El Sayed, 1998) sledovali myši krmené po 14 dní čerstvými bramborami ponořenými do suspenze delta-endotoxinu *B. thuringiensis* var. *kurstaki* a tvorbu hyperplastických buněk v dolní části tenkého střeva. Jestliže se živili čerstvými GM bramborami exprimujícími gen *cryI*, zapříčinilo to mírné změny v různých kompartmentech ilea v porovnání s kontrolami živěnými čerstvými geneticky nemodifikovanými bramborami. Výskyt těchto efektů u myši může být způsoben toxickými účinky CryI proteinu.

Pokusy s bramborem a rýží s introdukovaným genem pro glycininy ze sóje, v denní dávce 2 kg brambor a 10 g rýže/kg tělesné váhy po dobu 4 týdnů, neměla u krys za následek žádné patologické ani histopatologické abnormality na játrech nebo ledvinách (Hashimoto et al., 1999a, Hashimoto et al., 1999b, Momma et al., 2000). Experimenty s výživou krys GM brambory obsahujícími GNA lektiny (kódované transgenem introdukovaným z *Galanthus nivalis*), měly za následek změny na střevě (Ewen, Pusztai, 1999). Rostliny s tímto typem genetické modifikace však nebyly určeny k vývoji nových odrůd brambor pro potravinářské účely. Tyto pokusy byly zastaveny.

Další pokusy se uskutečnily s výživou krys a myši tepelně upravenou potravou obsahující GM sóju s genem *cp4-epsps* kódující rezistenci k herbicidu typu glyfosátu po dobu 105 dní. Nebyla pozorována imunologická aktivita, ani se nezvyšovala hladina imunoglobulinů (IgE) v séru testovaných zvířat. Na mukózní sliznici střeva nebyly pozorovány žádné histopatologické změny (Teshima et al., 2000; Gasson, Burke, 2001).

V tab. 3 jsou shrnuty výsledky studií zaměřené na GM plodiny, které slouží jako potravina.

## 3. Zkušenosti s jednotlivými oblastmi rizik

### 3.1. Rezistence k antibiotikům

Ke snadné identifikaci buněk, do kterých byl úspěšně vnesen transgen, se používají geny kódující rezistenci k určitému antibiotiku nebo herbicidu, tzv. selektovatelné (markerové) geny.

Selektovatelným genem je obvykle gen pro rezistenci ke kanamycinu (*nptII*) nebo gen pro rezistenci k hygromycinu (*hpt*), gen s rostlinnými regulačními úseky. Tyto geny kódují

enzymy neomycin fosfotransferázu nebo hygromycin fosfotransferázu, které inaktivují příslušná antibiotika. Vzniká námitka proti používání transgenních rostlin, které obsahují tyto geny. Kanamycin se používá i v lékařství a aktivní enzym NPTII je přítomen v pletivech transgenních rostlin. Enzym ale není toxický. U žádného druhu bakterií, kvasinek, rostlin nebo živočichů se toxicita neprojevila (FAO/WHO, 2000b). Odhad potenciálních rizik selektovatelných genů se zaměřuje na konzumaci potravin nebo krmiva rostlinného původu s příslušnými transgeny člověkem a živočichy. V předběžných testech u pacientů trpících nádorovým onemocněním, u nichž mělo být použito genové terapie, byl protein NPTII aplikován infuzí. Ani tak nebyly zjištěny žádné nepříznivé důsledky, které by svědčily o toxicitě proteinu. Není také jasné, zda by nemohlo požívání transgenních rostlin obsahujících aktivní gen *nptII* působit neúčinnost perorální aplikace kanamycinu. Biotechnologická firma Calgene prováděla pokusy s krmením hlodavců transgenními rajčaty s exprimovaným genem *nptII*. Nebyly při nich zjištěny žádné nepříznivé vlivy. Při inaktivaci kanamycinu je nezbytný zdroj energie adenosintrifosfát, ale ten je v trávicím traktu přítomen jen v nedostatečném množství. V trávicím traktu je protein NPTII rychle rozštěpen (Drobník et al., 1997).

Také se objevuje obava z možnosti přenosu genu pro rezistenci ke kanamycinu do genomu bakterií v trávicím traktu a vzniknout tak kmeny rezistentní ke kanamycinu. Člověk však běžně konzumuje ve své potravě množství bakterií rezistentních na kanamycin. Kromě toho většina střevních bakterií se vyskytuje až v tračníku, zatímco většina DNA je rozložena již v žaludku nebo v tenkém střevě. Ve společných dokumentech FAO a WHO (FAO/WHO, 1996) byly formulovány závěr, že horizontální přenos těchto genů je nepravděpodobný.

K další obavě spíše z řad laické veřejnosti patří obava z rozšíření genu *nptII* v přírodních společenstvech bakterií v důsledku nepředvídatelných rekombinací mezi bakteriemi a rostlinným genomem. Existence nepředvídaných rekombinací mezi bakteriálním a rostlinným genomem nebyla nikdy dokázána. Určité pokusy se uskutečnily v laboratorních podmínkách (Nielsen et al., 1997). Závěrem těchto experimentů byl důkaz, že gen kódující rezistenci k antibiotiku lze introdukovat z rostlinného do bakteriálního genomu jen v případě, že v bakteriálním genomu existují identické sekvence. Kromě toho bylo dokázáno, že bakterie rezistentní ke kanamycinu jsou všeobecně přítomné v populacích půdních bakterií. Přitom se geny pro rezistenci ke kanamycinu a další geny volně vyměňují mezi různými bakteriálními kmeny přirozenou konjugací bakterií (Drobník et al., 1997).

Dalšími selektovatelnými geny, které jsou přítomny v komerčních GM plodinách, jsou geny kódující rezistenci k herbicidům *bar* a *pat* (z organizmů *Streptomyces hygroscopicus* a *S. viridochromogenes*), *gox* (*Achromobacter*), *bxn* (*Klebsiella pneumoniae*), *als* (*Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum*, *Brassica napus*) a gen *bla* kódující rezistenci k penicilinu a ampicilinu (*Escherichia coli*).

V současné době převládá snaha využívat jiné markerové geny než ty, které kódují rezistenci k antibiotikům.

### **3.2. Bezpečnost transgenů kódujících toxické proteiny**

#### *3.2.1. Herbicidy*

Transgenní rostliny tolerantní k herbicidům umožňují nahrazení klasických herbicidů typy, které se v půdě rychleji odbourávají a jsou šetrnější k životnímu prostředí. Jako transgeny jsou využívány geny pro enzym EPSP (enolpyruvátšikimát fosfosyntetáza) bakteriálního (*Agrobacterium*) nebo rostlinného původu (*Zea mays*, *Petunia hybrida*, *Arabidopsis thaliana*).

Potenciální rizika produktů těchto genů pro člověka shrnuli Ondřej et al. (1998):

- 1) toxické nebo alergenní působení proteinu, který je kódován transgenem,
- 2) možné toxické (teratogenní, karcinogenní) účinky herbicidů a jejich metabolitů,
- 3) možné toxické (teratogenní, karcinogenní) účinky dalších látek, které mohou být produkovány jako vedlejší produkty aktivity enzymu kódovaného transgenem.

Toxické, alergenní a karcinogenní účinky herbicidů používaných v souvislosti s transgenními odrůdami i jejich hlavních metabolitů byly četnými studiemi vyloučeny. Takovéto studie jsou povinnou součástí registračního řízení herbicidů.

Transgeny pro toleranci k herbicidům se využívají jednak samostatně a jednak jako součást systémů produkce heterózního osiva. Tyto systémy zahrnují také transgeny pro pylovou sterilitu. Takovéto transgeny kódují proteiny, které jsou pro rostlinné buňky toxické.

#### *3.2.2. Bakteriální endotoxin*

Rozsáhlé pokusy s testováním rizik toxických produktů příslušných transgenů z *B. thuringiensis* se uskutečnily u rajčete, kukuřice, bramboru a bavlníku (viz. kap. 2.3.2.). Hlavní pozornost se věnuje kukuřici s expresí proteinu Cry1A(c), která se pěstuje na velkých plochách. Možným problémem může být škodlivost jejího pylu, proto je snaha zavádět odrůdy s pylovou rezistencí. Další intenzivně sledovanou plodinou je Bt bavlník Bollgard

existující na trhu 6 let. V USA tvoří 1/3 z celkové plochy bavlníku. Je rezistentní k obaleči a tento typ rezistence je efektivnější než chemické insekticidy. Odpovídající protein Cry1A(c) je neškodný pro člověka, ryby i některý užitečný hmyz.

### 3.3. Bezpečnost transgenů pro rezistenci k virům

V současné době je známo asi 600 typů rostlinných virů a z nich 250 působí vážnější onemocnění u rostlin (Ondřej et al., 1999). Přestože jsou potlačována, způsobují asi 15% ztráty sklizně. Z hlediska genového inženýrství se u rostlin využívají především kaulimoviry. Při konstrukci transgenů se obvykle využívají dva typy virových sekvencí. Jsou to jednak sekvence virových promotorů, které řídí expresi genů. U GM rostlin se nejčastěji využívá promotor 35S viru žilkové mozaiky květáku (CaMV, cauliflower mosaic virus). Druhým typem sekvencí jsou geny pro plášťový protein. Expresí integrovaného genu pro plášťový protein chrání rostlinné protoplasty i celou rostlinu před virovou infekcí.

Zdravotní nezávadnost virů přítomných v rostlinách není zatím prokázána, ale je velmi nepravděpodobná. Rostliny napadené virem jsou sice více citlivé k bakteriálním a houbovým infekcím, z nichž některé jsou zdrojem karcinogenních látek (např. aflatoxin *Aspergillus flavus*), avšak samotná transgenóza je nečiní více nebezpečnými, než jsou rostliny netransgenní. Toxikologická studia virových plášťových proteinů exprimovaných v komerčních plodinách byla provedena pro virus bramboru Y, virus mozaiky melounu a virus žluté mozaiky cukíny (viz. kap. 2.3.1., Health Canada, 2001).

Předpokládaná rizika transgenních rostlin s genem pro plášťový protein jsou transenkapsidace a rekombinace, ale obojí vzniká při napadení rostlin dvěma typy virů současně i nezávisle na transgenozí. Transenkapsidace je využití plášťového proteinu jiným typem virové nukleové kyseliny, než je tomuto plášťovému proteinu vlastní. Pod rekombinací se rozumí rekombinace nukleových kyselin dvou různých virů (Ondřej et al., 1999). Je známo, že k rekombinaci virů v přírodě dochází. V případě využití geneticky modifikovaných transgenů pocházejících z virového genomu je nutné experimentálně ověřovat důsledky takovýchto rekombinací případ od případu.

### 3.4. Rizika alergenních reakcí k proteinům

Některé potraviny obsahují alergeny, především bílkovinného charakteru. Celosvětově existuje v lidské populaci asi 1 až 2% dospělých a 6 až 8% dětí, kteří jsou alergičtí na některé potravní alergeny (Sampson, 1997). Tyto alergeny se dělí asi do 9 skupin (lískové oříšky,

sója, ořechy, pšenice, rýže, mléko, vejce, ryby, koryši, měkkýši). Jsou to zejména některé frakce proteinů semen luštěnin, ale také obilovin, jako je pšenice, rýže, lískové ořechy, para ořechy, některé glykoproteiny pylu (Ondřej et al., 1999). Proteiny, které jsou potenciálně alergenní, mají značnou odolnost k trávicím enzymům a to lze laboratorně modelovat (viz. kap. 2.3.). Proteiny, které jsou produkty transgenů již použitých v současných odrůdách, byly testovány na degradovatelnost trávicími enzymy i na alergenní charakter a všeobecně byly klasifikovány jako nealergenní (Ondřej et al., 1999).

Oblast potenciálních rizik nových proteinů současných GM odrůd ve vztahu k alergiím je intenzivně sledována. V popředí zájmu stojí opět proteiny (endotoxiny) kódované geny *B. thuringiensis*, u nichž nemáme dřívější znalosti týkající se jejich alergenní podstaty. Jedním z příkladů je krmná kukuřice *StarLink* s genem pro delta-endotoxin Cry9C (EPA, 2000a) z *B. thuringiensis* var. *tolworthi*. Protein (68 kDa) vykázal některé charakteristiky jako potravinové alergeny, určitý stupeň rezistence vůči trávicím proteolytickým enzymům, vůči tepelnému zpracování i vůči kyselinám. Na druhé straně protein nevykázal sekvenční homologii se známými alergeny. Druhým příkladem byla krmná sója s genem pro 2S albumin z paraořechu (*Bertholletta excelsa*). Protein je bohatý na methionin. Cílem bylo zvýšit nutriční hodnotu sóje jako krmiva pro živočichy. Její využití bylo zastaveno.

### 3.5. Vedlejší účinky GM rostlin

Vlivem náhodné inserce cizích sekvencí DNA do rostlinného genomu donora, může dojít k modifikaci nebo umlčení exprimovaných genů nebo naopak k aktivaci genů vývojově umlčených. To může být za následek tvorbu nových metabolitů nebo změnu hladiny běžných metabolitů. Takovéto nežádoucí účinky lze částečně předvídat na základě znalosti místa inserce cizí DNA, funkce vnášeného znaku a jeho místa v dané biochemické dráze. Řadu dalších účinků předpovědět nelze, vzhledem k současným neúplným znalostem o genové regulaci a genových interakcích (Kuiper et al., 2001). Nežádoucí účinky lze odhalit analýzou GM rostlin, jejich agronomických a morfologických znaků, rozsáhlými chemickými analýzami klíčových nutričních, antinutričních a toxických látek. Takové příklady vedlejších účinků GM rostlin, které byly doposud pozorovány, byly zaznamenány u bramboru a rýže. U bramboru byla cílem genetické modifikace exprese invertázy z kvasinek. Sekundárním účinkem byl snížený obsah glykoalkaloidů o 37 až 48 % (Engel et al., 1998). Změna obsahu zásobních látek u bramboru s sebou nesla naopak zvýšený obsah glykoalkaloidů o 16 až 88% (Hashimoto et al., 1999a). Při cílené expresi provitaminu A u rýže byla pozorována také



necílená tvorba dalších derivátů karotenoidů, jako je  $\beta$ -karoten, lutein a zeaxanthin (Ye et al., 2000). Některé z těchto změn by mohly naznačovat, že vyvíjené GM rostliny nemají vhodné vlastnosti pro další vývoj v komerční odrůdě.

Na obr. 3 jsou znázorněny jednotlivé úrovně, na kterých je možné detekovat nežádoucí vedlejší účinky genetických modifikací u rostlin.

**Obr. 3: Různé úrovně detekce vedlejších účinků**

### Analýza vedlejších účinků

- |              |                                      |
|--------------|--------------------------------------|
| ➤ Rostlina   | fenotypové změny                     |
| ➤ Pletivo    | fenotypové změny                     |
| ➤ DNA        | analýza sekvencí DNA v místě inzerce |
| ➤ mRNA       | změněné profily exprese DNA          |
| ➤ Proteiny   | změněné profily proteinů             |
| ➤ Metabolity | změněné profily metabolitů           |

### 3.6. Transgeny v přírodním prostředí

Potenciální rizika pro přírodní prostředí při využití transgenů umožňujících rezistenci k herbicidům shrnuli v přehledu Ondřej et al. (1998):

- 1) Transgenní rostlina by se v důsledku svého nového znaku a jeho selekčních výhod mohla stát dominantní a nežádoucím způsobem by se mohla rozšířit jako nový plevel.
- 2) Mohla by dojít k introdukci transgenů, který přináší selekční výhodu, do genomu běžných plevelů.

Nap et al. (1996) uvádějí, že v populaci skládající se z transgenních i netransgenních rostlin bylo pozorováno mírné snížení zdatnosti transgenních rostlin a v důsledku toho postupná eliminace transgenů pro toleranci ke glyfosátu z populace v nepřítomnosti herbicidu. U transgenních kulturních odrůd je však selekce v procesu šlechtění prováděna tak, aby transgenní odrůda neměla nižší zdatnost než původní odrůda netransgenní. Selekční výhodu nebude mít sporadicky přežívající kulturní transgenní rostlina tolerantní ke glyfosátu ani v monokultuře kulturních rostlin jiného druhu tolerantních ke glyfosátu, na něž je glyfosát aplikován. Zvýšení plevelného charakteru kulturní rostliny v důsledku získání tolerance k herbicidu glyfosátu je tedy velmi nepravděpodobné (Ondřej et al., 1998).

Rozšíření transgenů do nežádoucích genotypů lze předejít dodržováním běžných agrotechnických zásad. Ty představují běžné střídání plodin a nepoužívání téhož herbicidu na

témže poli více let po sobě. V případě rozšíření transgenů do běžných plevelů by bylo využití příslušného herbicidu by bylo nahrazeno jiným herbicidem s podobným účinkem, který by zlikvidoval případné plevele s introdukovaným transgenem (Ondřej et al., 1998).

Nejvíce využívané odrůdy GM plodin jsou sója, kukuřice a brambor. V našich podmínkách pěstování nemají tyto druhy příbuzné plané druhy, proto rizika spojená s křížitelností a nežádoucí introdukci transgenů jsou minimální. Řepa se sklízí v 1. roce po výsevu, tedy ještě než vykvete. Studium tohoto problému je aktuální jen u řepky olejné.

Sledují se následující možnosti:

- 1) cizí gen se prostřednictvím pylu může přenést do jiných kultivarů totožného druhu,
- 2) cizí gen se prostřednictvím pylu může přenést do některého systematicky blízkého plevele. V Evropě však existuje pouze omezený soubor planých příbuzných současného sortimentu zemědělských plodin, jsou to některé trávy, řepa atd.

Geny ze vzdálených organismů (živočišného nebo bakteriálního původu) se proto upravují metodami genového inženýrství tak, že se ke kódující části přidá regulační část odpovídající hostitelské rostlině. Tak dostáváme tzv. chimérické geny, které obsahují části DNA pocházející z různých organismů.

#### **4. Metody testování GM potravin**

Rozsah různých typů analýz, které je nezbytné provádět ve vztahu ke GM rostlinám, klade vysoké nároky na metody umožňující tyto analýzy. Na úrovni rostlinné DNA se provádějí analýzy místa inserce transgenů, studují se sekvence rostlinné DNA sousedící s inzertem, sleduje se struktura inzertu a počet jeho kopií. To umožňují metody Southernovy hybridizace, hybridizace *in situ* a sekvencování rostlinné DNA. Analýzu genové exprese transgenů umožňují metody RT-PCR a nové postupy DNA mikročipů. Identifikace a analýza exprimovaných proteinů včetně posttranslačních modifikací spadá do oblasti proteomiky využívající speciální metody např. SDS-polyakrylamidové elektroforézy, dvourozměrné elektroforézy v polyakrylamidovém gelu a pro analýzu struktury proteinů se využívají metody plynové chromatografie, HPLC (high-performance liquid chromatography) nebo spektroskopie založené na údajích jaderné magnetické rezonance.

## 5. Literatura

- Drobník, J., Blažka, P., Demnerová, K., et al. (1997): Bílá kniha. Biotrend.
- Engel, K. H., Gerstner, G., Ross, A. (1998): Investigation of glycoalkaloids in potatoes as example for the principle of substantial equivalence. In: Novel Food Regulation in the EU – Integrity of the Process of Safety Evaluation. Berlin. Federal Institute of Consumer Health Protection and Veterinary Medicine, pp. 197 – 209.
- EPA (2000): Assessment of Scientific Information concerning StarkLink Corn Cry9C Bt Corn Plant-pesticide. Federal Register 65 (October 31, 2000). Arlington: Environmental Protection Agency, pp. 65246-65251. [http://www.access.gpo.gov/su\\_docs/index.html](http://www.access.gpo.gov/su_docs/index.html).
- Essers, A. J. A., Alink, G. M., Speijers, G. J. A. et al. (1998): Food plant toxicants and safety, risk assessment and regulation of inherent toxicants in plant foods. Environ. Toxicol. Pharmacol. 5, 155 – 172.
- Ewen, S. W. B., Pusztai, A. (1999): Effect of diet containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. Lancet 354, 1353 – 1354.
- FAO/WHO (1996): Biotechnology and Food Safety. Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Rome, Italy, 30 September-4 October 1996. Fao Food and Nutrition paper 61. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. [http://www.fao.org/es/esn/index\\_en.stm](http://www.fao.org/es/esn/index_en.stm)
- FAO/WHO (2000a): Report of the First Session of the Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology (ALINORM 01/34). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.codexalimentarius.net/archives.asp>
- FAO/WHO (2000b): Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Geneva, Switzerland, 29 May – 2 June 2000. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations. [http://www.fao.org/es/esn/index\\_en.stm](http://www.fao.org/es/esn/index_en.stm).
- FAO/WHO (2001): Allergenicity of Genetically Modified Foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Rome, 22 – 25 January 2001. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations. [http://www.fao.org/es/esn/index\\_en.stm](http://www.fao.org/es/esn/index_en.stm).
- Fares, N. H., El Sayed, A. K. (1998): Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. Nat. Toxins 6, 219 – 233.

- Gasson, M., Burke, D. (2001): Scientific perspectives on regulating the safety on genetically modified foods. *Nature Rev. Genet.* 2, 217 – 222.
- Hashimoto, W., Momma, K., Katsube, T., Okhawa, Y., Ishige, T., Kito, M., Itsumi, S., Murata, K. (1999a): Safety assessment of genetically engineered potatoes with designed soybean glycinin: compositional analyses of the potato tubers and digestibility of the newly expressed protein in transgenic potatoes. *J. Sci. Food. Agric.* 79, 1607 – 1612.
- Hashimoto, W., Momma, K., Yoon, H. J., Ozawa, S., Ohkawa, Y., Ishige, T., Kito, M., Utsumi, S., Murata, K. (1999b): Safety assessment of transgenic potatoes with soybean glycinin by feeding studies in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63, 1942 – 1946.
- Health Canada (2001): Decisions on Novel Foods. Ottawa: Health Canada and Food Directorate, Health Protection Branch. <http://www.hc-sc.gc.ca/english/subjects.html>
- Jonas, D. A., Antignac, E., Antoine, J. M., et al. (1996): The safety assessment of novel food. Guidelines prepared by ILSI Europe Novel Food Task Force. *Food Chem. Toxicol.* 34, 931 – 940.
- Kuiper, H. A., Kleter, G. A., Noteborn, H. P. J. M., Kok, E. J. (2001). Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant J.* 27(6), 503 – 528.
- MacKenzie, D. J. (2000): Internation Comparison of Regulatory Frameworks for Food Products of Biotechnology. Canadian Biotechnology Advisory Committee, Project Steering Committee on the Regulation of Genetically Modified Foods. <http://www.agbios.com/articles.php>
- Momma, K., Hashimoto, W., Yoon, H. J., Ozawa, S., Fukuda, Y., Kawai, S., Takaiwa, F., Utsumi, S., Murata, K. (2000): Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64, 1881 – 1886.
- Nap, J. P., Metz, P. L. J., Stiekema, W. J. (1996): A transgene-centered evaluation of genetically modified plants. Part 3. Biosafety of genetically modified glyphosate-tolerant plants. Ministry of Economic Affairs, Ministry of Housing, Spatial Planning and Environment.
- Nielsen, K. M., Gebhard, F., Smalla, K., Bones, A. M., Van Elsas, J. D. (1997): Evaluation of possible horizontal gene transfer from transgenic plants to the soil bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* BD413. *Theor. Appl. Genet.* 95, 815 – 821.
- Noteborn, H. P. J. M., Kuiper, H. A. (1994): Safety assessment strategies for genetically modified products. Case study: *Bacillus thuringiensis*-toxin tomato. In: Proceedings of the 3rd International Symposium in the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified

Plants and Microorganisms. Jones, D. D. ed. Oakland, CA, University of California, Div. Agriculture and Natural Resources, pp. 199 – 207.

Noteborn, H. P. J. M., Bienenmann-Ploum, M. E., van den Berg, J. H. J., Alink, G. M., Zolla, L., Reynaerts, A., Pensa, M., Kuiper, H. A. (1995): Safety assessment of the *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein CRYIA(b) expressed in transgenic tomatoes. In: Genetically Modified Foods – Safety Aspects, ACS Symposium Series 605. Engel, K. H., Takeoka, G. R., Teranishi, R. eds. Washington, DC, American Chemical Society, pp. 134 – 147.

OECD (1993a): Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development.

OECD (1993b): OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Paris. Organisation for Economic Cooperation and Development.

OECD (1996): Food Safety Evaluation. Paris: Organisation for Economic Cooperation and development.

OECD (1998): Report of the OECD workshop on the toxicological and nutritional testing of novel foods, Aussois, France, 5 - 8 March 1997. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development.

OECD (2000). Report of the working group on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology. Organization for Economic Cooperation and Development, C(2000)86/ADD2, Paris.

OECD (2001): Consensus Documents. Paris: Organization for Economic Co-operation and Development, Inter-Agency Network for Safety in Biotechnology.

Ondřej, M., Drobník, J., Gartland, K. M. A., Gartland, J. S. (1999): Genové inženýrství rostlin. VŠCHT Praha.

Ondřej M., Rakouský S., Schützner K. (1998): Transgeny pro toleranci k herbicidům. Czech J. Genet. Plant Breed. 34, 31 – 42.

Peferoen, M. (1997): Progress and prospects for field use of Bt genes in crops. Trends Biotech. 15, 173 – 177.

Sampson, H. A. (1997): Immediate reaction to foods in infants and children. In: Food Allergy: Adverse reactions to food aditives. Metcalfe, D. D., Sampson, H. A., Simon, R. A. eds. Blackwell Science, 169 – 182.

Shelton, A. M., Sears, M. K. (2001): The monarch butterfly controversy: scientific interpretations of a phenomenon. Plant J. 27(6), 483 – 488.

Teshima, R., Akiyama, H., Okunuki, H., Sakushima, J. I., Goda, Y., Onodera, H., Sawada, J. I., Toyoda, M. (2000): Effect of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10A mice. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 41, 188 – 193.

WHO (1987): Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food. Environmental Health Criteria 70. Geneva: World Health Organization.

WHO (1990): Principles for the Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food. Environmental Health Criteria 104. Geneva: World Health Organization.

Ye, X., Al Babili, S., Kloeti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P., Potrykus, I. (2000): Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287, 303 – 305.

Tab. 1: Analýza obsahu některých látek u používaných geneticky modifikovaných plodin<sup>1</sup>.

Hostitelský druh	Znak	Testované parametry
Řepka olejná	vysoký obsah kyseliny laurové	AA, EA, FA, GI
Řepka olejná GT73	rezistence k herbicidu (glyfozát)	AA, EA, FA, GI, MI, PA, PX, SI
Bavlník 1445	rezistence k herbicidu (glyfozát)	AA, FA, GP, MT, PX, TF
Bavlník	rezistence k herbicidu (bromoxynil)	AA, CP, FA, GP
Kukuřice GA21	rezistence k herbicidu (glyfozát)	AA, FA, MI, PX
Kukuřice	rezistence k herbicidu	AA, FA, PX, SU
Kukuřice	rezistence ke hmyzu (Cry1Ab)	AA, FA, MI, PX
Kukuřice	rezistence ke hmyzu (Cry1Ab)	MT, PX
Kukuřice Bt176	rezistence ke hmyzu (Cry1Ab)	AA, MT, PX
Kukuřice Bt176	rezistence ke hmyzu (Cry1Ab)	AA, FA, MI, PX, SU
Kukuřice MON810	rezistence ke hmyzu (Cry1Ab)	AA, FA, MI, PA, PX, SU, TF, TI
Rajče	rezistence k herbicidu (chlorsulfuron)	AA, PX
Rajče	rezistence ke hmyzu (Cry3A)	GA, MI, PX, VI
Rajče	rezistence ke hmyzu (Cry1Ab)	AA, MI, PX, TO, VI
Rajče (Flavr Savr)	polygalakturonidáza komplementární k mRNA	MI, PR, TO, VI
Rýže	glycininy ze sóje	AA, FA, MI, PX, VI
Sója GTS 40-3-2	rezistence k herbicidu (glyfozát)	AA, FA, IF, LE, PA, PX, SR, TI, UR
Sója GTS 40-3-2	Rezistence k herbicidu (glyfozát)	IF
Sója	Vysoký obsah kyseliny plejové	AA, FA, IF, MI, PA, PX, SR, TI, VI, MI, PX, SU, VI
Tykev	Rezistence k virům (ZYMV, WMV2)	MI, PX, SU, VI
Řepa cukrovka	Rezistence k herbicidu (glufosinát)	PX

<sup>1</sup>Kuiper et al., 2001

AA - aminokyseliny, CP – nenasycené mastné kyseliny, EA - kyselina eruková, FA - mastné kyseliny, GA – glykoalkaloidy, GL - glukosinoláty, GP – gossypol, IF – izoflavony, LE – lektiny, MI - minerály, MT – mykotoxiny, PA - kyselina fytová, PR – protein, PX – protein, tuky, popeloviny, vláknina, uhlohydráty, SI – sinapin, SR – stachyóza a rafinóza, SU – cukry, TF – tokoferol, TI – inhibitor trypsinu, TO – alfa-tomatin, UR – ureáza, VI – vitaminy.

Tab. 2: Studium toxicity některých proteinů exprimovaných v komerčně využívaných geneticky modifikovaných plodinách<sup>1</sup>.

Plodina	Introdukovaný znak	Živočišný druh použitý k testům	Doba trvání testu (dny)	Sledované parametry
Bavlník	endotoxin <i>Bacillus thuringiensis</i>	krysa	28	celková hmotnost histopatologické změny krevní testy
Kukuřice	Cry9C endotoxin <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>	člověk		reakce sera pacientů alergických na kukuřici
Brambor	lektin ( <i>Galanthus nivalis</i> )	krysa	10	histopatologické změny
Brambor	Cry1 endotoxin <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> HD1	myš	14	histopatologické změny
Brambor	glycininy <i>Glycine max</i>	krysa	28	celková hmotnost krevní testy počet krevních buněk hmotnost orgánů histopatologické změny na játrech a ledvinách
Rýže	glycininy <i>Glycine max</i>	krysa	28	celková hmotnost krevní testy počet krevních buněk hmotnost orgánů histopatologické změny na játrech a ledvinách
Rýže	fosfinotricin acetyltransferáza	krysa, myš	akutní 30	celková hmotnost krevní testy hmotnost orgánů histopatologické změny
Sója GTS 40-3-2	CP4 EPSPS <i>Agrobacterium</i>	krysa, myš	105	celková hmotnost histopatologické změny imunitní systém
Sója GTS 40-3-2	CP4 EPSPS <i>Agrobacterium</i>	člověk		reakce se séry pacientů alergických na sóju
Sója GTS 40-3-2	CP4 EPSPS <i>Agrobacterium</i>	krysa	105	krevní testy složení moči aktivita jaterních enzymů



Sója	2S albumin <i>Berthloletta excelsa</i>	člověk		reakce se séry pacientů alergických na paraořechům
Rajče	Cry1Ab endotoxin <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> HD1	krysa	91	celková hmotnost hmotnost orgánů krevní testy histopatologické změny
Rajče	polygalakturonidáza komplementární k mRNA <i>Lycopersicon</i> <i>esculentum</i>	krysa	28	celková hmotnost hmotnost orgánů krevní testy histopatologické změny

<sup>1</sup>Kuiper et al., 2001

Tab. 3: Studia zaměřená na GM plodiny, které slouží jako potravina<sup>1</sup>.

<b>Plodina</b>	<b>Introdukovaný znak</b>	<b>Živočišný druh použitý k testům</b>	<b>Doba trvání testu (dny)</b>	<b>Sledované parametry</b>
Řepka olejná GT73, potravinářská	rezistence k herbicidům	křepelka	5	hmotnost úmrtnost
Řepka olejná GT73, potravinářská	rezistence k herbicidům	pstruh	70	hmotnost
Kukuřice GA21, zrno	rezistence k herbicidům	broileři	40	hmotnost hmotnost svaloviny hmotnost tuku
Kukuřice CBH351, zrno	rezistence ke hmyzu	broileři	42	hmotnost hmotnost svaloviny hmotnost tuku úmrtnost
Kukuřice Bt176, zrno	rezistence ke hmyzu	broileři	41	hmotnost hmotnost orgánů
Kukuřice Bt176, zrno	rezistence ke hmyzu	slepice (nosnice)	10	snůška vajec
Kukuřice Bt176, zrno	rezistence ke hmyzu	mladí býci	246	hmotnost
Sója GTS 40-30-2	rezistence k herbicidům	dojnice	29	hmotnost produkce mléka složení mléka stravitelnost sušiny složení žaludečních tekutin
Sója, potravina	rezistence k herbicidům	brojleři	42	hmotnost hmotnost svaloviny
Sója, potravina	zvýšený obsah kyseliny olejové	prase, brojleři	17	hmotnost

<sup>1</sup>Kuiper et al., 2001