



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ – ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

ΔΠΜΣ ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΖΩΙΚΗ ΚΑΙ ΦΥΤΙΚΗ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ/ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*«Εφαρμογές των Διαγονιδιακών Φυτών στην Προστασία της
Φυτικής Παραγωγής»*

Παρασκευή Γκεσούλη

Επιβλέπων καθηγητής
Ευστάθιος Χατζηλουκάς

Ιωάννινα, 2019

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ – ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

ΔΠΜΣ ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΖΩΙΚΗ ΚΑΙ ΦΥΤΙΚΗ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ/ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*«Εφαρμογές των Διαγονιδιακών Φυτών στην Προστασία της
Φυτικής Παραγωγής»*

Παρασκευή Γκεσούλη

Εξεταστική Επιτροπή:

Ευστάθιος Χατζηλουκάς, Αναπληρωτής καθηγητής του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (Επιβλέπων)

Άννα – Ειρήνη Κούκου, Αναπληρώτρια καθηγήτρια του Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Θεολόγος Μιχαηλίδης, Αναπληρωτής καθηγητής του τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματεύεται τις εφαρμογές των διαγονιδιακών φυτών στην προστασία της φυτικής παραγωγής.

Αρχικά, δίνεται ο ορισμός της Βιοτεχνολογίας και της Γενετικής Μηχανικής, όπως επίσης παρουσιάζονται οι εφαρμογές και οι στόχοι της.

Στην συνέχεια, αναλύεται ο τρόπος κατασκευής των διαγονιδιακών φυτών μέσω διάφορων τεχνικών. Γίνεται εκτενής αναφορά σε εργαστηριακές τεχνικές μέσω των οποίων πραγματοποιείται μεταφορά γονιδίων σε φυτικά κύτταρα, με σκοπό την παραγωγή συγκεκριμένων πρωτεϊνών και ενζύμων σε αυτά.

Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται οι εφαρμογές των διαγονιδιακών φυτών στην προστασία της φυτικής παραγωγής. Οι εφαρμογές αυτές έχουν στόχο τη δημιουργία φυτών και σπόρων ανθεκτικών σε προσβολές από έντομα, μύκητες, βακτήρια και ιούς, αλλά και σε διάφορες χημικές ή φυσικές καταπονήσεις.

Ακολούθως, γίνεται περιγραφή των νομοθετικών πλαισίων που καθορίζουν τη χρήση των γενετικά τροποποιημένων φυτών και των παραγόμενων προϊόντων τους.

Τέλος, αναλύονται τα οφέλη και οι κίνδυνοι των διαγονιδιακών φυτών, τα διαγονιδιακά φυτά μπορούν να επηρεάσουν την ανθρώπινη υγεία τόσο άμεσα, μέσω εφαρμογών που στοχεύουν στη διατροφή και την ενίσχυση της παραγωγής ανασυνδυασμένων φαρμάκων αλλά και έμμεσα, μέσω των πιθανών επιπτώσεων στο περιβάλλον καθώς επίσης, θα εξεταστεί η σημαντικότερη αντιπολίτευση που αντιμετωπίζει επί του παρόντος η παγκόσμια υιοθέτηση αυτής της τεχνολογίας καθώς επίσης η ηθική υποχρέωση της Βιοτεχνολογίας απέναντι στον άνθρωπο.

ABSTRACT

This dissertation deals with applications of transgenic plants in the protection of plant production.

Initially, the definition of Biotechnology and Genetic Engineering is given, as well as its applications and objectives are presented.

Subsequently, the way of transgenic plants is constructed through various techniques. Extensive reference is made to laboratory techniques through which gene transfer is carried out in plant cells, in order to produce specific proteins and enzymes.

In the next chapter the applications of transgenic plants in the protection of plant production are presented. These applications aim to create plants and seeds resistant to insect insults, fungal infections, bacterial attacks and virus infections, as well as various chemical or physical strains.

Subsequently, a description of the legislative frameworks governing the use of genetically modified plants and their products is made.

Finally, benefits and risks of transgenic plants are analyzed, transgenic plants may impact on human health both directly through applications targeted at nutrition and enhancement of recombinant medicine production but also indirectly, through potential effects on the environment, as well as the most important opposition currently facing the global adoption of this technology will be examined and the moral obligation of biotechnology towards humans.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

ΓΤΟ	Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί
ΓΤΦ	Γενετικά Τροποποιημένα Φυτά
ΓΤ	Γενετικά Τροποποιημένα
ΓΤΚ	Γενετικά Τροποποιημένες Καλλιέργειες
ZTO	Zωντανοί Τροποποιημένοι Οργανισμοί
ΗΠΑ	Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής
ΠΟΕ	Παγκόσμιος Οργανισμός Εμπορίου
E.E.	Ευρωπαϊκή Ένωση
GMFs	Genetically Modified Food
DNA	Deoxyribonucleic Acid
cDNA	complementary DNA
pTi	Tumor inducing plasmid
T-DNA	Transfer DNA
GFP	Green Fluorescent Protein
CBD	Convention on Biological Diversity
AIA	Advanced Informed Agreement
GATT	General Agreement on Tariffs and Trade
SPS	Sanitary and Phytosanitary Measures
TBT	Technical Barriers to Trade
TRIPS	Trade-Related Aspcts of Intellectual Property Rights
CFRB	Coordinated Framework for Regulation of Biotechnology
GMOs	Genetically Modified Organisms
GM	Genetically Modified
APHIS	Animal and Plant Health Inspection Service
FDA	Food and Drug Administration
EPA	Environmental Protection Agency
USDA	United States Department of Agriculture
<i>vir</i> genes	Virulence genes
EFSA	European Food Safety Authority
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
EIQ	Environmental Impact Quotient
RDI	Recommended Daily Intake
PPT	Phosphonotricin
SOD	Superoxide dismutase
Mn	Manganium
CaMV	Cauliflower mosaic virus
Cu	Cuprum
Zn	Zincum
Fe	Ferrum
HSP	Heat Shock Proteins
HR	Hypersensitive reaction
AOS	Active oxygen species
PR-la	Pathogenesis related protein- la
CP	coat protein
WMV	Watermelon mosaic virus
ZYMV	Zucchini yellow mosaic virus
CMV	Cucumber mosaic virus
PVY	Potato virus Y
PVX	Potato virus X

RNA	Ribonucleic acid
ToMV	Tomato mosaic virus
TSV	Tobacco streak virus
TRV	Tobacco rattle virus
AIMV	Alfalfa mosaic virus
TMV	Tobacco mosaic virus
Cp TI	Cowpea trypsin inhibitor
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
ALS	Acetolactate synthase
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
GS	Glutamine synthase
EPSPS	Enolpyruvyl shikimate 3-phosphate synthase
DPAM	2,4-dichlorophenolacetate monooxygenase
QTL	Quantitative trait loci
SSRs	Simple Sequence Repeats
PCR	Polymerase chain reaction
AFLP	Amplified fragment length polymorphism
RAPDs	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLPs	Restriction Fragment Length Polymorphisms
PEG	Polyethylene glycol
Ca	Calcium
Mg	Magnesium
<i>hpt</i>	hygromycin phosphotransferase
<i>gfp</i>	Γονίδιο της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (Green Fluorescent Protein)
ORF	Open Reading Frame
<i>onc</i>	oncogenic genes

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος Αγροχημεία – Εφαρμογές στη Ζωική και Φυτική παραγωγή / Φαρμακευτικά Φυτά, του τμήματος Χημείας σε συνεργασία με το τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών & Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και με τη συμμετοχή του ΤΕΙ Άρτας υπό την επίβλεψη του αναπληρωτή καθηγητή Ευστάθιου Χατζηλουκά.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που με στην συμβολή τους βοήθησαν στην περαίωση του εγχειρήματός μου, ιδιαίτερα τον επιβλέποντα αναπληρωτή καθηγητή Ευστάθιο Χατζηλουκά για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου, για την πολύτιμη βοήθεια, τις συμβουλές και την καθοδήγηση του για την ολοκλήρωση της μελέτης.

Την αξιότιμη αναπληρώτρια καθηγήτρια Άννα – Ειρήνη Κούκου και τον αξιότιμο αναπληρωτή καθηγητή Θεολόγο Μιχαηλίδη, που συνθέτουν την εξεταστική επιτροπή, για τον χρόνο που αφιέρωσαν στη διόρθωση και βαθμολόγηση της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλους τους υπόλοιπους διδάσκοντες για τις γνώσεις, την στήριξη και την βοήθεια που μας προσέφεραν καθ' όλη την διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος, καθώς και τους συμφοιτητές μου για την άριστη συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα που επικράτησε αυτά τα χρόνια.

Τέλος, να ευχαριστήσω τους αγαπημένους μου φίλους και την οικογένεια μου, που στέκονται στο πλευρό μου όλα αυτά τα χρόνια στηρίζοντας με στην πραγματοποίηση των στόχων μου.

Σας ευχαριστώ όλους θερμά!

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	- 1 -
ABSTRACT	- 2 -
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 8 -
1. Βιοτεχνολογία & Γενετική Μηχανική.....	- 10 -
1.1 Βιοτεχνολογία	- 10 -
1.2 Γενετική Μηχανική	- 10 -
1.2.1 Στόχος της Γενετικής Μηχανικής.....	- 10 -
1.2.2 Η γενετική μηχανική στα φυτά.....	- 12 -
2. Διαγονιδιακά φυτά ή	- 14 -
Γενετικά Τροποποιημένα Φυτά.....	- 14 -
2.1 Τρόπος κατασκευής διαγονιδιακών φυτών	- 15 -
2.1.1. Φορείς και διαγονιδιακά φυτά.....	- 16 -
2.1.2 <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	- 18 -
2.1.3 Χρήση των <i>Agrobacterium tumefaciens</i> - pTi για την κατασκευή διαγονιδιακών φυτών	- 24 -
2.1.3.1 Ιστοκαλλιέργεια – Κυτταροκαλλιέργεια	- 27 -
2.1.3.2 Η βαλλιστική μέθοδος.....	- 28 -
2.1.3.3 Μέθοδοι μετασχηματισμού φυτικών πρωτοπλαστών	- 31 -
2.2 Μοριακή Βελτίωση / Μοριακοί Δείκτες	- 32 -
3. Εφαρμογές και Προστασία.....	- 36 -
3.1 Δημιουργία φυτών ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα.....	- 36 -
3.1.1 Ανθεκτικότητα στο Glyphosate.....	- 39 -
3.1.2 Ανθεκτικότητα στο Phosphinotricin (L-φωσφινοθρισίνη).....	- 40 -
3.1.3 Ανθεκτικότητα στις Sulphonylureas (θειουρίες).....	- 40 -
3.1.4 Ανθεκτικότητα στο Bromoxynil.....	- 41 -
3.2 Δημιουργία φυτών ανθεκτικών στα έντομα	- 41 -
3.3 Δημιουργία φυτών ανθεκτικών στους ιούς	- 45 -
3.4 Κατασκευή φυτών ανθεκτικών στα βακτήρια και στους μύκητες	- 48 -
3.5 Ανθεκτικότητα σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις	- 50 -
4. Νομοθεσία και Γενετικά Τροποποιημένα Φυτά/Προϊόντα	- 53 -
4.1 Το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης για τη Βιοασφάλεια.....	- 53 -
4.2 Παγκόσμιος Οργανισμός Εμπορίου	- 54 -
4.3 Νομοθεσία για τα Γενετικά τροποποιημένα φυτά/ προϊόντα	- 56 -
4.3.1 Διεθνή νομοθεσία που αφορά τους ΓΤΟ ή τα προϊόντα τους	- 57 -
4.3.2 Νομοθεσία των ΗΠΑ που αφορά τους ΓΤΟ ή τα προϊόντα τους.....	- 58 -
4.3.3 Ευρωπαϊκή Νομοθεσία.....	- 59 -

4.3.4 Ελληνική Νομοθεσία.....	- 60 -
4.4 Γενετικά Τροποποιημένα αγροτικά προϊόντα	- 60 -
4.5 Ζωοτροφές - Προϋποθέσεις έγκρισης.....	- 62 -
4.6 Λευκή Βίβλος.....	- 62 -
5. Οφέλη και Κίνδυνοι / Βιοηθική	- 65 -
5.1 Πλεονεκτήματα / Οφέλη Γενετικά Τροποποιημένων Φυτών.....	- 65 -
5.1.1 Διαγονιδιακά Φυτά και Διατροφή.....	- 65 -
5.1.2 Διαγονιδιακά φυτά και Επιστήμη.....	- 67 -
5.1.3 Διαγονιδιακά φυτά και Περιβάλλον.....	- 68 -
5.1.4 Οικονομία – Διαγονιδιακές καλλιέργειες.....	- 69 -
5.1.4.1 Εξάπλωση καλλιεργειών GM σε παγκόσμια κλίμακα	- 69 -
5.1.4.2 Εταιρείες φυτοπροστατευτικών προϊόντων.....	- 81 -
5.2 Κίνδυνοι από τη χρήση Γενετικά Τροποποιημένων Φυτών.....	- 85 -
5.2.1 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	- 85 -
5.2.2 Επιπτώσεις στο Περιβάλλον.....	- 85 -
5.3 Ηθική υποχρέωση των επιστημόνων προς το κοινωνικό σύνολο	- 88 -
6. Συμπεράσματα.....	- 91 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 93 -

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα που αντιμετωπίζει η σύγχρονη γεωργία σήμερα είναι η εμφάνιση ποικίλων φυτικών και ζωικών οργανισμών (έντομα, μύκητες, ζιζάνια κ.τ.λ.), στις καλλιέργειες που μπορούν να προκαλέσουν σημαντική μείωση της παραγωγής. Για τον έλεγχο και την καταστροφή των ανεπιθύμητων αυτών οργανισμών χρησιμοποιούνται τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, χημικές ενώσεις που εξοντώνουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς, ζιζάνια και έντομα. Λόγω όμως της μεγάλης τοξικότητας των φυτοφαρμάκων και της αυξανόμενης ανθεκτικότητας των ζιζανίων και των εντόμων σε αυτά, οι επιστήμονες αναζητούν εναλλακτικές λύσεις για την αντιμετώπισή τους (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).

Μια νέα επιστήμη γνωστή ως «Βιοτεχνολογία» καλείται να επέμβει βελτιώνοντας ή ακόμα και εξαλείφοντας μείζονα προβλήματα της σημερινής κοινωνίας. Είναι μια επιστήμη που μεταξύ άλλων ειδικεύεται και στην επεξεργασία και τον χειρισμό του γενετικού υλικού. Με τη εφαρμογή της επιδιώκεται η χρησιμοποίηση ζωντανών οργανισμών ή μέρος αυτών, για την παραγωγή και την τροποποίηση προϊόντων, τη βελτίωση φυτών και ζώων καθώς επίσης και την ανάπτυξη μικροοργανισμών για εξειδικευμένες χρήσεις (M. Stilwell, B. Van Dyke, 1999).

Για το σκοπό αυτό επιστρατεύτηκαν οι τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής με στόχο την δημιουργία διαγονιδιακών φυτών για την προστασία της φυτικής παραγωγής. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA (recombinant DNA technology) αύξησε τις γνώσεις μας πάνω στην γενετική των οργανισμών και έδωσε την δυνατότητα πρόσβασης στα γονίδια με στόχο την μελέτη της δομής, της οργάνωσης και της λειτουργίας τους, καθώς και της αλληλεπίδρασής τους με πρωτεΐνες. Οι οργανισμοί που έχουν υποστεί γενετική τροποποίηση με την εισαγωγή στο γενετικό τους υλικό, DNA από άλλο οργανισμό ονομάζονται Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί ή Διαγονιδιακοί (Genetically Modified Organisms, ή GMOs). Μια από τις μεγαλύτερες εφαρμογές των γενετικά τροποποιημένων οργανισμών στον αγροτικό τομέα είναι η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών (φυτά GM) στα οποία έχουν εισαχθεί γονίδια από άλλους οργανισμούς ώστε να αποκτήσουν νέες επιθυμητές ιδιότητες. Τα γονίδια αυτά μπορούν να προσδίδουν στα φυτά ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα, έντομα και παθογόνους μικροοργανισμούς (Konig A. et al, 2004).

Η έρευνα στην βιοτεχνολογία στοχεύει στην μείωση της χρήσης χημικών προϊόντων στις αγροτικές καλλιέργειες. Η μείωση στην χρήση των χημικών αφενός θα έχει οικονομικά οφέλη και αφετέρου θα συμβάλει στην ελαχιστοποίηση των αρνητικών περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Η σύγχρονη βιοτεχνολογία μπορεί να βοηθήσει στην μείωση της χρήσης των φυτοφαρμάκων με την κατασκευή διαγονιδιακών φυτών ανθεκτικών σε παθογόνους μικροοργανισμούς, σε ζιζάνια και σε έντομα. Όλοι αυτοί οι οργανισμοί αποτελούν συνήθως τους φυσικούς εχθρούς των καλλιεργειών και είναι υπεύθυνοι για την μερική ή ολική καταστροφή τους με ανυπολόγιστες οικονομικές απώλειες (K.A. Λουλακάκης, 1999).

Σήμερα ανά τον κόσμο πολλές είναι οι εταιρείες μέσα από τις οποίες έχει επιτευχθεί η δημιουργία πολλών και διαφορετικών γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών. Αυτές με τη σειρά τους έχουν αποφέρει τεράστια κέρδη στην οικονομία της κάθε χώρας στις οποίες καλλιεργούνται, αλλά και συγχρόνως πολλές αντιδράσεις όσων αφορά τη χρήση-κατανάλωση αυτών των καλλιεργειών (Newell-McGloughlim, M., 2004).

Τα οφέλη που αναμένονται από τη χρήση των διαγονιδιακών φυτών σχετίζονται με την μείωση της επιβάρυνσης του περιβάλλοντος από την ελάττωση της χρήσης χημικών μυκητοκτόνων, εντομοκτόνων και ζιζανιοκτόνων, τα οποία έχουν βλαβερές συνέπειες στο οικοσύστημα αλλά και στην υγεία των ανθρώπων (D. G. Lindsay, 2002). Πολλοί όμως επιστήμονες αλλά και περιβαλλοντικές οργανώσεις προβάλλουν ισχυρές αντιρρήσεις για το κατά πόσο τα προϊόντα αυτά

είναι ασφαλή για κατανάλωση από τους ανθρώπους και τα ζώα, και τι είδους απρόβλεπτοι κίνδυνοι μπορεί να προκύψουν για το οικοσύστημα από την γενετική επέμβαση στα φυτά. Το θέμα της εκτίμησης των περιβαλλοντικών κινδύνων από την καλλιέργεια των διαγονιδιακών φυτών είναι ιδιαίτερα σημαντικό και είναι αναγκαία η εντατικοποίηση της έρευνας πάνω στον τομέα αυτό.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση (Ε.Ε.) η νομοθεσία που αφορά τα γενετικά τροποποιημένα φυτά και προϊόντα αυτών έχει θεσπιστεί από το 1990. Η πιο πρόσφατη κείμενη νομοθεσία αφορά τους κανονισμούς 1829/2003/ΕΚ για τους γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς και 1830/2003/ΕΚ για την επισήμανση και ιχνηλασιμότητα τους. Η Ε.Ε. σε συνεργασία με Διεθνείς Φορείς Προστασίας του καταναλωτή έχουν θεσπίσει πολύ αυστηρούς κανονισμούς ώστε να εξασφαλιστεί η ασφάλεια των ανθρώπων αλλά και του περιβάλλοντος (Schiermeier Q, 1997).

1. Βιοτεχνολογία & Γενετική Μηχανική

1.1 Βιοτεχνολογία

Η βιοτεχνολογία είναι ένας ευρύτερος όρος, δηλαδή περιλαμβάνει τη χρήση της επιστήμης και της τεχνολογίας για όφελος των ανθρώπων με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από την μελέτη των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα προϊόντων που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη γεωργία, στην κτηνοτροφία, στην ιατρική, στην βιομηχανία φαρμάκων και τροφίμων, αλλά και στην προστασία του περιβάλλοντος (M. Stilwell, B. Van Dyke, 1999).

1.2 Γενετική Μηχανική

Η γενετική μηχανική είναι ο τομέας της βιοτεχνολογίας που ασχολείται με την τροποποίηση του γενετικού κώδικα των οργανισμών, είτε αυτά είναι βακτήρια, είτε φυτά, είτε ζώα, είτε ο ίδιος ο άνθρωπος. Έτσι με τον όρο γενετική μηχανική νοείται μια σειρά από μοριακές τεχνικές, οι οποίες επιτρέπουν την απομόνωση και μεταφορά γονιδίων από τα κύτταρα ενός οργανισμού στα κύτταρα ενός άλλου, με τέτοιο τρόπο ώστε τα γονίδια αυτά να ενεργοποιηθούν και να εκφραστούν στον τελευταίο (οργανισμός-δέκτη) (Κοϊός, 2003).

Για τη διάσπαση της αλυσίδας του DNA σε συγκεκριμένα σημεία, την εισαγωγή νέων τμημάτων και την επακόλουθη δεσμοποίησή της, η γενετική μηχανική χρησιμοποιεί ένζυμα που έχουν τη δυνατότητα να τέμνουν το DNA. Οι γενετιστές μπορούν να κόψουν και να συγκολλήσουν γονίδια από έναν οργανισμό σε έναν άλλο, έτσι ώστε να αλλάξει ο γονότυπος και ο φαινότυπος του συγκεκριμένου οργανισμού και να αναπτύξει ορισμένα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (π.χ. να υπάρχει η δυνατότητα να εισαχθούν γονίδια σε ένα φυτό, έτσι ώστε αυτό να παράγει τοξίνες εναντίον κάποιων επιβλαβών εντόμων). Με την απομόνωση ολοένα και μεγαλύτερου αριθμού γονιδίων από τη φυσική τους προέλευση, οι επιστήμονες βρίσκονται σε θέση να τροποποιούν το γενετικό υλικό (Κοϊός, 2003).

Τρεις από τις σημαντικότερες κατηγορίες που αφορούν τις βιοτεχνολογικές εφαρμογές της Γενετικής Μηχανικής (Χατζηλουκάς Ε., 2012):

- Αγροτική παραγωγή (κατασκευή και χρήση διαγονιδιακών φυτών).
- Φαρμακευτικά προϊόντα (π.χ. ινσουλίνη) και εμβόλια μέσω γενετικής τροποποίησης μικροοργανισμών.
- Εφαρμογές στην υγεία και τη γενετική του ανθρώπου.

1.2.1 Στόχος της Γενετικής Μηχανικής

Η ανάπτυξη των μεθόδων της γενετικής τροποποίησης των φυτών έστρεψε το ενδιαφέρον των ερευνητών στη διερεύνηση των δυνατοτήτων μεταφοράς χρήσιμων χαρακτηριστικών σε καλλιεργούμενα φυτικά είδη. Σήμερα στους στόχους της γενετικής μηχανικής φυτών συμπεριλαμβάνεται η βελτίωση δεκάδων χαρακτηριστικών αγρονομικού ενδιαφέροντος. Οι ερευνητικές προσπάθειες των βιοτεχνολόγων καλύπτουν ευρύ φάσμα δραστηριοτήτων, από την καλλιέργεια των φυτών, την παραγωγή τροφίμων και άλλων προϊόντων έως την βιομηχανία μεταποίησης γεωργικών προϊόντων (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999). Επίσης, άλλες προσπάθειες στοχεύουν

στην γενετική τροποποίηση φυτών ώστε να παράγουν καινοφανή προϊόντα, όπως τροποποιημένο άμυλο, βιομηχανικά έλαια, φαρμακευτικές ουσίες και πλαστικές ύλες. Έχουν αναπτυχθεί και καλλιεργούνται ήδη σε εμπορική κλίμακα διαγονιδιακά φυτά με βελτιωμένες ιδιότητες, όπως σόγια, καλαμπόκι, βαμβάκι, τομάτα βραδείας ωρίμανσης με ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα και έντομα. Σε άλλες περιπτώσεις τα αποτελέσματα της έρευνας είναι ενθαρρυντικά και σύντομα αναμένεται να κατακλύσουν την αγορά πολλά νέα προϊόντα (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999).

Γενικά, οι γενετικές επεμβάσεις που γίνονται στα φυτά έχουν ως σκοπό να δημιουργηθούν διαγονιδιακά φυτά με τις παρακάτω ιδιότητες:

- Η αύξηση των αποδόσεων των καλλιεργειών, χωρίς αύξηση των χρησιμοποιούμενων στην γεωργία γεωργικών πόρων (επιπλέον νερό, αγροί, κ.τ.λ.) ή και εφοδίων (λιπάσματα, φυτοφάρμακα κ.τ.λ.). Η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού είναι ραγδαία. Για να αυξηθούν οι καλλιεργήσιμες εκτάσεις, αποξηραίνονται υδροβιότοποι και αποψιλώνονται δάση. Υπάρχει μεγάλη ανάγκη, και η ανάγκη αυτή θα αυξάνεται καθημερινά ολοένα και περισσότερο, να ανέβουν οι αποδόσεις χωρίς να γίνεται σπατάλη με επιπλέον πόρους σε έδαφος και νερό. Η δυνατότητα αύξησης των αποδόσεων και της παραγωγής περισσότερων τροφίμων που προσφέρει η βιοτεχνολογία, δεν πρέπει να σταματήσει την παράλληλη προσπάθεια δικαιότερης κατανομής των παραγόμενων τροφίμων και κυρίως τον περιορισμό της υπερβολικής σπατάλης των τροφίμων στον ανεπτυγμένο δυτικό κόσμο και τη μεταφορά τους στο αναπτυσσόμενο όπου υπάρχει και η μεγαλύτερη ανάγκη. Η μια προσπάθεια δεν πρέπει να θεωρείται ως αντικαταστάτης της άλλης αλλά ως συμπλήρωμά της (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).
- Αυξημένη ανθεκτικότητα σε ιούς, παθογόνους μικροοργανισμούς και έντομα, ώστε να περιοριστούν όσο το δυνατόν περισσότερο οι ψεκασμοί και η ευρεία χρήση φυτοφαρμάκων στη γεωργία, με όλες τις δυσάρεστες επιπτώσεις τους στο περιβάλλον και τον καταναλωτή (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).
- Αυξημένη ανθεκτικότητα σε μεγάλες καταπονήσεις (stress) που προέρχονται από αντιξοότητες του περιβάλλοντος, όπως η ξηρασία, οι χαμηλές θερμοκρασίες, τα αλατούχα εδάφη κ.τ.λ. (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).
- Η βελτίωση της ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων και της καταλληλότητάς τους για μεταποίηση, ώστε να αποφεύγεται η χημική παρέμβαση στη φάση της μεταποίησης και να παράγονται υγιεινότερα προϊόντα. Το άμυλο, για παράδειγμα, των αμυλούχων καρπών έχει δύο συστατικά, την αμυλόξη και την αμυλοπηκτινή. Η βιομηχανία άλλοτε ενδιαφέρεται περισσότερο για το ένα και άλλοτε για το άλλο, γι' αυτό χρησιμοποιεί χημικά μέσα για την αξιοποίηση τους. Με την βοήθεια της βιοτεχνολογίας είναι δυνατόν να αναπτυχθούν καλαμπόκια ή πατάτες που να έχουν σαν συστατικό τους περισσότερο την αμυλόξη ή την αμυλοπηκτινή ανάλογα με τη χρήση. Έτσι οι πρώτες ύλες θα είναι καταλληλότερες και δεν θα χρειαστεί να υποστούν τόση χημική επεξεργασία στο στάδιο της μεταποίησης. Επίσης είναι γνωστό ότι τα φρούτα κόβονται ορισμένες φορές πράσινα και αργότερα χρωματίζονται τεχνητά, ενώ θα μπορούσαν να φτιαχτούν φρούτα με μεγαλύτερη αντοχή μετά τη συγκομιδή και να αποφευχθούν όλες οι υπόλοιπες παρεμβάσεις που δεν δίνουν και την καλύτερη ποιότητα φρούτων και λαχανικών (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).
- Παραγωγή προϊόντων ή μεταποιημένων παραγωγών τους με βελτιωμένες ιδιότητες για τον καταναλωτή (π.χ. βελτιωμένη θρεπτική σύσταση, βελτιωμένη γεύση) (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).

- Παραγωγή νέων προϊόντων που θα αντικαταστήσουν άλλα, λιγότερο υγιεινά ή εμπορικά, αλλά και ο εμπλουτισμός παραδοσιακών προϊόντων με νέες δυνατότητες (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).
- Παραγωγή καινοφανών προϊόντων (π.χ. φαρμακευτικά τροποποιημένα έλαια, καύσιμα, πλαστικές ύλες κ.α.) (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).

Θεωρητικά η γενετική μηχανική φυτών έχει απεριόριστες δυνατότητες. Ωστόσο στην πράξη, ο σχεδιασμός γενετικά τροποποιημένων φυτών με τα κατάλληλα επιθυμητά χαρακτηριστικά, αντιμετωπίζει συχνά προβλήματα που έχουν σχέση κυρίως με την έλλειψη λεπτομερούς γνώσης σε πολλές περιοχές του φυτικού μεταβολισμού αλλά και τη δυσκολία χειρισμού χαρακτήρων που ελέγχονται από πολλά γονίδια (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999).

1.2.2 Η γενετική μηχανική στα φυτά

Ο κύριος σκοπός της βιοτεχνολογίας φυτών είναι η δημιουργία νέων τροποποιημένων ποικιλιών, με έμφαση κυρίως στη βελτιωμένη απόδοση των φυτών σε ποσότητα και ποιότητα. Με τις μεθόδους που εφαρμόζονται μέσω της Γενετικής Μηχανικής είναι εφικτή η ανάπτυξη νέων ιδιοτήτων στα φυτά. Ο σωστός και προσεκτικός συνδυασμός των σύγχρονων μοριακών μεθόδων με τις τεχνικές της κλασσικής βελτίωσης είναι απαραίτητος για την επιτυχία και τη βελτίωση μιας καλλιέργειας (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Η γενετική μηχανική είναι ένα σύνολο τεχνικών, δηλαδή μια τεχνολογία που μας επιτρέπει να χειριζόμαστε γονίδια από οποιονδήποτε οργανισμό και να τα μεταφέρουμε σε οποιονδήποτε άλλο οργανισμό όταν αυτό κρίνεται σκόπιμο (Αθ. Τσαυτάρης, 1997). Η γενετική μηχανική μας επιτρέπει να μεταφέρουμε επιλεκτικά ένα επιθυμητό γονίδιο από οποιονδήποτε οργανισμό σε έναν άλλο και ειδικά στα φυτά, με σκοπό να αποκτήσουμε σε σύντομο χρονικό διάστημα μια ποικιλία με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά. Η γενετική μηχανική προσφέρει δυνατότητες στην επιτάχυνση της βελτιωτικής διαδικασίας και στο εύρος της βελτίωσης των φυτών, με τη μεταφορά σε αυτά γονιδίων που προσφέρουν ανθεκτικότητα σε παράσιτα, ασθένειες, ζιζανιοκτόνα, καθώς και σε περιβαλλοντικές αντιξοότητες. Επίσης η μεταφορά γονιδίων χρησιμοποιείται για την βελτίωση ποιοτικών ή και μετασυλλεκτικών χαρακτηριστικών των φυτών (άρωμα, γεύση, χρώμα κ.α.) (Smith και Wilcox, 1970).



Εικόνα 1: Βιοτεχνολογία Φυτών. Έγχυση γονιδίων για βελτίωση χαρακτηριστικών σε τομάτες.

Πηγή: <http://biotechwatch.gr>

Η γενετική μηχανική αναπτύχθηκε περισσότερο μετά από δύο πολύ σημαντικές ανακαλύψεις: α) την ανακάλυψη των περιοριστικών ενζύμων και β) των προσδιορισμό της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων στην αλυσίδα του DNA (Sanger, 1977).

Από τους γονοτύπους που δημιουργήθηκαν με τον τρόπο αυτό, περισσότεροι από 4.500 έχουν δοκιμαστεί στον αγρό στις ΗΠΑ και περίπου 1.300 στην Ε.Ε., σε μικρότερους αριθμούς και σε άλλες χώρες. Περίπου 80 ποικιλίες φυτών έχουν δοθεί για μεγάλης έκτασης καλλιέργεια στους παραγωγούς στις ΗΠΑ, τον Καναδά, την Κίνα, το Μεξικό και σε διάφορες άλλες χώρες (Αθ. Τσαυτάρης, 2001).

2. Διαγονιδιακά φυτά ή

Γενετικά Τροποποιημένα Φυτά

Οι οργανισμοί που έχουν υποστεί γενετική τροποποίηση με την ενσωμάτωση ενός γονιδίου ή αλληλουχίας DNA, που προέρχεται από άλλο οργανισμό, διαφορετικού είδους στο γενετικό τους υλικό ονομάζονται γενετικά τροποποιημένοι ή διαγονιδιακοί οργανισμοί (Genetically Modified Organisms ή GMOs) με τη χρήση μεθόδων της γενετικής μηχανικής (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο θα προσδώσει ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό ή ιδιότητα στο εν λόγω φυτό. Για παράδειγμα για την αντοχή σε αβιοτικές καταπονήσεις, όπως ξηρασία, ακραία θερμοκρασία ή αλατότητα και βιοτικές καταπονήσεις, όπως ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα, έντομα και παθογόνους μικροοργανισμούς (Sticklen M., 2005).

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να βελτιώσει το θρεπτικό περιεχόμενο του φυτού, μια εφαρμογή που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ιδιαίτερα στον αναπτυσσόμενο κόσμο. Οι νέες γενετικές καλλιέργειες αναπτύσσονται για την παραγωγή ανασυνδυασμένων φαρμάκων και βιομηχανικών προϊόντων, όπως μονοκλωνικά αντισώματα, εμβόλια, πλαστικά και βιοκαύσιμα (Ma JKC, Drake PMW, Christou P., 2003). Τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα (Genetically Modified Food, GMFs), γενικά περιλαμβάνουν κυρίως γενετικά τροποποιημένα φυτά ή αλλιώς διαγονιδιακά φυτά τα οποία είναι μέρος της διατροφής του ανθρώπου (Μπατρίνου Μ., 2011).



Εικόνα 2: Γενετικά Τροποποιημένο Καλαμπόκι

Πηγή: <http://www.etcgroup.org/>

Παρόλα αυτά, πολλοί είναι αυτοί που κατακρίνουν αυτές τις τεχνικές υποστηρίζοντας πως υπάρχουν πιθανές επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων. Για αυτόν ακριβώς το λόγο η γενετική τροποποίηση έχει εξελιχθεί σε ένα θέμα μείζονος σημασίας στις επιστημονικές και μη κοινότητες (Μπατρίνου Μ., 2011).

Οι υπέρμαχοι της χρήσης της τεχνολογίας αυτής προβάλλουν το επιχειρήμα της παραγωγής τροφίμων με βελτιωμένη θρεπτική αξία, καλλιεργούμενων φυτών με αυξημένη ανθεκτικότητα σε παράσιτα και έντομα, φυτών ανθεκτικών σε ζιζανιοκτόνα που ως εκ τούτου δεν απαιτούν καλλιεργητικές φροντίδες, αλλά από την άλλη πλευρά απαιτούν την χρήση αυξημένων ποσοτήτων ζιζανιοκτόνων. Προβάλλουν επίσης τη δυνατότητα παραγωγής νέων προϊόντων, όπως εμβολίων που

χορηγούνται μέσω τροφών. Με τη μέθοδο αυτή ισχυρίζονται ότι, μερικά τουλάχιστον, μπορεί να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της ανεπάρκειας τροφίμων στον λεγόμενο τρίτο κόσμο (Konig A. et al., 2004).

Τέλος, έχει υποστηριχθεί ότι τα γενετικά τροποποιημένα φυτά φέρουν περισσότερες μεταλλάξεις από τα μη μετασχηματισμένα ομόλογα τους ως αποτέλεσμα της μεθόδου παραγωγής (Latham JR, et al., 2006). Οι γενετικές μεταλλάξεις μπορούν να παραχθούν με τη διαδικασία καλλιέργειας ιστών, δημιουργώντας έτσι τη λεγόμενη σωμακλωνική παραλλακτικότητα, και ενδογενείς αναδιατάξεις του DNA μπορεί να εμφανιστούν γύρω από το ολοκληρωμένο διαγονίδιο. Θεωρητικά, αυτό μπορεί να σημαίνει ότι τα φυτά μπορούν να παραχθούν με, για παράδειγμα, μειωμένα επίπεδα θρεπτικών ουσιών ή αυξημένα επίπεδα αλλεργιογόνων ή τοξινών (αν και η εναλλακτική λύση πρέπει επίσης να ισχύει, ότι μπορούν να εκφραστούν και θετικά χαρακτηριστικά). Οι μεταλλάξεις γύρω από τις θέσεις εισαγωγής ξένων γονιδίων δεν έχουν πλήρως χαρακτηριστεί είτε σε πειραματικά είτε σε εμπορικά γενετικά τροποποιημένα φυτά. Κατά συνέπεια, οι (Latham JR, et al., 2006) έχουν προτείνει αρκετές συστάσεις που περιλαμβάνουν βελτιωμένη μοριακή ανάλυση πριν από τη μελλοντική εμπορευματοποίηση ΓΤ καλλιεργειών.

2.1 Τρόπος κατασκευής διαγονιδιακών φυτών

Ένα ουσιαστικό βήμα για την μελέτη γονιδίων διάφορων οργανισμών είναι η απομόνωση τους, όπου υπάρχουν διάφοροι τρόποι προσέγγισης για την απομόνωση τους. Ο ένας είναι η κλωνοποίηση και ο άλλος η γενετική χειραγώγηση (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η κλωνοποίηση είναι ο πολλαπλασιασμός ενός τμήματος του DNA μέσα στον ίδιο ή διαφορετικό ξενιστή και η μεταβίβαση του στην επόμενη γενιά. Το πρώτο βήμα κλωνοποίησης είναι η απομόνωση, ο χαρακτηρισμός και η ανάλυση κάποιου τμήματος του γονιδιώματος. Η απομόνωση επιτρέπει την εύρεση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA, την ταυτοποίηση της αλληλουχίας των αμινοξέων των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από γονίδια, αλλά και την ταυτοποίηση τμημάτων του DNA που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων, τοπικά και χρονικά (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ως γενετική χειραγώγηση μπορεί να οριστεί η δημιουργία νέων συνδυασμών του γενετικού υλικού με την εισαγωγή, τροποποίηση ή απάλειψη τμημάτων DNA ή RNA που δομούνται ή παράγονται, με οποιονδήποτε τρόπο εκτός του κυττάρου. Οι δομήσεις αυτές γίνονται με τη βοήθεια κάποιου πλασμιδίου ή ιού ή οπουδήποτε μορίου (π.χ. τεχνητά χρωμοσώματα ζυμών ή βακτηρίων). Η προκύπτουσα δόμηση, αν και δεν υπάρχει φυσιολογικά, επιτρέπει την ενσωμάτωση μέσα στον οργανισμό «ξενιστή» στον οποίο δύναται να συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται και να μεταβιβάζεται στην επόμενη γενιά. Είναι δυνατό η γενετική χειραγώγηση και η ενσωμάτωση να γίνεται μέσα στον ίδιο τον οργανισμό απ' όπου έχει προέλθει το γενετικό υλικό αυτό (Χατζόπουλος Π., 2001).

Στις αρχές της δεκαετίας του 1970 έγινε η αρχική ώθηση της γενετικής χειραγώγησης κυρίως με την ανακάλυψη των ενζύμων περιορισμού και τη δυνατότητα τεμαχισμού και επανένωσης διακριτών τμημάτων του DNA. Τα ένζυμα αυτά αποτελούν μέρος του συστήματος περιορισμού και τροποποίησης του DNA. Το σύστημα αυτό επιτρέπει στα βακτήρια να ελέγχουν με ακρίβεια την προέλευση του εισερχόμενου DNA και να το καταστρέφουν-περιορίζουν. Η γενετική χειραγώγηση είναι δυνατή επειδή τα γονίδια όλων των οργανισμών είναι φτιαγμένα από το ίδιο DNA. Αυτό σημαίνει ότι το DNA δύο διαφορετικών οργανισμών μπορεί να υποστεί σχάση και να ανασυνδυαστεί. Περιοριστικά ένζυμα, περιοριστικές ενδονουκλεάσες, κάτω από βέλτιστες συνθήκες (π.χ. θερμοκρασία, pH κ.τ.λ.), τέμνουν το DNA σε συγκεκριμένες αλληλουχίες προκειμένου να

δημιουργήσουν «κολλώδη άκρα», τα οποία, λόγω των συμπληρωματικών αλληλουχιών βάσεων που διαθέτουν, τείνουν να κολλούν σε άλλα άκρα που έχουν δημιουργηθεί από τα ίδια ένζυμα. Η DNA λιγάση χρησιμοποιείται για την επανένωση του σακχαροφωσφορικού σκελετού του DNA όταν τα κολλώδη άκρα συνδέονται μεταξύ τους (Χατζόπουλος Π., 2001).

Στην ουσία, με τεχνικές ενζυμικής σχάσης και δεσμοποίησης τμημάτων του DNA δότη και ενός κατάλληλου μορίου φορέα, παρασκευάζεται ένα τεχνητό τμήμα γενετικού υλικού που περιλαμβάνει το γονίδιο που μας ενδιαφέρει μαζί με όλα τα βοηθητικά τμήματα που θα εξασφαλίσουν την έκφραση του γονιδίου το οποίο θα προσδώσει στο γενετικά τροποποιημένο οργανισμό το επιθυμητό χαρακτηριστικό. Σχεδόν πάντοτε, προστίθεται και ένα δεύτερο γονίδιο (γονίδιο επιλογής), από άλλο δότη συνήθως το οποίο θα επιτρέψει μετά το τέλος της μεταφοράς και ενσωμάτωσης να ξεχωρίσει κανείς τα κύτταρα που τροποποιήθηκαν από εκείνα που δεν τροποποιήθηκαν (Χατζόπουλος Π., 2001).

2.1.1. Φορείς και διαγονιδιακά φυτά

Πλασμίδια

Από τους πιο αρχικούς και βασικούς φορείς που χρησιμοποιούνται ευρέως για γονιδιακή χειραγώγηση είναι τα πλασμίδια. Τα βακτηριακά πλασμίδια είναι κυκλικά μόρια DNA προκαρυωτικής προέλευσης, τα οποία αντιγράφονται αυτόνομα σε ένα κύτταρο ξενιστή και κληρονομούνται σταθερά, χωρίς να είναι συνδεδεμένα με το χρωμόσωμα. Το μέγεθος τους κυμαίνεται από 1 έως και πάνω από 200 kb ή και ακόμη μεγαλύτερα. Τα περισσότερα από αυτά είναι δίκλιωνα, ενώ μονόκλιωνα πλασμίδια έχουν απομονωθεί από διάφορα βακτήρια όπως για παράδειγμα το *Borrelia burgorferi* και διάφορα άλλα στελέχη του γένους *Streptomyces*. Τα πλασμίδια έχουν βρεθεί σε ένα ευρύ φάσμα βακτηριακών στελεχών, ωστόσο τα περισσότερα από αυτά έχουν μικρό εύρος ξενιστών στο οποίο μπορούν να διατηρούνται (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Ο φορέας αυτός φέρει τρεις βασικές χαρακτηριστικές ιδιότητες: α) την αρχή της αντιγραφής, β) ένα γονίδιο-μάρτυρα για επιλογή, γ) ορισμένες θέσεις περιοριστικών ενζύμων που απαντώνται μόνο μια φορά και δ) λειτουργίες ισοκατανομής στα θυγατρικά κύτταρα. Η χρήση πλασμιδίων εξαρτάται από τις θέσεις των ενζύμων περιορισμού, τη δυνατότητα επιλογής τους και τις συγκεκριμένες χαρακτηριστικές ιδιότητες τους. Σήμερα υπάρχουν διάφορα πλασμίδια που χρησιμοποιούνται ευρύτατα και περιέχουν διαφορετικές ιδιότητες που τα καθιστούν κατάλληλα για τις διάφορες χρήσεις (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ο πιο διαδεδομένος τρόπος για την εισαγωγή πλασμιδίων σε βακτηριακά κύτταρα σε επίπεδο εργαστηρίου είναι ο μετασχηματισμός. Ακόμα όμως και στις βέλτιστες συνθήκες διεξαγωγής του μετασχηματισμού, δεν είναι δυνατόν όλα τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται να προσλάβουν το πλασμίδιο. Για να είναι δυνατή η επιλογή των κυττάρων που έχουν μετασχηματισθεί, θα πρέπει το πλασμίδιο που χρησιμοποιείται να έχει κάποιο δείκτη επιλογής. Οι γενετικοί δείκτες επιλογής συνήθως είναι (Χατζηλουκάς Ε., 2012):

- Γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά: κωδικοποιούν πρωτεΐνες που λειτουργούν απενεργοποιώντας, αναστέλλοντας ή αποβάλλοντας από το κύτταρο τα αντίστοιχα αντιβιοτικά.
- Γονίδια επιλεκτικής μεταβολικής θρέψης ή αυξοτροφίας: επιτρέπουν την επιλεκτική χρήση ορισμένων μεταβολιτών, προσφέροντας στα μετασχηματισμένα κύτταρα ένα φυσικό πλεονέκτημα ανάπτυξης υπό ορισμένες θρεπτικές συνθήκες.
- Γονίδια αναφοράς ή αλλιώς γονίδια-ανταποκριτές: ως γονίδιο-ανταποκριτής λειτουργεί ένα ήδη γνωστό γονίδιο, του οποίου το προϊόν διατηρεί την ενεργότητα του παρά την

σύντηξη [η γονιδιακή σύντηξη είναι μια πειραματική προσέγγιση για τη μελέτη των γενετικών ιδιοτήτων ενός ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης (Open Reading Frame – ORF), ή ενός γονιδίου, ή της ανίχνευσης και μελέτης της ενεργότητας ενός υποκινητή, δηλαδή ως σύντηξη εδώ εννοείται η κλωνοποίηση του γονιδίου-ανταποκριτή πίσω από το προς μελέτη τμήμα DNA] με το προς μελέτη γονίδιο και η ενεργότητα αυτή είναι ευχερώς ανιχνεύσιμη και μετρήσιμη, συνήθως είτε μέσω κάποιας κατάλληλης ενζυμικής δοκιμής, είτε φασματοσκοπικά.

Τα πρώτα πλασμίδια που χρησιμοποιήθηκαν ως φορείς κλωνοποίησης ήταν τα pCS101, ColE1 και pCR1. Η χρησιμότητά τους όμως ήταν περιορισμένη, γιατί όπως τα περισσότερα από τα «φυσικά» πλασμίδια, περιέχουν ελάχιστες περιοριστικές θέσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για κλωνοποίηση και οι δείκτες επιλογής που φέρουν δεν είναι πάντα κατάλληλοι. Για το λόγο αυτό άρχισαν να κατασκευάζονται νέα πλασμίδια με σκοπό να χρησιμοποιηθούν ως φορείς κλωνοποίησης, εισάγοντας σε αυτά πολυσυνδέτες και γονίδια ανθεκτικότητας. Ένα πλασμίδιο, για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί ως φορέας θα πρέπει τουλάχιστον να έχει μερικά από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (Χατζηλουκάς Ε., 2012):

- Πρέπει να έχει μικρό μέγεθος, ώστε να είναι εύκολη η εισαγωγή του σε κάποιο βακτηριακό κύτταρο και στη συνέχεια να είναι εύκολη και η απομόνωσή του.
- Θα πρέπει να είναι υψηλού αριθμού αντιγράφων, ώστε να είναι δυνατή η απομόνωσή του σε μεγάλες ποσότητες.
- Θα πρέπει να έχει κάποιο δείκτη επιλογής.
- Θα πρέπει να έχει κάποιες περιοριστικές θέσεις, ώστε να είναι επιτρεπτή η εισαγωγή κάποιας ένθεσης.

Σήμερα, υφίσταται πληθώρα από κατηγορίες πλασμιδιακών φορέων που διατίθενται στο εμπόριο από τις διάφορες εταιρείες όπως: πλασμίδια που φέρουν σύστημα ενθετικής απενεργοποίησης, πλασμίδια που φέρουν αρχές αντιγραφής από μονόκλωνους βακτηριοφάγους και πλασμίδια που φέρουν υποκινητές από βακτηριοφάγους (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

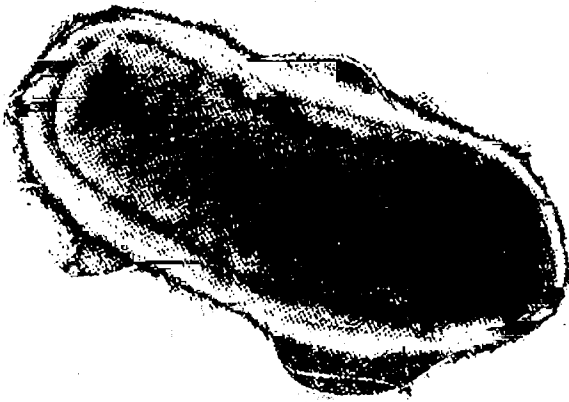
Βακτηριοφάγοι

Λόγω της δυσκολίας κλωνοποίησης σε πλασμιδιακούς φορείς, αλλά και της ελλιπούς αντιπροσώπευσης των βιβλιοθηκών eDNA με τη χρήση πλασμιδιακών φορέων, έχουν αναπτυχθεί άλλοι φορείς. Από τους ευρύτερα χρησιμοποιημένους σήμερα φορείς για τις βιβλιοθήκες είναι ο βακτηριοφάγος λ . Το γονιδίωμα του βακτηριοφάγου λ είναι γραμμικό δίκλωνο DNA. Όταν βρεθεί μέσα στο κύτταρο (*E. coli*) γίνεται κυκλικό. Παρόλη την πολυπλοκότητα του μεγέθους του σε σχέση με του πλασμιδίου ο λ είναι ένας πολύ καλός φορέας διότι: α) Το 1/3 του μεγέθους του, στο μέσο του γονιδιώματος του, μπορεί να αντικατασταθεί με ξένο DNA, χωρίς να χάσει ο ίδιος τις λυτικές του ιδιότητες, β) Συγκεκριμένα στελέχη του λ που έχουν απομονωθεί, έχουν ορισμένες θέσεις περιορισμού σε συγκεκριμένα σημεία, γ) Η συσκευασία του DNA μέσα στην κεφαλή του καψιδίου γίνεται *in vitro* με μεγάλη επιτυχία, δ) Μπορούν να δεχτούν μεγάλο τμήμα ξένου DNA από 12 kb έως

22 kb, ε) Οι ανασυνδυασμένοι βακτηριοφάγοι, ανεξάρτητα του ένθετου τμήματος, έχουν θεωρητικά την ίδια ικανότητα μόλυνσης βακτηρίων και στ) Είναι αρκετά σταθεροί (Χατζόπουλος Π., 2001).

2.1.2 *Agrobacterium tumefaciens*

Το αγροβακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* είναι ο μοναδικός έως σήμερα οργανισμός, με επιβεβαιωμένη ικανότητα οριζόντιας μεταφοράς πλασμιδιακής προέλευσης γονιδίων σε φυτικά κύτταρα και μετασχηματισμού των τελευταίων σε καρκινικά κύτταρα. Δηλαδή, το συγκεκριμένο βακτήριο, παρ' ότι μέλος της επικράτειας των προκαρυωτών, έχει την ικανότητα μεταφοράς γονιδίων προς οργανισμούς, οι οποίοι ανήκουν σε τελείως διαφορετική ταξινομική επικράτεια, αυτή των προκαρυωτών (Χατζηλουκάς Ε., 2012).



Εικόνα 3: Ηλεκτρονιομικρογραφία κυττάρου του *A. tumefaciens*

Πηγή: https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Agrobacterium/Alyssa_Collins_profile.htm

Το αγροβακτήριο είναι γνωστό παθογόνο βακτήριο του εδάφους, της οικογένειας *Rhizobiaceae*. Είναι ένα Gram αρνητικό, ραβδόμορφο, εδαφογενές φυτοπαθογόνο βακτήριο το οποίο προσβάλλει 160 περίπου είδη φυτών, τα οποία κατανέμονται σε περίπου 40 διαφορετικές οικογένειες δικότυλων φυτών και προκαλεί νεοπλασματικές υπερπλασίες, που ονομάζεται όγκος της στεφάνης ή καρκίνος του λαϊμού (εικόνα 4), (Χατζόπουλος Π., 2001 και Χατζηλουκάς Ε., 2012). Αποτέλεσμα της παθογόνου δράσης του βακτηρίου, είναι ο σχηματισμός όγκων στα προσβεβλημένα φυτά. Οι όγκοι μπορούν να εδράζονται σε διάφορα σημεία του φυτού όπως ρίζες, στεφάνη, κλαδιά, αναλόγως του σημείου εισόδου του παθογόνου. Συνηθέστερα δημιουργούνται και γίνονται αντιληπτοί, στη φυτική στεφάνη (το εγγύτερα στο έδαφος, το υπέργειο τμήμα του φυτού) (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

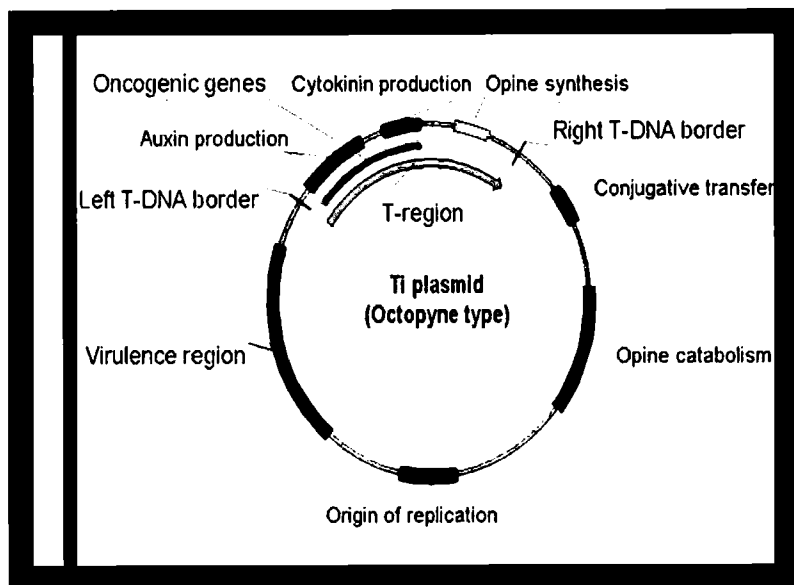


Εικόνα 4: Φυτό που έχει προσβληθεί από το αγροβακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* και έχει δημιουργήσει όγκο.

Πηγή: <http://unsw.discoverlife.org>

Η μοναδική αυτή ικανότητα του αγροβακτηρίου, να μετασχηματίζει τα κύτταρα των δικότυλων φυτών και να τα μετατρέπει σε καρκινικά, οφείλεται στην παρουσία ενός μεγάλου κυκλικού μορίου DNA, του πλασμιδίου Ti, pTi (Tumor inducing plasmid), στο βακτήριο μήκους 200 έως 250 kb. Η άμορφη μάζα αποτελείται από δύο τύπους φυτικών κυττάρων. Το γενετικό υπόβαθρο του ενός έχει μετασχηματιστεί με την εισαγωγή γενετικού υλικού (T-DNA) από το πλασμιδίο του *Agrobacterium tumefaciens*, ενώ του δεύτερου κυτταρικού τύπου δεν έχει μετασχηματιστεί. Συνεπώς ο φαινότυπος της άμορφης μάζας είναι το άθροισμα όλων των κυτταρικών τύπων που είναι παρόντες στον όγκο (Stachel και συν., 1986).

Οι σημαντικότερες περιοχές του γονιδιώματος του φυσικού πλασμιδίου Ti είναι οι ακόλουθες:



Εικόνα 5: Σχηματική παράσταση των σημαντικότερων περιοχών του πλασμιδίου Ti

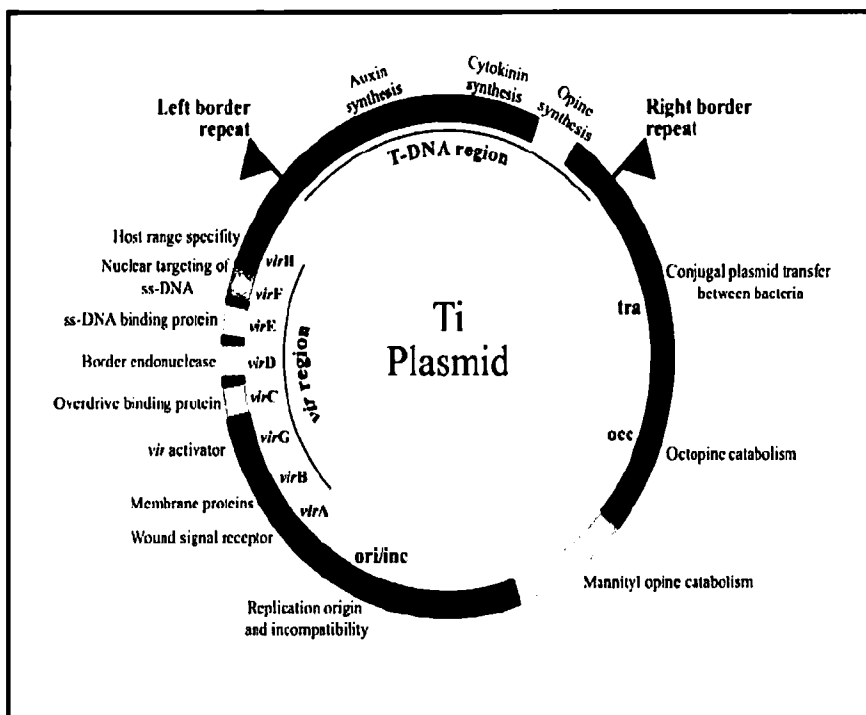
Πηγή: <http://www.bios.net/daisy/AgroTran/g1/850.html>

Η περιοχή T-DNA (Transfer DNA), είναι εκείνο το τμήμα του πλασμιδίου το οποίο μεταφέρεται στα φυτικά κύτταρα και ενσωματώνεται στα φυτικά χρωμοσώματα. Στα άκρα του αφορίζεται από δύο χαρακτηριστικές συντηρημένες αλληλουχίες DNA, μήκους 25 νουκλεοτιδίων η κάθε μία, που ονομάζονται δεξιό και αριστερό σύνορο ή όριο του T-DNA. Τα σύνορα αυτά καθορίζουν την έκταση

του μεταφερόμενου DNA. Το T-DNA του φυσικού πλασμιδίου Ti περιέχει ακόμη τα ογκογονίδια *onc* (oncogenic genes), υπεύθυνα για τη βιοσύνθεση ενζύμων στο εσωτερικό του φυτικού κυττάρου, των οποίων η δράση οδηγεί στην παραγωγή φυτοορμονών (αυξίνης και κυττοκινίνης), οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αποδιοργάνωση του φυτικού ιστού και τελικά στον σχηματισμό όγκων (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Δύο από αυτά είναι τα *iaaM* και *iaaH* (Schröder et al., 1984). Το γονίδιο *iaaM* κωδικοποιεί τη σύνθεση του ενζύμου 2-μονοοξυγενάση της θρυπτοφάνης το οποίο παράγει την ινδολυλο-3-ακεταμίδη. Το γονίδιο *iaaH* κωδικοποιεί την σύνθεση του ενζύμου που μετατρέπει την ινδολυλο-3-ακεταμίδη σε ινδολυλο-3-οξικό οξύ, μια γνωστή αυξίνη. Το τρίτο σημαντικό ογκογονίδιο που βρίσκεται στην T-DNA είναι το γονίδιο *iptZ* (Akiyoshi et al., 1984 και Zambryski, 1992). Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια ισοπεντυλ-τρανσφεράση που μετατρέπει την 5AMP και το ισοπεντυλ-πυροφωσφορικό σε ενεργό κυττοκινίνη. Η συνδυασμένη έκφραση των τριών γονιδίων οδηγεί τα φυτικά κύτταρα σε κυτταροδιαιρέσεις και σχηματισμό νεοπλασιών. Επίσης, στο T-DNA συμπεριλαμβάνεται και το γονιδιακό σύμπλοκο που κωδικοποιεί τα ένζυμα βιοσύνθεσης οπινών. Τα γονίδια αυτά εκφράζονται μέσα στο φυτικό κύτταρο και το οδηγούν στη βιοσύνθεση οπινών (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

Η περιοχή των γονιδίων παθογόνου δύναμης (*vir genes*, *virulence genes*), απαρτίζεται από γονίδια που κωδικοποιούν τις απαραίτητες λειτουργίες για την εκτομή από το πλασμίδιο του T-DNA και τη μεταφορά από το βακτηριακό στα φυτικά κύτταρα. Η περιοχή των γονιδίων *vir* αποτελεί ένα ρεγουλόνιο, του οποίου τα οπερόνια και γονίδια εκφράζονται συντονισμένα, χάρις στην παρουσία ειδικών αλληλουχιών, των πλαισίων *vir*, οι οποίες εδράζονται στις *cis*-δρώσεις περιοχές των οπερονίων και γονιδίων αυτών. Στα πλαίσια αυτά δεσμεύεται ο ενεργοποιητής της μεταγραφής των οπερονίων. Ο μεταγραφικός ενεργοποιητής είναι ο ρυθμιστής VirG, ενώ στην ρύθμιση της έκφρασης του ρεγουλονίου συμμετέχουν και προϊόντα χρωμοσωμικών γονιδίων του βακτηρίου (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

Εκτός της περιοχής του T-DNA στο πλασμίδιο Ti, βρίσκεται η περιοχή των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση κάποιων ασυνήθιστων αμινοξέων ή παράγωγα σακχάρων, των οπινών, καθώς και των ενζύμων για τον καταβολισμό τους (Bomhoff και συν., 1976). Το βακτήριο, μέσω του οπερονίου βιοσύνθεσης οπινών του pTi, υποχρεώνει το φυτό να παράγει οπίνες, τις οποίες δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει το φυτικό κύτταρο και τις εκκρίνει στους μεσοκυττάρους χώρους (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Διάφορες φυλές αγροβακτηρίων κωδικοποιούν την παραγωγή διαφορετικών οπινών. Οι οπίνες είναι χαρακτηριστικές ουσίες που μόνο το αγροβακτήριο μπορεί να αφομοιώσει και να χρησιμοποιήσει ως πηγή αζώτου, άνθρακα, ενέργειας (Petit και συν., 1970).



Εικόνα 6: Γονιδιακός και οπερονιακός χάρτης ενός πλασμιδίου *Ti*, τύπου οκτοπίνης

Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Genetic-map-of-octopine-type-Ti-plasmid-Modi-fi-ed-from-Ream-2002-and-Oezcan-et-al-2004_fig5_259477921

Η φυσική διαδικασία μετασχηματισμού των φυτικών κυττάρων μπορεί συνοπτικά να διακριθεί στα ακόλουθα στάδια:

- Τραυματισμός φυτού
- Πρόσληψη σημάτων από το αγροβακτήριο για την ύπαρξη τραύματος
- Χημειοτακτική προσέλκυση του αγροβακτηρίου προς την τραυματισμένη φυτική επιφάνεια.
- Δέσμευση του αγροβακτηρίου στα φυτικά κύτταρα και επαγωγή των γονιδίων *vir*
- Εκτομή και μεταφορά του T-DNA στα φυτικά κύτταρα
- Είσοδος του T-DNA στον φυτικό πυρήνα, ενσωμάτωση σε κάποιο χρωμόσωμα και έκφραση των γονιδίων του T-DNA μέσα στο φυτό.

(Χατζηλουκάς Ε., 2012)

Στα τρία πρώτα στάδια η διαδικασία μετασχηματισμού διεγείρεται από διάφορα σάκχαρα και φαινολικές ενώσεις όπως η ακετοσυριγκόνη, τα οποία εκχέονται στο περιβάλλον από τους τραυματισμένους φυτικούς ιστούς. Τα σάκχαρα δεσμεύονται στην περιπλασματική πρωτεΐνη δέσμευσης της γαλακτόζης, την ChnE, του βακτηριακού κυττάρου, η οποία είναι το προϊόν του χρωμοσωμικού γονιδίου *chnE*. Η πρωτεΐνη ChnE, αφού δεσμεύσει έναν μονοσακχαρίτη, φαίνεται να αλληλεπιδρά με έναν αισθητήρα-κινάση, την πρωτεΐνη VirA, γεγονός που οδηγεί στην έκθεση ενός τμήματος της τελευταίας, μιας έλικας με αμφιπαθείς ιδιότητες, προς δέσμευση φαινολικών ενώσεων, προερχόμενων από τον τραυματισμένο φυτικό ιστό. Οι ενώσεις αυτές δεσμεύονται από την VirA, η οποία ως συνέπεια αυτού αυτοφωσφορυλιώνεται, όπως ισχύει για τους αισθητήρες-κινάσες των διμερών αισθητηριακών συστημάτων μεταγωγής σημάτων. Μετά τη λήψη αυτών των σημάτων, το βακτήριο οδεύει προς το σημείο του τραύματος, προσελκυσμένο χημειοτακτικά, χρησιμοποιώντας την δυνατότητα κίνησης του μέσω μαστιγίων του (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

Αξίζει να σημειωθεί, ότι η δέσμευση του βακτηρίου στα φυτικά κύτταρα, είναι ένα στάδιο απολύτως απαραίτητο για την επιτυχία της μόλυνσης. Συγκεκριμένα, στελέχη του αγροβακτηρίου τα οποία φέρουν μεταλλάξεις σε γονίδια απαραίτητα για την επίτευξη της δέσμευσης, και αποτυγχάνουν να δεσμευτούν σε φυτικά κύτταρα, είναι ταυτόχρονα και ανίκανα να μετασχηματίσουν φυτά (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

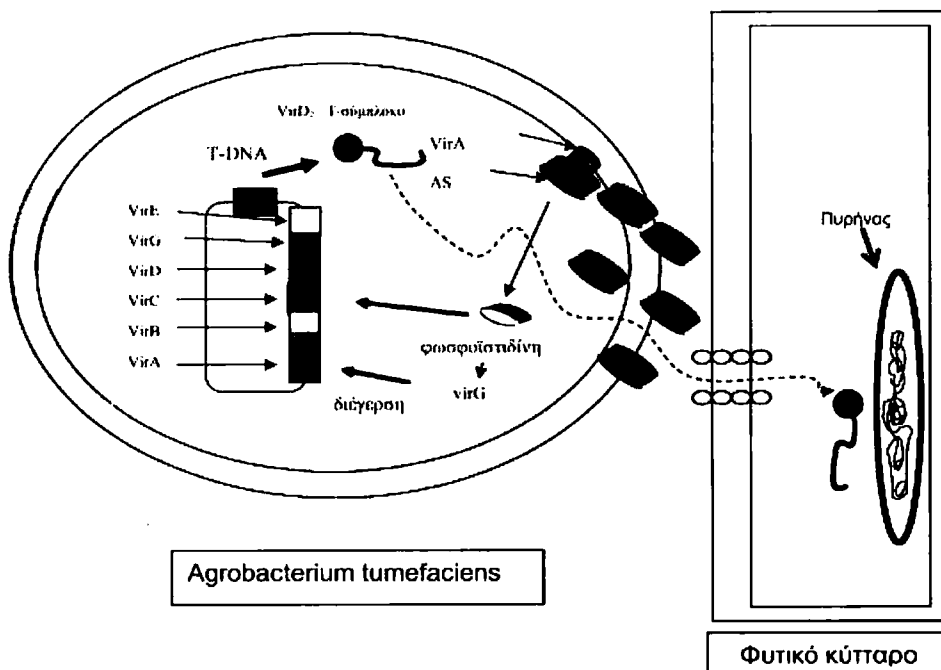
Η μολυσματική περιοχή *vir* (Virulence genes) αποτελεί ένα ρεγουλόνιο και είναι χωρισμένη σε 6 περιοχές, τέσσερις από τις οποίες είναι οπερόνια (*virB*, *virC*, *virD*, και *virE*) ενώ οι υπόλοιπες δύο (*virA* και *virG*) είναι μονήρη γονίδια. Όλες οι περιοχές είναι απολύτως απαραίτητες για τη μολυσματικότητα. Όλες οι περιοχές *vir* είναι αποκλειστικώς φυτοεπαγόμενες. Όπως αναφέρθηκε οι μικρές φαινολικές ουσίες, όπως η ακετοσυριγκόνη, που εκκρίνονται από πληγωμένα φυτικά κύτταρα, διεγείρουν τα γονίδια *virA* και *virG*, τα προϊόντα των οποίων διεγείρουν τα υπόλοιπα γονίδια *vir* (Winans et al., 1994). Το προϊόν του γονιδίου *virA* είναι ένας χημειούποδοχέας ο οποίος εντοπίζεται στην εσωτερική μεμβράνη των αγροβακτηρίων και ανιχνεύει την παρουσία της ακετοσυριγκόνης. Μετά την αυτοφωσφορυλίωση της VirA, η φωσφορική ομάδα της ιστιδίνης που παράγεται μεταφέρεται στην πρωτεΐνη VirG η οποία φωσφορυλιώνεται και διεγείρει την έκφραση των άλλων *vir* γονιδίων μέσω της αλληλεπίδρασής της με μια συντηρητική αλληλουχία 125bp (η οποία ονομάζεται πλαίσιο *vir*, *vir*-box) στον υποκινητή τους (Χατζηλουκάς Ε., 2012 και Leroux et al., 1987).

Το οπερόνιο των γονιδίων *virB* αποτελείται από 11 γονίδια, τα οποία συμμετέχουν στο σχηματισμό της εκκριτικής οδού τύπου IV, από την οποία διέρχεται το νουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο T-DNA. Τα δύο γονίδια του οπερονίου *virC* κωδικοποιούν λειτουργίες απαραίτητες για την δράση των προϊόντων του οπερονίου *virD*. Συγκεκριμένα, η απαλοιφή του οπερονίου *virC*, έχει παρατηρηθεί ότι οδηγεί στην εξασθένηση της παθογόνου ικανότητας του αγροβακτηρίου. Αυτό θεωρείται ότι οφείλεται στην ύπαρξη μια αλληλουχίας, ενός είδους υποκινητή, η οποία εδράζεται πλησίον του σημείου τομής, στο εσωτερικό του δεξιού συνόρου του T-DNA. Στη θέση αυτή δεσμεύεται η πρωτεΐνη VirC1 και προάγει την ακόλουθη δέσμευση των VirD1 και VirD2, εκκινώντας έτσι τη διαδικασία εκτομής του T-DNA. Απουσία του δεξιού συνόρου, ή της αλληλουχίας αυτής, η εκτομή υλοποιείται είτε με πολύ μικρότερη συχνότητα, είτε καθόλου από το άκρο αυτό. Η εκτομή μπορεί να ξεκινήσει από το αριστερό σύνορο, αλλά με πολύ μικρότερη συχνότητα. Τα τέσσερα γονίδια του οπερονίου *virD* κωδικοποιούν λειτουργίες απαραίτητες για την πραγμάτωση της μονόκλωνης τομής στο δεξιό σύνορο, αλλά και τη μεταφορά του T-DNA στα φυτικά κύτταρα. Η δράση της VirD2 συνεισφέρει στην είσοδο του T-DNA στον φυτικό πυρήνα. Τα δύο γονίδια του οπερονίου *virE* συμμετέχουν στην προστασία του μονόκλωνου T-DNA από νουκλεάσες, αλλά και στην είσοδο του στον φυτικό πυρήνα (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

Η επαγωγή των γονιδίων *vir* του αγροβακτηρίου έχει ως αποτέλεσμα την αντιγραφή της περιοχής T-DNA και τον σχηματισμό μιας μονής αλυσίδας DNA. Οι πρωτεΐνες VirD1 (μια τοποϊσομεράση) και VirD2(μια ενδονουκλεάση) τέμνουν τη μία αλυσίδα του πλασμιδίου Ti, στο 5' άκρο μια ειδικής θέσης του pTi, της περιοχής του T-DNA. (Χατζηλουκάς Ε., 2012 και Pansegrau and Lanka, 1996). Μάλιστα η πρωτεΐνη VirD2 παίζει διττό ρόλο, καθώς προσκολλάται στο 5' άκρο της μονής αλυσίδας T-DNA, προστατεύει την μονή αλυσίδα του T-DNA από την υδρολυτική δράση των νουκλεασών και επίσης την οδηγεί από το αγροβακτήριο στο φυτικό κύτταρο. Επίσης, γίνεται σταδιακή δέσμευση των πρωτεϊνών VirE2, η οποία είναι πρωτεΐνη δέσμευσης μονόκλωνου DNA. Η εκτόπιση της μιας αλυσίδας του T-DNA σταματάει όταν η εκτοπίζουσα DNA πολυμεράση αφιχθεί στο αριστερό σύνορο του T-DNA. Το όλο σύμπλοκο οργανώνεται σε ένα νουκλεοπρωτεϊνικό νημάτιο και μεταφέρεται ακολούθως στο εσωτερικό του φυτικού κυττάρου (Χατζηλουκάς Ε., 2012 και Howard και συν., 1992). Το σύστημα διακυτταρικής μεταφοράς και εξαγωγής του συμπλόκου T-DNA, αποτελείται από έναν διάυλο πρωτεϊνικής σύστασης, ο οποίος διαπερνά τόσο το βακτηριακό,

όσο και το φυτικό κυτταρικό τοίχωμα και απελευθερώνει στο εσωτερικό του φυτικού κυττάρου το νουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

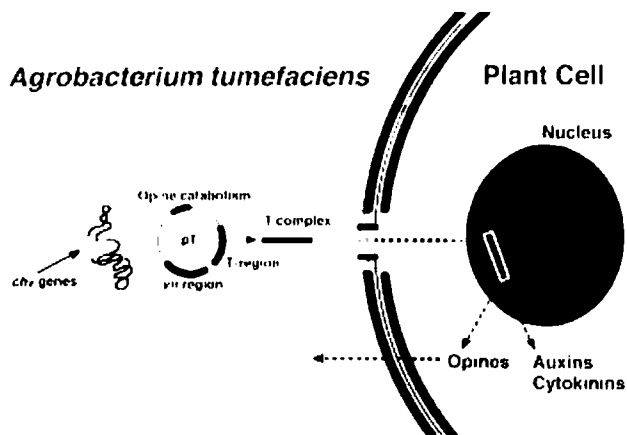
Μετά την είσοδο του νουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου στο φυτικό κύτταρο, κατευθύνεται και εισέρχεται στον πυρήνα του φυτικού κυττάρου, δεδομένου ότι η πρωτεΐνη VirD2 και η VirE2, περιέχουν σήματα πυρηνικού εντοπισμού, η πρώτη ένα και η δεύτερη δύο σήματα. Στο εσωτερικό του πυρήνα, μέσω μιας πολύπλοκης αλλά και άγνωστης διαδικασίας, ενσωματώνεται το T-DNA σε τυχαίες θέσεις στα φυτικά χρωμοσώματα (Χατζηλουκάς Ε., 2012).



Σχήμα 1: Η διαδικασία επαγωγής και μεταφοράς του νουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου.

Πηγή: Howard και συν., 1992

Έτσι, αρχίζει η έκφραση τόσο των γονιδίων *onc* όσο και εκείνων του γονιδιακού συμπλόκου βιοσύνθεσης οπινών. Η έκφραση των γονιδίων *onc* καταλήγει στην υπερβολική παραγωγή φυτοορμονών (σε 200-500 φορές μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυξίνης και σε αρκετές εκατοντάδες φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση κυττοκινίνης) και αυτό έχει ως συνέπεια τον σχηματισμό φυτικών όγκων. Ακόμη, η έκφραση των βιοσυνθετικών γονιδίων των οπινών, υποχρεώνει το φυτικό κύτταρο να συνθέσει την όποια οπίνη (οκτοπίνη, νοπαλίνη κ.α.) που κωδικοποιούν τα βιοσυνθετικά γονίδια του συμπλόκου.



Σχήμα 2: Η ενσωμάτωση του νουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου στον φυτικό πυρήνα.

Πηγή: <https://www.mejorimagen.eu/agrobacterium-mediated-gene-transformation-in-plants-youtube.html>

Όπως έχει αναφερθεί, το φυτικό κύτταρο εκκρίνει τις οπίνες στο περιβάλλον του και τις προσλαμβάνει το αγροβακτήριο, προκειμένου να τραφεί. Ο καταβολισμός των προσλαμβανόμενων οπινών επιτελείται στο βακτηριακό κύτταρο χάρη στην ύπαρξη των καταβολικών γονιδίων των οπινών του pTi. Έχει προταθεί, ότι η δυνατότητα παραγωγής και καταβολισμού των οπινών, αποτελεί ένα σημαντικό πλεονέκτημα για το βακτήριο και είναι ενδεχομένως και η αιτία για την οποία το αγροβακτήριο διατηρεί ένα τόσο μεγάλο πλασμίδιο όπως το pTi (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

2.1.3 Χρήση των *Agrobacterium tumefaciens* - pTi για την κατασκευή διαγονιδιακών φυτών

Το σύστημα *A. tumefaciens* – pTi έχει την ιδιότητα να αντιλαμβάνεται την ύπαρξη τραυματισμένων φυτικών ιστών και να αντιδρά με επαγωγή της έκφρασης όλων των προαναφερθέντων γονιδίων. Επίσης, μια ικανότητα του μηχανισμού του pTi είναι να μεταφέρει ένα νουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο, που αφορίζεται από το δεξιό και αριστερό σύνορο του T-DNA, στον πυρήνα του φυτικού κυττάρου. Έτσι, αντικαθιστώντας το περιεχόμενο του φυσικού T-DNA με μια διαγονιδιακή αλυσίδα που επιθυμεί ο ερευνητής, μπορεί με ευχέρεια να την μεταφέρει στα φυτικά κύτταρα, αρκεί να την περιβάλλει με ένα δεξιό και ένα αριστερό άκρο και να το εισάγει στο αγροβακτήριο (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Η πορεία που ακολουθείται για την κατασκευή διαγονιδιακών φυτών είναι:

❖ Κλωνοποίηση του διαγονιδιακού DNA σε κατάλληλο φορέα μετασχηματισμού:

Είναι απαραίτητη η κλωνοποίηση του διαγονιδίου ή της αλληλουχίας που έχει επιλεγεί, σε κατάλληλο φορέα, για την μεταφορά και την σταθερή του ενσωμάτωση στο φυτικό γονιδίωμα. Έχουν κατασκευαστεί διάφοροι φορείς κλωνοποίησης σε φυτά και όλοι αποτελούν παράγωγα του πλασμιδίου Ti του *A. tumefaciens* ή εμπεριέχουν μεταξύ άλλων και συγκεκριμένες αλληλουχίες του πλασμιδίου αυτού. Είναι απαραίτητη η ένθεση του ξένου DNA σε φορέα κλωνοποίησης, σε κάποιο πλασμίδιο, με τα χαρακτηριστικά που έχουν αναφερθεί, όπως, να διαθέτει το ένα ή και τα δύο σύνορα του pTi και να περιλαμβάνει ένα ‘μάρτυρα επιλογής’, δηλαδή ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μια λειτουργία η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή επιτυχημένων μετασχηματισμένων φυτών, από εκείνα που δεν έχουν δεχθεί το πλασμίδιο. Τα γονίδια αυτά είναι συνήθως γονίδια που κωδικοποιούν παράγοντες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά. Εφόσον το εισαγόμενο DNA, δεν είναι ένα

ολοκληρωμένο, φυτικό γονίδιο, απαιτείται εφοδιασμός με *cis*-δράσεις αλληλουχίες κάποιου φυτικού γονιδίου ή φυτικού ιού, οι οποίες, είτε προϋπάρχουν στον φορέα ή προστίθενται στη συνέχεια και είναι απαραίτητες για την έκφραση του διαγονιδιακού DNA στα φυτικά κύτταρα (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

❖ Εισαγωγή του ανασυνδυασμένου φορέα σε ειδικό στέλεχος του αγροβακτηρίου:

Ο ανασυνδυασμένος φορέας εισάγεται σε στέλεχος του αγροβακτηρίου, το οποίο φέρει ένα ελλειμματικό *pTi*. Η εισαγωγή επιτυγχάνεται είτε μέσω βακτηριακής σύζευξης (ικανότητα πλασμιδίων για μεταφορά είτε μόνα τους είτε με την βοήθεια άλλων πλασμιδίων, από ένα κύτταρο σε κάποιο άλλο), είτε μέσω μετασχηματισμού. Από το *pTi* αυτό μπορεί να έχει αφαιρεθεί το σύνολο της περιοχής T-DNA, ή το μεγαλύτερο τμήμα της και να έχει αφεθεί μόνο το ένα από τα δύο σύνορα της. Το «αφοπλισμένο» πλασμίδιο που προκύπτει μπορεί να εκφράσει όλες τις απαραίτητες λειτουργίες, δηλαδή τα προϊόντα των γονιδίων *vir*, για τη μεταφορά του T-DNA στα φυτά, αλλά δεν μπορεί να προκαλέσει τον σχηματισμό όγκων, λόγω έλλειψης των γονιδίων *onc*. Μπορεί επίσης να μεταφέρει κάθε άλλη αλληλουχία DNA, η οποία περικλείεται μεταξύ ενός δεξιού και αριστερού συνόρου μια περιοχής T-DNA. Η αφαίρεση της περιοχής T-DNA ή των γονιδίων κρίνεται απαραίτητη, προκειμένου τα διαγονιδιακά φυτά που θα προκύψουν να μην σχηματίσουν όγκους και παράγουν οπίνες (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

❖ Τραυματισμός και μετασχηματισμός φυτικών ιστών με το ανασυνδυασμένο στέλεχος του αγροβακτηρίου:

Μια ευρύτερα και απλούστερη τεχνική που αναπτύχθηκε, συνίσταται στην ολονύκτια συνεπάωση δισκίων φύλλων του φυτού με καλλιέργεια του αγροβακτηρίου που περιέχει το ανασυνδυασμένο με το διαγονίδιο *pTi* (Horsch et al., 1985). Τα δισκία φύλλων που προκύπτουν από την κατάτμηση των φύλλων του φυτού είναι συνεχώς τραυματισμένα και έτσι προσελκύουν τα κύτταρα του αγροβακτηρίου με το οποίο συν-επιάζονται.

❖ Επιλογή των μετασχηματισμένων φυτικών κυττάρων:

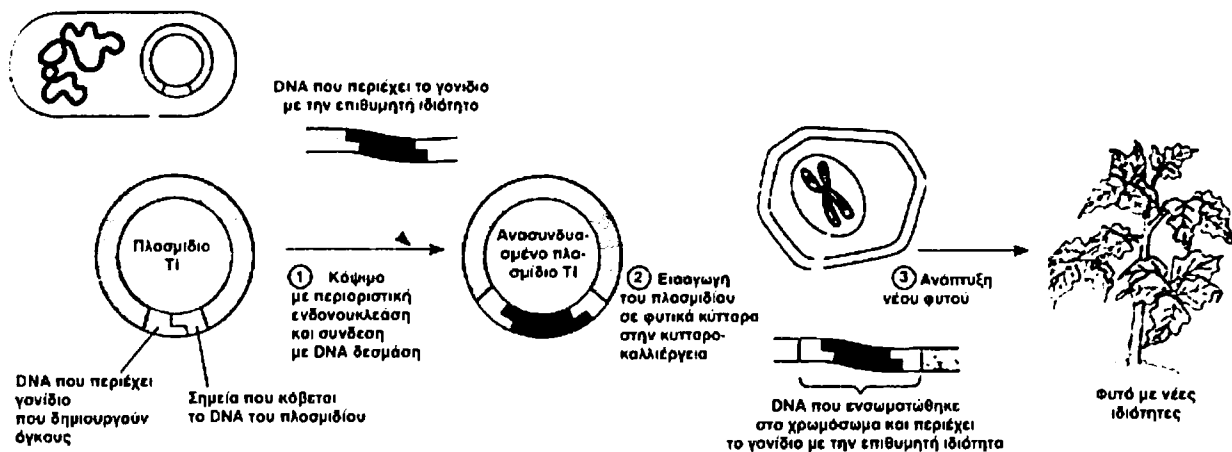
Για το λόγο ότι δεν μετασχηματίζονται όλα τα φυτικά κύτταρα του κάθε δισκίου, ακολουθεί η επιλογή κυττάρων του φυτικού ιστού που έχουν μετασχηματιστεί και η θανάτωση των μη μετασχηματισμένων. Για επιτυχημένη επιλογή τα φυτικά κύτταρα θα πρέπει να είναι ευαίσθητα σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις κάποιας ουσίας που είναι είτε κάποιο αντιβιοτικό είτε κάποιο ζιζανιοκτόνο. Από τα πιο γνωστά γονίδια δείκτες που συνήθως χρησιμοποιούνται, είναι και το γονίδιο της φωσφοτρανσφοράς της νεομυκίνης που προσδίδει στα μετασχηματισμένα φυτά ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό καναμυκίνη, το οποίο προστίθεται στο θρεπτικό υπόστρωμα, όπου επιάζονται τα μεταχειρισμένα δισκία φύλλων, και το γονίδιο της ακετυλτρανσφεράσης της φωσφινοθρισίνης που προσδίδει στα μετασχηματισμένα κύτταρα ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο Basta® (Χατζόπουλος Π., 2001). Ο φορέας κλωνοποίησης περιέχει το αντίστοιχο γονίδιο που προσδίδει ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό. Όσα έκφυτα έχουν ενσωματώσει σταθερά και εκφράζουν τη χημική κατασκευή, μπορούν να επιβιώσουν της δράσης του αντιβιοτικού, ενώ τα υπόλοιπα πεθαίνουν. Η επιλογή όμως αυτή στην πράξη δεν είναι απόλυτη διότι πολλά μη μετασχηματισμένα φυτικά κύτταρα επιβιώνουν παρόλο που δεν περιέχουν την χημική κατασκευή (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

Όταν, όμως απαιτείται παραγωγή διαγονιδιακών φυτών για καθαρά εμπορικούς και καλλιεργητικούς σκοπούς, τότε ίσως είναι αναγκαίο να αποφεύγεται η χρήση τέτοιων γονιδίων επιλογής ανθεκτικών σε αντιβιοτικά ή ακόμη σε ζιζανιοκτόνα. Τα γονίδια ανθεκτικά σε αντιβιοτικά στην ουσία έχουν σκοπό να επιλέξουν τα μετασχηματισμένα φυτά και δεν προσδίδουν κανένα

επιπλέον αξιοποιήσιμο χαρακτηριστικό, ενδεχομένως να επηρεάσουν αρνητικά ολόκληρη την τροφική ή παραγωγική αλυσίδα του προϊόντος. Γι' αυτό το λόγο έχουν αναπτυχθεί φορείς και σχήματα μετασχηματισμού επιλογής που δεν βασίζονται σε επιλογή τέτοιων ουσιών (Χατζόπουλος Π., 2001). Όσον αφορά τα γονίδια ανταποκριτές, το γονίδιο της β-γλουκουρονιδάσης είναι από τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα, και με το κατάλληλο υπόστρωμα τα μεταμορφωμένα κύτταρα βάφονται γαλάζια. Ένα άλλο ένζυμο που χρησιμοποιείται είναι η λουσιφεράση, το γονίδιο του ενζύμου αυτού προέρχεται από έντομα (*Photinus pyralis*) ή από βακτήρια, το οποίο καταλύει αντιδράσεις εκπομπής φωτός (βιοφθορισμός) από τα μετασχηματισμένα κύτταρα. Ένα από τα καινούρια γονίδια ανταποκριτές είναι το γονίδιο *gfp* (*Green Fluorescent Protein*), το οποίο απομονώθηκε από τη μέδουσα *Aequorea victoria*. Το προϊόν του γονιδίου είναι μια πρωτεΐνη με 238 αμινοξέα. Η πρωτεΐνη αυτή έχει την ιδιότητα να απορροφά το μπλε φως (κυρίως στα 395nm με μια μικρότερη κορυφή στα 470nm) και να εκπέμπει πράσινο φως (στα 509 - 540nm). Αυτή η εκπομπή φωτός είναι πολύ σταθερή και ορατή αλλά μόνο με ειδικό μικροσκόπιο και με φωτισμό στα 395 - 470nm (Χατζόπουλος Π., 2001). Ένα ακόμη παράδειγμα αποτελεί η υγρομυκίνη Β, είναι ένα αμινογλυκοσιδικό αντιβιοτικό το οποίο χρησιμοποιείται συχνά ως αντιβιοτικό επιλογής στα πειράματα γενετικής τροποποίησης των φυτών. Ο πυρήνας του μορίου είναι ένας 5-υποκατεστημένος αμινοκυκλικός Ν-μέθυλ-2 δακτύλιος δεοξυστρεπταμίνης. Απομονώνεται από το ακτινοβακτήριο *Streptomyces hygroscopicus*. Το αντιβιοτικό προκαλεί αναστολή της πρωτεϊνσύνθεσης σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα (Gonzales A. et al, 1978). Οφείλει τη δράση της αυτή στην αναστολή της μετάφρασης με πιθανότερο μηχανισμό την πρόσδεση της υγρομυκίνης στα ριβοσωμάτια στην περιοχή σύνδεσης του t-RNA. Ως γονίδιο επιλογής χρησιμοποιείται το γονίδιο *hpt* από ένα ανθεκτικό στην υγρομυκίνη βακτήριο. Το γονίδιο *hpt* κωδικοποιεί την φωσφοτρανσφεράση της υγρομυκίνης. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά επιβιώνουν σε συγκεντρώσεις υγρομυκίνης της τάξης των 10 - 25 mg/L (Csaba et al., 1989, Ming-Bo και Waterhouse, 1997).

❖ Απομόνωση των σχηματιζόμενων κάλων και αναζωογόνηση σε άρτια φυτά:

Η προηγούμενη διαδικασία οδηγεί στην θανάτωση του μεγαλύτερου τμήματος του φυτικού ιστού και επιτρέπει στα μετασχηματισμένα κύτταρα να επιβιώσουν και να σχηματίζουν μικρούς κάλους. Οι κάλοι αποκόπτονται από τον υπόλοιπο νεκρωμένο ιστό και μεταφέρονται διαδοχικά σε άλλα θρεπτικά υποστρώματα, τα οποία περιέχουν κατάλληλες φυτοορμόνες (π.χ. ορμόνες ριζοβολίας, αυξίνες κ.τ.λ.). Στο σημείο αυτό συνεχίζεται η επιλογή με αντιβιοτικό μέχρι να προκύψουν άρτια φυτά, τα οποία να μπορούν να αναπτυχθούν με συμβατικούς τρόπους. Οι τεχνικές αυτές είναι εύχρηστες με ικανοποιητικές αποδόσεις αλλά το μειονέκτημα τους είναι ότι η χρήση τους περιορίζεται σε δικότυλα φυτά. Επίσης, για κάποια άλλα φυτά δεν αποδίδουν στην αναγέννηση άθικτων φυτών από τμήματα ιστών τους (Χατζηλουκάς Ε., 2012).



Εικόνα 7: Παραγωγή γενετικά τροποποιημένων φυτών με το *Agrobacterium tumefaciens*

Πηγή: <https://www.quora.com/How-are-transgenic-plasmids-produced-using-Agrobacterium-tumefaciens>

Από την εποχή της ανακάλυψης της μοναδικής ιδιότητας του αγροβακτηρίου να ενσωματώνει τμήμα του γενετικού υλικού του στο φυτικό γονιδίωμα, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι γενετικής τροποποίησης με βάση το αγροβακτήριο. Οι Bechtold και Bouchez, (1995), συγκαλλιέργησαν ανθισμένα φυτά αραβίδωσης με το αγροβακτήριο με τη μέθοδο της διήθησης υπό κενό. Ένα μεγάλο μέρος των φυτών που φύτεψαν από τους πόρους που συλλέχθηκαν, ήταν μεταμορφωμένα. Παρ' ότι η μεταφορά γονιδίων μέσω του αγροβακτηρίου είναι συμβατή για πολλά καλλιεργούμενα είδη, μόλις πρόσφατα άρχισε να βρίσκει εφαρμογή στις καλλιέργειες των δημητριακών (Khanna και συν., 2003), που αποτελούν τα πιο σημαντικά φυτά για τη διατροφή του ανθρώπου. Επιπροσθέτως, οι τεχνικές ιστοκαλλιέργειας που απαιτούνται για αναγέννηση βρίσκονται σε νηπιακό στάδιο για τα ψυχανθή φυτά. Οι παραπάνω λόγοι οδήγησαν την έρευνα σε εναλλακτικούς δρόμους γονιδιακής μεταφοράς. Οι μέθοδοι της κατηγορίας αυτής χρησιμοποιούν χημικές, φυσικές ή ηλεκτρικές μεταχειρίσεις για την εισαγωγή DNA σε φυτικά κύτταρα. Οι μέθοδοι άμεσης μεταφοράς είναι ανεξάρτητες από το είδος και τον γονότυπο των φυτών, όμως η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από τον τύπο των κυττάρων-στόχων και τη δυνατότητά τους να παράγουν ένα ολόκληρο μεταμορφωμένο φυτό (Malone - Schoneberg et al., 1994, Christou et al., 1989, Lowe et al., 1995). Στις μεθόδους της κατηγορίας αυτής είναι σημαντικό να υπάρχει ένα αποτελεσματικό πρωτόκολλο αναγέννησης, καθώς οι καλλιέργειες στις οποίες εφαρμόζονται οι μέθοδοι αυτές (δημητριακά και ψυχανθή), είναι οι κύριες καλλιέργειες διατροφής των ανθρώπων, στις οποίες μάλιστα δεν μπορούν να εφαρμοστούν με ευκολία οι μέθοδοι του αγροβακτηρίου (Ledue και συν., 1992).

2.1.3.1 Ιστοκαλλιέργεια – Κυτταροκαλλιέργεια

Η ιστοκαλλιέργεια είναι ένας τρόπος αγενούς πολλαπλασιασμού των φυτών ή τμημάτων αυτών. Κατά την ιστοκαλλιέργεια αποσπώνται μικρά φυτικά μέρη από ένα φυτό, όπως τμήματα ιστών, γύρη, ανθήρες, οφθαλμοί, κύτταρο ή τμήματα από οποιοδήποτε σημείο του φυτού και τοποθετούνται σε τεχνητό, αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα, υπό ασηπτικές συνθήκες σε ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ικανότητα που έχουν τα φυτικά κύτταρα να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται σε φυτικά όργανα ή να εξελίσσονται σε πλήρη φυτά,

πανομοιότυπα με το αρχικό, με τη βοήθεια διαφόρων ορμονών, σε συνδυασμό με τις ευνοϊκές συνθήκες που παρέχει σε αυτά το θρεπτικό υπόστρωμα και τη βοήθεια του σωστού φωτισμού και της κατάλληλης θερμοκρασίας που τους παρέχουμε. Με την ιστοκαλλιέργεια είναι δυνατή η εξοικονόμηση χώρου, χρήματος και ενέργειας, εφόσον υπάρχει σε σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλος αριθμός φυτών που είναι υγιή και πανομοιότυπα με το αρχικό και τέλος γίνεται δυνατός ο πολλαπλασιασμός φυτών, που συχνά πολλαπλασιάζονται δύσκολα με τις κλασικές μεθόδους (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η ιστοκαλλιέργεια σήμερα έχει πολλές εφαρμογές, ειδικά στην γενετική βελτίωση. Μερικές από αυτές είναι οι παρακάτω:

A) Ο μικροπολλαπλασιασμός: Εξασφαλίζεται μεγάλος αριθμός φυτών σε μικρό χρονικό διάστημα ενώ δεν υπάρχει περιορισμός όσον αφορά την εποχή του έτους που αποκτώνται τα φυτά.

B) Απαλλαγή από ιούς και παθογόνα: Καλλιεργείται το κορυφαίο μερίστωμα, το οποίο παραμένει απαλλαγμένο από ιούς και έτσι αποκτώνται φυτά υγιή.

Γ) Συντήρηση γενετικού υλικού: Οι λεγόμενες τράπεζες γενετικού υλικού στις οποίες είναι δυνατή η συντήρηση φυτικού υλικού σε περιορισμένο χώρο με μικρό κόστος.

Δ) Διάσωση εμβρύων: Σε περιπτώσεις όπου παρατηρείται επιτυχής γονιμοποίηση, αλλά τα έμβρυα αποτυγχάνουν να αναπτυχθούν, τα ανώριμα ζυγωτικά έμβρυα καλλιεργούνται σε κατάλληλα θρεπτικά υποστρώματα αναγεννώντας νέα υβριδικά φυτά.

Ε) Μελέτη του φυτικού μεταβολισμού: Γίνεται μελέτη βιοχημικών και φυσιολογικών φαινομένων του φυτού, π.χ. μελέτη της σύνθεσης των πρωτεϊνών, των κυτταρικών τοιχωμάτων, της ενζυμικής δράσης.

Στ) Τροποποίηση φυτών με σωμακλωνική παραλλακτικότητα: Συχνά, τα φυτά που αναγεννώνται από ιστοκαλλιέργεια, με την παρεμβολή ενδιάμεσου σχηματισμού κάλου, εμφανίζουν φαινοτυπικούς ή βιοχημικούς χαρακτήρες, διαφορετικούς από το αρχικό μητρικό υλικό. Το φαινόμενο αυτό, της ποικιλομορφίας που παράγεται μέσω ιστοκαλλιέργειας, ονομάζεται σωμακλωνική παραλλακτικότητα (somaclonal variation) και χαρακτηρίζει όλα τα συστήματα αναγέννησης φυτών που περιλαμβάνουν σχηματισμό όγκου (αναγέννηση από πρωτοπλάστες, κάλλους και κύτταρα ή από καλλιεργούμενα έκφυτα όπως ανώριμα έμβρυα, φύλλα, βλαστούς, ρίζες, ανθήρες και ωοθήκες). Η κύρια πηγή της σωμακλωνικής παραλλακτικότητας φαίνεται να είναι οι αναδιατάξεις του γενετικού υλικού και οι μεταλλάξεις που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της διαίρεσης των καλλιεργούμενων κυττάρων. Τέτοιες γενετικές αλλαγές είναι χρήσιμες σε προγράμματα βελτίωσης φυτών που αποσκοπούν στην επιλογή φυτικών γενοτύπων με χρήσιμους αγρονομικούς χαρακτήρες, αφού αποτελούν νέα πηγή γενετικής ποικιλότητας. Η σωμακλωνική παραλλακτικότητα χρησιμοποιείται σήμερα στη βελτίωση των ιδιοτήτων πολλών καλλιεργούμενων φυτικών ειδών (σακχαροκάλαμο, πατάτα, δημητριακά, καπνός, καρότο κ.α.) (Χατζόπουλος Π., 2001).

2.1.3.2 Η βαλλιστική μέθοδος

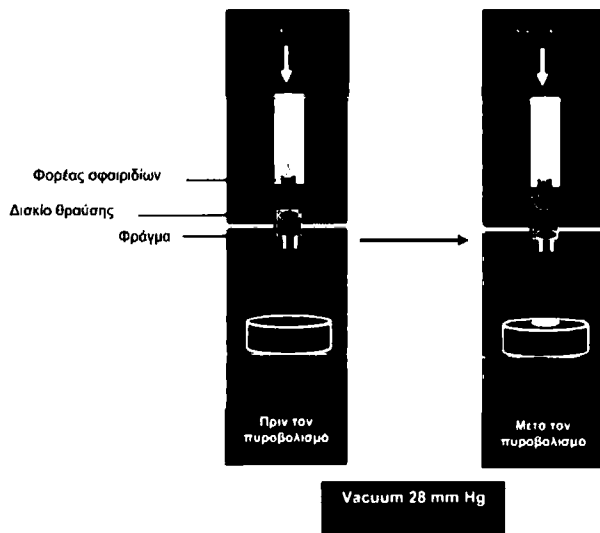
Η βαλλιστική μέθοδος έχει αναπτυχθεί στη δεκαετία του 60' στην προσπάθεια να τραυματιστούν φυτικά κύτταρα για μόλυνση και εισαγωγή ιϊκών σωματιδίων ή νουκλεϊκών οξέων (Oksman-Caldentey and Barz, 2002). Αργότερα, ερευνητές του Πανεπιστημίου του Cornell ανέπτυξαν μηχανισμούς που επιτάχυναν σωματίδια βολφραμίου (διαμέτρου 1-4μm) με ταχύτητα 250m/s, ικανή να διαπερνά το κυτταρικό τοίχωμα και τις μεμβράνες του κυττάρου. Τα πρώτα πειράματα σε επιδερμικά κύτταρα κρεμμυδιού με σωματίδια βολφραμίου έδειξαν ότι, όταν χρησιμοποιήθηκαν σωματίδια καλυμμένα με ιϊκό RNA του ιού του μωσαϊκού του καπνού (TMV-RNA), το 40% των

κυττάρων ανέπτυξαν ευδιάκριτα κρυσταλλικά εγκλείσματα υποδεικνύοντας την έκφραση του ιού νουκλειικού οξέος. Έτσι, αναγνωρίστηκε από την πρώτη κιόλας στιγμή ότι ο μηχανισμός του βομβαρδισμού σωματιδίων θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και για την μεταφορά άλλων βιομορίων όπως πρωτεϊνών, ενζύμων, γενετικού υλικού ή και συνθετικών μακρομορίων (Oksman-Caldentey and Barz, 2002). Από τότε έως και σήμερα ένας μεγάλος αριθμός πειραματικών δεδομένων έχει δείξει ότι τα γονίδια-μάρτυρες, κυρίως β-γλουκουρονιδάση, εκφράζονται παροδικά σε βομβαρδισμένα κύτταρα *Arabidopsis*, καπνού, καλαμποκιού, σιταριού, ρυζιού, ελαιοκράμβης, κριθαριού, κ.α. Η παροδική έκφραση των γονιδίων-μαρτύρων αλλά και των γονιδίων των φυτών που βομβαρδίστηκαν σε φυτά εξαρτιόνταν άμεσα από τον τύπο των κυττάρων, το αναπτυξιακό στάδιο των κυττάρων, καθώς και τον υποκινητή που χρησιμοποιούνταν. Έτσι τα βομβαρδισμένα κύτταρα παρ' όλο που εξ ορισμού υφίστανται ένα ισχυρό τραυματισμό ή τουλάχιστον κάποιο σοκ, εν τούτοις ανταποκρίνονται φυσιολογικά, αποδεικνύοντας την δυναμικότητα αλλά και την αποτελεσματικότητα των πειραμάτων βομβαρδισμού σωματιδίων σε ολόκληρα φυτά ή μεμονωμένους ιστούς ή κύτταρα. Η έκφραση των γονιδίων-μαρτύρων εξαρτιόνταν άμεσα από την παρουσία μετάλλου του μικροσωματιδίου είτε στον πυρήνα είτε πολύ κοντά σ' αυτόν. Έτσι η τελική θέση του μικροσωματιδίου μέσα στο κύτταρο είναι πολύ ουσιαστική (Χατζόπουλος Π., 2001).

Σήμερα ο βομβαρδισμός σωματιδίων χρησιμοποιείται ευρύτατα για την εισαγωγή DNA και παραγωγή και διάθεση κάποιου προϊόντος ή για μελέτη σε βακτήρια, μύκητες, φύκη, ανώτερα φυτά και ζώα. Στα φυτά ο σταθερός μετασχηματισμός και η παραγωγή διαγονιδιακών φυτών έχει επιτευχθεί σε διάφορους ιστούς και όργανα ενώ η παραγωγή διαγονιδιακών φυτών έχει επιτευχθεί σε τελείως διαφορετικά φυτά και δέντρα όπως σακχαρότευτλο, σιτάρι, ρύζι, παπάγια λευκή και καλαμπόκι (Oksman-Caldentey and Barz, 2002). Το τελικό αποτέλεσμα του βομβαρδισμού των σωματιδίων είναι η μεταφορά και έκφραση του γονιδίου ή γονιδίων. Στην τεχνική του βομβαρδισμού σωματιδίων το πρώτο μέρος είναι η φυσική παράμετρος ενώ το δεύτερο μέρος είναι η βιολογική διάσταση της μεθοδολογίας. Η επιτάχυνση των μικροσωματιδίων επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους όπως με παλμούς αερίου, με ηλεκτρική εκκένωση υψηλής τάσης ή με πυρίτιδα. Η επιτάχυνση πρέπει να είναι τέτοια ώστε τα μικροσωματίδια να αποκτήσουν μια ταχύτητα περίπου 300m/s ώστε να εισχωρήσουν μέσω κυτταρικών τοιχωμάτων στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα (Oksman-Caldentey and Barz, 2002). Έχουν σχεδιαστεί φορητές συσκευές με παλμούς αερίων οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά DNA ακόμη και στον αγρό. Γενικά, οι συνθήκες βομβαρδισμού πρέπει να είναι ασφαλείς μιας και τα σωματίδια επιταχύνονται με μεγάλες ταχύτητες που ισοδυναμούν με σφαίρες. Ο σχεδιασμός των συσκευών θα πρέπει να γίνεται με ασφαλή τρόπο, ώστε η λειτουργία τους να αποκλείει οποιοδήποτε ατύχημα. Η ταχύτητα των σωματιδίων πρέπει να είναι ρυθμιζόμενη μιας και οι συνθήκες για τον αόριστο βομβαρδισμό εξαρτώνται από το είδος των κυττάρων ή του ιστού που θα τραυματιστούν. Η ακρίβεια των παραμέτρων, κυρίως της ταχύτητας όταν η συσκευή έχει οριστεί στις συγκεκριμένες θέσεις, είναι πολύ ουσιαστική (Old and Primrose, 2000). Είναι γνωστό ότι τα αποτελέσματα του βομβαρδισμού σωματιδίων ποικίλουν μεταξύ τους όταν επαναλαμβάνονται βομβαρδισμοί στις ίδιες συνθήκες. Ο σταθερός μετασχηματισμός κάποιων ιστών ή κυττάρων σε συνδυασμό με την αναγέννηση δύναται να οδηγήσει σε διαγονιδιακά φυτά με σταθερή επαναληψιμότητα. Το ποσοστό των φυτών αυτών μπορεί να διαφέρει και αυτό μπορεί να οφείλεται και στη μεταχείριση των κυττάρων ή ιστών στην περαιτέρω διαδικασία που μπορεί να συμπεριλαμβάνει και τεχνικές κυτταροκαλλιέργειας. Είναι κατανοητό ότι έστω και μερικές προσμίξεις με ξένο προς το επιθυμητό DNA μεταφοράς ή μόλυνσεις από άλλα σωματίδια μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα. Άρα, θα πρέπει να λαμβάνεται αρκετά καλή φροντίδα στην 'καθαρότητα' της συσκευής. Σε όλες όμως τις περιπτώσεις απαιτείται γονιδιακή μεταφορά σε μεγάλο ποσοστό αλλά ταυτόχρονα ελαττωμένη κυτταρική θνησιμότητα (Old and Primrose, 2000).

Η νέκρωση των κυττάρων μετά τον βομβαρδισμό, φυσικά δεν είναι ανεξάρτητη της ταχύτητας, του μεγέθους και της χημικής σύστασης των μικροσωματιδίων. Όμως, αυτές οι παράμετροι θεωρούνται «ανεξάρτητες». Γενικά, τα κύτταρα μπορούν να ανταπεξέλθουν και να «επισκευάσουν» τον τραυματισμό που προέρχεται από τη διείσδυση ενός σωματιδίου κατά τη διάρκεια του βομβαρδισμού. Όμως, ορισμένες συνθήκες βομβαρδισμού για ένα συγκεκριμένο ιστό ή κυτταρική σειρά μπορούν να δημιουργήσουν αποδιοργάνωση και κυτταρικό θάνατο. Αυτό μπορεί να συμβεί είτε λόγω θρυμματισμού των σωματιδίων είτε λόγω των ωστικών κυμάτων. Το αποτέλεσμα είναι η νέκρωση της κεντρικής περιοχής, της περιοχής του ιστού που δέχεται τη μεγαλύτερη «πίεση» και που ορισμένες φορές ονομάζεται ζώνη θνησιμότητας (Oksman-Caldentey and Barz, 2002). Ορισμένες τροποποιήσεις των συσκευών και τοποθετήσεις ορισμένων δικτυωτών πλεγμάτων περιορίζουν κατά πολύ τον κυτταρικό θάνατο. Η σύσταση οποιουδήποτε ιστού ενός φυτού είναι διαφορετική. Έτσι, η σύσταση αυτή απαιτεί αλλαγές στις ταχύτητες των σωματιδίων για βέλτιστο ποσοστό μετασχηματισμού που εξαρτάται κυρίως από το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος και τη διαπερατότητα αρκετών κυτταρικών επιπέδων μέχρι του κυττάρου που θα μπορέσει να αναγεννήσει το φυτό. Η ταχύτητα ρυθμίζεται από την επιτάχυνση, την απόσταση του στόχου και από το κενό. Η χημική σύσταση των σωματιδίων θα πρέπει να ελαχιστοποιεί τις αντιδράσεις με τη συσκευή αλλά και με το DNA και με το κύτταρο. Οι αντιδράσεις που δημιουργούνται προέρχονται από τις αλληλεπιδράσεις του ιστού με τα σωματίδια του βομβαρδισμού και είναι φυσικής, χημικής και βιολογικής σύστασης. Το DNA αλλά και οι άλλες χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται δεν θα πρέπει να αντιδρούν με το υλικό των σωματιδίων το οποίο θα πρέπει να είναι βιολογικά - βιοχημικά ανενεργό και μη τοξικό (Old and Primrose, 2000). Επίσης, το μέγεθος των σωματιδίων επηρεάζει το μετασχηματισμό και τη γονιδιακή μεταφορά. Η μικρή διάμετρος συνεπάγεται υψηλότερη πυκνότητα ώστε να επιτευχθεί η ορμή που απαιτείται για τη διείσδυση του κυτταρικού τοιχώματος (Χατζόπουλος Π., 2001. Oksman-Caldentey and Barz, 2002).

Η μέθοδος βασίζεται στην είσοδο DNA σε φυτικά κύτταρα χρησιμοποιώντας πυκνά μικροσκοπικά σφαιρίδια καλυμμένα με μόρια DNA, τα οποία σωματίδια επιταχύνονται προς τα φυτικά κύτταρα με τη χρήση αερίου ή ηλεκτρικής ώσης (Christou, 1994) (σχήμα 3). Τα σφαιρίδια είναι από χρυσό ή βολφράμιο, σήμερα όμως χρησιμοποιείται κυρίως ο χρυσός ο οποίος είναι ανενεργός, σε αντίθεση με το βολφράμιο. Το μέγεθος των σφαιριδίων ποικίλει από 0,4μm έως 1,2μm. Όμως όσο μικρότερα είναι τα σωματίδια τόσο μικρότερη και η ζημιά που προκαλούν στους ιστούς. Ως έκφυτα με τη μέθοδο αυτή μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα είδη ιστών, αρκεί να είναι ικανά για αναγέννηση.



Σχήμα 3: Σχηματική αναπαράσταση της εκτόξευσης των μικροσφαιριδίων

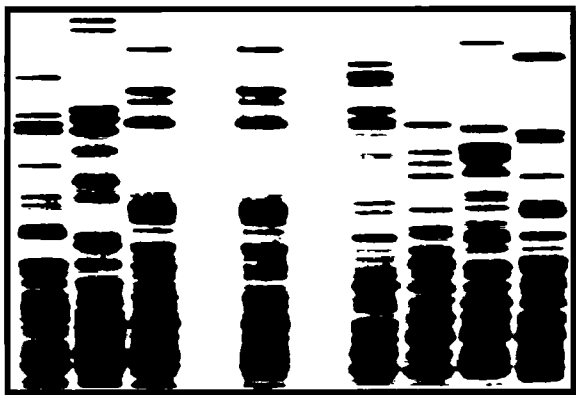
Πηγή: Christou, 1994

2.1.3.3 Μέθοδοι μετασχηματισμού φυτικών πρωτοπλαστών

Πέραν της βαλλιστικής μεθόδου η οποία μπορεί και αυτή να χρησιμοποιηθεί για τον μετασχηματισμό φυτικών πρωτοπλαστών, υπάρχει η μέθοδος της ηλεκτροδιάτρησης. Η μέθοδος αυτή, βασίζεται στην αρχή ότι μια ηλεκτρική ώση σύντομης διάρκειας και υψηλής τάσης προκαλεί προσωρινή δημιουργία πόρων στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Οι πόροι επιτρέπουν την είσοδο βιολογικών μακρομορίων στο εσωτερικό των κυττάρων (Neuman και Rosenheck, 1972). Η ηλεκτροδιάτρηση ως μέθοδος γενετικής τροποποίησης αναπτύχθηκε πρώτα στα βακτήρια και τη ζύμη και αργότερα σε φυτικούς πρωτοπλάστες. Πρωτοπλάστες είναι τα φυτικά κύτταρα τα οποία έχουν χάσει το κυτταρικό τους τοίχωμα. Η μέθοδος αυτή ήταν η πρώτη άμεση μέθοδος γενετικής τροποποίησης φυτικών κυττάρων (Foerster και Neuman, 1989).

Μία ακόμη αποτελεσματική μέθοδος μετασχηματισμού φυτικών πρωτοπλαστών είναι η μέθοδος που περιελάμβανε τη χρήση της ουσίας PEG (Polyethylene glycol), για την γενετική τροποποίηση πρωτοπλαστών καπνού και πετούνιας με το T-DNA του αγροβακτηρίου (Krens και συν., 1982). Η μέθοδος γενετικής τροποποίησης πρωτοπλαστών περιλαμβάνει τη χρήση της PEG σε συνδυασμό με δισθενή κατιόντα Ca^{++} και Mg^{++} . Η PEG είναι ένα μακράς αλυσίδας ισχυρά υδρόφιλο πολυμερές που σε υψηλές συγκεντρώσεις (15 - 20 %) κατακρημνίζει ιοντικά μακρομόρια όπως το DNA. Η άμεση πρόσληψη DNA από πρωτοπλάστες είναι ένα αποτελεσματικό σύστημα γενετικής τροποποίησης. Ακόμη και σήμερα δεν είναι απόλυτα κατανοητός ο μηχανισμός πρόσληψης του DNA, φαίνεται όμως ότι σχετίζεται με την υψηλή ωσμωτική πίεση που δημιουργείται με την παρουσία της PEG. Την πρόσληψη του DNA από τους πρωτοπλάστες ακολουθεί παραμονή των πρωτοπλαστών σε κανονικό μέσο ανάπτυξης πρωτοπλαστών. Μόλις αρχίσει η δημιουργία του κυτταρικού τοιχώματος και οι κυτταροδιαιρέσεις, τότε οι πρωτοπλάστες μεταφέρονται σε κανονικό μέσο ανάπτυξης, σε μικρότερες όμως πυκνότητες. Το στάδιο αυτό είναι το δυσκολότερο και κυρίως το στάδιο αναγέννησης ολόκληρων φυτών από τους πρωτοπλάστες (Paszkowski και συν., 1984).

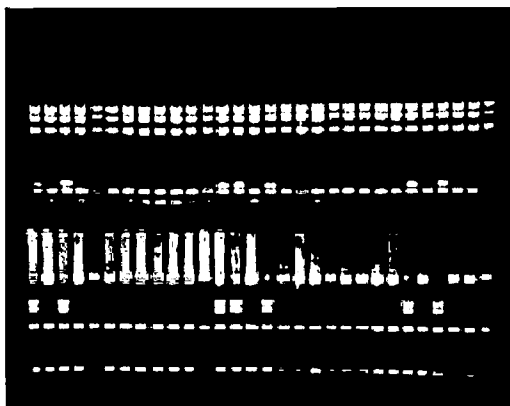
SSRs (Simple Sequence Repeats). Η διαδικασία παραγωγής των RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) ξεκινάει με την απομόνωση και την αναπαραγωγή τμημάτων DNA, μεγέθους 0.5-5kb, με PCR, το διαχωρισμό των τμημάτων DNA με ηλεκτροφόρηση αгарόζης και την ανίχνευση πολυμορφισμού μετά από χρώση βρωμιούχου αιθιδίου χρησιμοποιώντας υπεριώδη ακτινοβολία (Χατζόπουλος, 2001, Old and Primrose, 2000).



Εικόνα 9: Μινιδουρφόροι όπως φαίνονται σε φιλμ αυτοραδιογραφίας.

Πηγή: Old and Primrose, 2000

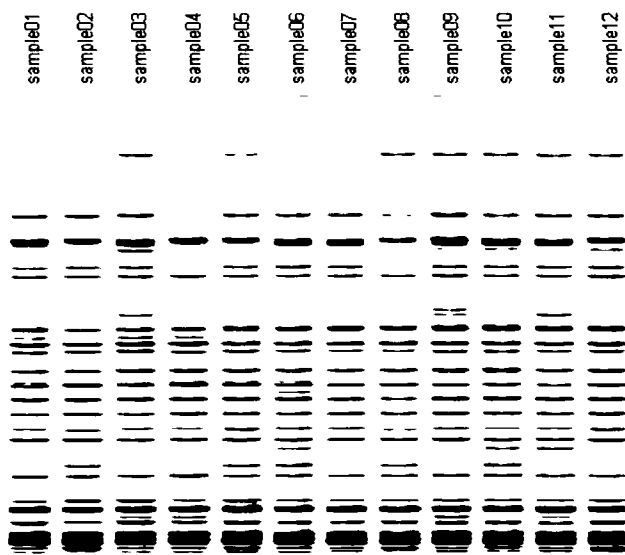
Τα πλεονεκτήματα των RAPDs είναι ότι για την εφαρμογή τους απαιτείται χαμηλή συγκέντρωση DNA, 5-50ng για κάθε αντίδραση, ενώ οι αλληλουχίες των εκκινητών που χρησιμοποιούνται είναι τυχαίες. Η δοκιμή γίνεται εύκολα και γρήγορα, με χαμηλό κόστος. Δείκτες RAPD υπάρχουν άφθονοι και τυχαία διασκορπισμένοι στο γονιδίωμα. Σε κάθε αντίδραση παράγονται συνήθως πολλές ζώνες, ενώ υπάρχει η δυνατότητα αυτοματισμού τους. Τα μειονεκτήματά τους είναι ότι απαιτούν καθαρό DNA, μεγάλου μοριακού βάρους. Επίσης απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή για την αποφυγή μολύνσεων και κανονικοποίηση των συνθηκών της αντίδρασης, ενώ οι ζώνες που αναπαράγονται δεν μπορούν να αποδοθούν σε γενετικούς τόπους και αλληλομόρφους. Τέλος παράγουν κυρίαρχους αλληλόμορφους, έχουν μικρή επαναληψιμότητα, ενώ τμήματα ίδιου μεγέθους μπορεί να μην είναι ομόλογα (Χατζόπουλος Π., 2001, Old and Primrose, 2000).



Εικόνα 10: Δείγματα RAPDs, με βάση τα οποία μπορούν να εντοπισθούν ομοιότητες και διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

Πηγή: Old and Primrose, 2000

Η διαδικασία παραγωγής των AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ξεκινάει με την απομόνωση και πέψη του DNA καθώς και την επιλεκτική ενίσχυση μια υποομάδας τμημάτων που έχουν παραχθεί μετά από την πέψη του γονιδιωματικού DNA με ένζυμα περιορισμού από ένα πολυσύνθετο σύνολο τμημάτων DNA του γονιδιώματος. Κατόπιν γίνεται με PCR, επιλεκτική αναπαραγωγή τμημάτων DNA και διαχωρισμός του με ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμίδης. Η ανίχνευση των ζωνών που προκύπτουν γίνεται με αυτοραδιογραφία, χρώση με άργυρο, ή φθορισμό. Οι εκκινητές δεν χρειάζεται να έχουν γνωστή αλληλουχία (Χατζόπουλος Π., 2001, Old and Primrose, 2000). Οι AFLPs βρίσκονται άφθονοι, διασκορπισμένοι στο γονιδίωμα, αν και σε μερικές περιπτώσεις εντοπίζονται γύρω από τα κεντροσωμάτια. Μπορεί να γίνει αναπαραγωγή πολλών «ζωνών» σε κάθε αντίδραση. Τα αποτελέσματα είναι επαναλήψιμα και υπάρχει η δυνατότητα αυτοματισμού. Απαιτούν όμως πολύ καθαρό DNA, μεγάλου μοριακού βάρους. Το προφίλ DNA δεν μπορεί να ερμηνευθεί σχετίζοντας αλληλόμορφους και γενετικούς τόπους. Είναι κυρίαρχοι αλληλόμορφοι, ενώ παρόμοιοι μεγέθους τμήματα, μπορεί να μην είναι ομόλογα (Χατζόπουλος Π., 2001, Old and Primrose, 2000).



**Εικόνα 11: Προφίλ AFLP δεικτών. Είναι χαρακτηριστική η πληθώρα των ζωνών που υπάρχουν σε κάθε δείγμα.
Πηγή: Old and Primrose, 2000**

Οι μινιδουρφόροι παράγονται με απομόνωση, πέψη και διαχωρισμό των τμημάτων DNA, μεγέθους 4-20kb, με ηλεκτροφόρηση αγαρόζης, υβριδοποίηση κατά Southern με ραδιοσημασμένο μινιδουρφορικό ιχνηλάτη και ανίχνευση πολυμορφισμού με αυτοραδιογραφία. Οι μινιδουρφόροι έχουν υψηλό βαθμό πολυμορφισμού, παράγουν πολλές ζώνες, ενώ τα αποτελέσματά της εφαρμογής τους είναι επαναλήψιμα. Απαιτούν όμως μεγάλες συγκεντρώσεις DNA, 5-10μg, μεγάλου μοριακού βάρους και έχουν μεγάλο κόστος εφαρμογής. Η διαδικασία παραγωγής τους είναι χρονοβόρα και απαιτεί επιδεξιότητα. Η διασπορά των μινιδουρφόρων στο γονιδίωμα μπορεί να μην είναι τυχαία. Οι ζώνες που παράγουν δεν μπορεί να αποδοθούν σε γενετικούς τόπους και αλληλομόρφους. Είναι κυρίαρχοι αλληλόμορφοι, ενώ ζώνες ίδιου μεγέθους μπορεί να μην είναι ομόλογες. Επίσης είναι δύσκολο να συγκρίνει κανείς πολυμορφισμούς σε διαφορετικά πηκτώματα, ενώ δεν επιδέχονται αυτοματισμό (Χατζόπουλος Π., 2001, Old and Primrose, 2000).

Οι μικροδουρφόροι ή αλλιώς SSRs (Simple Sequence Repeats), παράγονται μετά από απομόνωση και αναπαραγωγή τμημάτων DNA με PCR (Polymerase chain reaction). Ο διαχωρισμός «ζωνών» γίνεται με ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμίδης ή αγαρόζης και η ανίχνευση του

πολυμορφισμού με αυτοραδιογραφία, χρώση με άργυρο, φθορισμό, ή χρώση με βρωμιούχο αιθίδιο και χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας. Η εφαρμογή μικροδορυφόρων απαιτεί χαμηλή συγκέντρωση DNA, 10-100ng/αντίδραση, με την οποία παράγονται «ζώνες» που μπορούν να αποδοθούν σε γενετικούς τόπους και αλληλομόρφους. Μικροδορυφόροι βρίσκονται σε αφθονία και διασκορπισμένοι στο γονιδίωμα. Είναι συγκυρίαρχοι αλληλόμορφοι, δίνουν επαναλήψιμα αποτελέσματα, και υπάρχει η δυνατότητα εφαρμογής αυτοματισμού στην παραγωγή τους. Δυστυχώς αν δεν υπάρχουν γνωστοί εκκινητές, το κόστος τους είναι υψηλό. Επίσης ετερόζυγα άτομα μπορεί να θεωρηθούν ομόζυγα, όταν εμφανίζονται «μηδενικά» αλληλόμορφα, εξαιτίας μετάλλαξης σε θέση πρόσδεσης εκκινητή, ενώ «λάθος» ζώνες δυσχεραίνουν την βαθμολόγηση του πολυμορφισμού. Δεν είναι κυρίαρχοι αλληλόμορφοι. Παρόμοιου μεγέθους τμήματα, μπορεί να μην είναι ομόλογα (Χατζόπουλος Π., 2001, Old and Primrose, 2000).

Οι μοριακοί δείκτες έχουν πολλές εφαρμογές στη βελτίωση φυτών. Χρησιμοποιώντας μοριακούς δείκτες που είναι στενά συνδεδεμένοι, ή βρίσκονται μέσα σε έναν ή περισσότερους γενετικούς τόπους ποσοτικών χαρακτήρων QTL (Quantitative trait loci) η επιλογή γίνεται περισσότερο αποτελεσματική (marker-assisted selection). Άλλη εφαρμογή αποτελεί η ενσωμάτωση γονιδίων από άγρια είδη με την βοήθεια δεικτών (marker assisted introgression). Επίσης, οι μοριακοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες γενετικής ποικιλομορφίας και ταξινομικών /φυλογενετικών αναλύσεων διαφορετικών φυτικών ειδών ή πληθυσμών συγκεκριμένων ειδών. Τέλος μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε μελέτες βιολογικών διεργασιών, όπως ο τρόπος αναπαραγωγής, ο διασκορπισμός της γύρης, ή των σπόρων κ.α. (Old and Primrose, 2000).

3. Εφαρμογές και Προστασία

Η φυτοπροστασία αποτελεί ένα κλάδο τεράστιας οικονομικής σημασίας, δεδομένου ότι οι ζημιές που προκαλούνται στην ετήσια, παγκόσμια φυτική παραγωγή, από την δράση των διαφόρων βιοτικών φυτοπαθογόνων αιτιών, είναι αντίστοιχης οικονομικής αξίας. Κατά συνέπεια, έχουν καταβληθεί κατά καιρούς διάφορες προσπάθειες και έχει δοκιμαστεί πλήθος διαφορετικών προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση του προβλήματος. Παρά τούτα δεν έχει αναπτυχθεί μέχρι σήμερα καμία απολύτως ικανοποιητική λύση. Στα πλαίσια αυτών των προσπαθειών εντάσσεται και η κατασκευή χημικών ή διαγονιδιακών φυτών. Βέβαια η κατασκευή διαγονιδιακών φυτών δεν περιορίζεται αποκλειστικά στην αντιμετώπιση προβλημάτων φυτοπροστασίας και μόνο, αλλά και για την αντιμετώπιση θεωρητικών βιολογικών, ή άλλων, πρακτικών βιοτεχνολογικών προβλημάτων. Έτσι η χρήση τους έχει διαδοθεί σε ευρεία κλίμακα τις τελευταίες δεκαετίες, ώστε μας υποχρεώνει να περιοριστούμε σ' εκείνο το τμήμα τους μόνο, που αναφέρεται στην φυτοπροστασία από ιούς και μικροοργανισμούς (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

3.1 Δημιουργία φυτών ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα

Η χρήση ζιζανιοκτόνων αποτελεί σήμερα μια αναπόφευκτη εφαρμογή στη γεωργία. Επιτρέπει, ταυτόχρονα, καλύτερο οικονομικό έλεγχο των ζιζανίων και αποτελεσματικότερο τρόπο καταπολέμησης τους σε μεγάλο βαθμό. Η απώλεια της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής λόγω των ζιζανίων υπερβαίνει το 10%, παρ' όλο που το κόστος χρήσης των 100 περίπου διαφορετικών ζιζανιοκτόνων ανέρχεται σε δισεκατομμύρια ευρώ. Αν και αρκετές χημικές ενώσεις που είναι χρήσιμες στη γεωργία είναι σχετικά ασφαλείς λόγω της βιοαποικοδόμησής τους ή είναι μη τοξικές στα ζώα, οι περισσότερες μολύνουν το περιβάλλον ή έχουν την ίδια επίδραση στα ζιζάνια όπως και στα φυτά. Η στρατηγική της δημιουργίας φυτών ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα δεν αντιμετωπίζει ολοκληρωμένα το πρόβλημα των ζιζανιοκτόνων, αλλά παρέχει μια λύση, ιδιαίτερα από τη μεριά των φυτών, ενάντια στις χημικές αυτές ενώσεις (Χατζόπουλος Π., 2001).

Λύση στο πρόβλημα αυτό έχουν δώσει οι μέχρι τώρα διαθέσιμες πληροφορίες που διευκρινίζουν τον τρόπο δράσης αρκετών ζιζανιοκτόνων, μαζί με τις ερευνητικές δραστηριότητες ταυτοποίησης οργανισμών ανθεκτικών στις χημικές αυτές ενώσεις. Το παραπάνω, σε συνδυασμό με την πρόοδο που έχει επιτευχθεί στη μοριακή ανάλυση των γονιδιωμάτων των φυτών και της ικανότητας της μεταφοράς γονιδίων, ακόμη και από διαφορετικούς οργανισμούς στα φυτά, όπως επίσης και το γεγονός ότι αρκετά «γονιδιακά προϊόντα» έχουν επικρατή κληρονομικά χαρακτηριστικά, έχουν βοηθήσει στη δημιουργία φυτών ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα (Χατζόπουλος Π., 2001).

Πολλά από τα ζιζανιοκτόνα μολύνουν το περιβάλλον, παραμένουν και αυξάνονται σωρευτικά στο έδαφος και στο νερό, ενώ άλλα είναι τοξικά για τα ζώα. Η διευρυμένη χρήση χημικών ενώσεων, φιλικών προς το περιβάλλον, με σκοπό την καταπολέμηση ευρύτερου φάσματος ζιζανίων, θα αποτελέσει μια εναλλακτική και ελπιδοφόρα λύση. Μια άλλη εναλλακτική προσέγγιση στο πρόβλημα είναι δυναμικά ο μοριακός χειρισμός νέων 'γονιδιακών προϊόντων' ανθεκτικών σε μια νέα, ευρέως φάσματος, ομάδα ζιζανιοκτόνων. Η παροχή ανθεκτικότητας στα φυτά σε ευρέως φάσματος ζιζανιοκτόνα επιτρέπει την χρήση και την επιλογή χημικών ενώσεων που είναι περιβαλλοντικά αποδεκτές και δεν επιδεικνύουν καμία τοξικότητα (Χατζόπουλος Π., 2001).

Πολλά ζιζανιοκτόνα ασκούν τη δράση τους απενεργοποιώντας πρωτεΐνες (συνήθως ένζυμα) φυτικών βιοσυνθετικών μονοπατιών ή φωτοσύνθεσης, που εν γένει είναι λειτουργίες ζωτικής σημασίας για τα φυτά. Για το λόγο αυτό, μερικά ζιζανιοκτόνα είναι μη επιλεκτικά ως προς τη δράση τους σε καλλιεργούμενα φυτά και ζιζάνια. Άλλα ζιζανιοκτόνα μπορούν να χρησιμοποιηθούν επιλεκτικά σε «ανθεκτικά φυτά». Η ανθεκτικότητα αυτή προέρχεται, κυρίως από διαφορετική λήψη ή διαφορετικό μεταβολισμό του ζιζανιοκτόνου από το καλλιεργούμενο φυτό ή από την ακριβή χρονική εφαρμογή του ζιζανιοκτόνου (Χατζόπουλος Π., 2001).

Σήμερα έχουν αναπτυχθεί δύο στρατηγικές που παρέχουν στα φυτά ανθεκτικότητα σε ζιζανιοκτόνα: α) Η εισαγωγή γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα ή ενζυμικά συστήματα που αποδομούν ή αποτοξινώνουν τη χημική ένωση, πριν τη δράση μέσα στο φυτικό κύτταρο, και β) η τροποποίηση γονιδίου που κωδικοποιεί ένζυμα φυτών ή άλλα ευαίσθητα βιοχημικά προϊόντα – στόχους του ζιζανιοκτόνου, ελαττώνοντας την ικανότητα του ζιζανιοκτόνου να συνδεθεί με την πρωτεΐνη – στόχο προσδίδοντας έτσι την ανεκτικότητα στη χημική ένωση. Μια εναλλακτική προσέγγιση της στρατηγικής αυτής είναι η υπερπαραγωγή της φυσιολογικής μη τροποποιημένης πρωτεΐνης (ενζύμου), επιτρέποντας έτσι το μεταβολισμό του φυτού σε ικανοποιητικά επίπεδα, ανεξάρτητα της παρουσίας ή απουσίας του ζιζανιοκτόνου. Δυνητικά η στρατηγική της δημιουργίας φυτών που βιολογικά αναστέλλουν την εισαγωγή του ζιζανιοκτόνου στο φυτικό κύτταρο είναι μια άλλη εναλλακτική λύση. Τα διαγονιδιακά φυτά που έχουν τα χαρακτηριστικά αυτά μπορούν να επιλεγούν, είτε λόγω ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα, είτε λόγω ανθεκτικότητας σε διάφορα αντιβιοτικά. Η δεύτερη όμως προσέγγιση δεν προσθέτει κανένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό που να χρησιμοποιείται ή να αξιολογείται από τη γεωργία. Αντίθετα προσθέτει επιπλέον γονιδιακό φορτίο (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η πρώτη στρατηγική για την ανάπτυξη και δημιουργία φυτών ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα είναι η ταυτοποίηση ενζύμων που κωδικοποιούνται από γονίδια που εμπλέκονται στην αποτοξίνωση ζιζανιοκτόνων. Η χρήση των γονιδίων που κωδικοποιούν πολυπεπτίδια που εμπλέκονται στην αποτοξίνωση του ζιζανιοκτόνου, μπορεί να αποδειχθεί αρκετά ελπιδοφόρα, διότι τα ένζυμα αυτά όταν συντίθενται μέσα σε ευαίσθητα φυτά μπορούν απενεργοποιούν το ζιζανιοκτόνο πριν την αναστολή του βιοχημικού «στόχου» (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009).

Η προσέγγιση της αποτοξίνωσης έχει περισσότερα πλεονεκτήματα έναντι της στρατηγικής ανθεκτικότητας λόγω «τροποποιημένου στόχου» και προτιμάται όταν είναι άγνωστη η βιοχημική θέση δράσης ενός δεδομένου ζιζανιοκτόνου ή ακόμη όταν υπάρχει κάποια δυσκολία στη μοριακή μηχανική τροποποίησης του ενζύμου – στόχου. Όμως, τα γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα με τη δυνητική αποτοξίνωση ζιζανιοκτόνων θα πρέπει να τηρούν κάποιους κανόνες. Τα ένζυμα αποτοξίνωσης πρέπει να επιδεικνύουν απόλυτη εξειδίκευση για το ζιζανιοκτόνο ώστε όλες οι άλλες χημικές ενώσεις του φυτού που απαιτούνται για τη φυσιολογία και ανάπτυξη του να μη τροποποιούνται. Το ένζυμο θα πρέπει να κωδικοποιείται από ένα γονίδιο, να μην απαιτεί πολύπλοκα συνένζυμα για τη δράση ή αν απαιτεί βιομόρια, αυτά να βρίσκονται στο φυτικό κύτταρο, να επιδεικνύει καλή ενζυμική κινητική και το προϊόν της αντίδρασης να ασκεί ελάχιστη έως καθόλου τοξικότητα. Τα γονίδια αυτά μπορεί να προέρχονται από διάφορες πηγές όπως μικροοργανισμούς (βακτήρια, μύκητες, κ.τ.λ.) ή διάφορα είδη φυτών ανθεκτικών στα δεδομένα ζιζανιοκτόνα (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009).

Ο γενετικός και μοριακός χειρισμός είναι ευκολότερος στα βακτήρια απ' ότι στα φυτά και στις περισσότερες περιπτώσεις η αποσαφήνιση του μεταβολικού μονοπατιού και της βιοχημικής ταυτοποίησης και απομόνωσης ενός ενζύμου που αποδομεί ή αποτοξινώνει το ζιζανιοκτόνο, τον καθιστά ευκολότερο. Έτσι, η ανάκτηση γονιδίων ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα προσεγγίζεται μέσω της απομόνωσης τέτοιων γονιδίων από βακτήρια που αποδομούν τα ζιζανιοκτόνα. Είναι γνωστό ότι

πολλά ζιζανιοκτόνα βιομετατρέπονται πολύ γρήγορα σε περιβάλλον που έχει μολυνθεί από ζιζανιοκτόνα, προϋποθέτοντας την εμπλοκή μικροοργανισμών εδάφους (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009). Έχει αναφερθεί και αποδειχθεί ότι τα ένζυμα που κωδικοποιούνται από γονίδια βακτηρίων αυτούσια ή μετά από τροποποιήσεις, είναι λειτουργικά και στα διαγονιδιακά φυτά. Έτσι, οι θεωρήσεις αυτές δημιουργούν μια κατάλληλη βάση για τη χρήση βακτηριακών γονιδίων αποτοξίνωσης σαν καθοριστικοί παράγοντες για την ανθεκτικότητα των φυτών στα ζιζανιοκτόνα (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009). Ένας μεγάλος αριθμός βακτηρίων έχει σαρωθεί για την εξεύρεση γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα αποδόμησης ή αποτοξίνωσης ζιζανιοκτόνων. Το γονίδιο *tfdA* από το *Alcaligenes eutrophus* στέλεχος JMP134 κωδικοποιεί τη 2,4-διχλωροφαινολοξική μονοξυγενάση (DPAM) που αποδομεί το ζιζανιοκτόνο 2,4-D. Το ένζυμο αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα και καταλύει την απομάκρυνση του φαινολοξικού τμήματος του 2,4-D δημιουργώντας τον μεταβολίτη 2,4-διχλωροφαινόλη, που επιδεικνύει περιορισμένη φυτική τοξικότητα σε συγκεντρώσεις 10mg/l. Τα διαγονιδιακά φυτά καπνού που έχουν ενσωματώσει το χμιαϊκό γονίδιο με τον υποκινητή του γονιδίου 35S του ιού του μωσαϊκού του κουνουπιδιού CaMV (Cauliflower mosaic virus) κατασκευάζοντας έτσι την χίμαιρα 35S:*tfdA* επιδεικνύουν τρεις έως πέντε φορές μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο 2,4-D (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Η χρήση γονιδίων που απομονώνονται από μικροοργανισμούς, μεταφέρονται, ενσωματώνονται και εκφράζονται σε διαγονιδιακά φυτά, αποτελεί μια πολύ καλή στρατηγική διότι παρέχει στον αγρό πλήρη ανθεκτικότητα στα διάφορα ζιζανιοκτόνα (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009).

Αρκετά είδη φυτών αγρονομικού ενδιαφέροντος είναι φυσιολογικά ανεκτά σε εξειδικευμένα ζιζανιοκτόνα. Αυτή η ανεκτικότητα επιτρέπει τη χρήση των συγκεκριμένων ζιζανιοκτόνων στον επιλεκτικό έλεγχο των ζιζανίων, αξιοποιώντας έτσι τη διαφορική τοξικότητα, όπου ταυτόχρονα η παραγωγή παραμένει σε ικανοποιητικά επίπεδα. Η επιλεκτικότητα του ζιζανιοκτόνου στα αγρονομικά φυτά καθορίζεται από αρκετούς παράγοντες όπως η μετακίνηση, τους ρυθμούς απορρόφησης από το φυτό, την υποκυτταρική εναπόθεση, την ποικιλομορφία στην ευαισθησία του στόχου και τη βιοχημική αποτοξίνωση σε μη τοξικούς μεταβολίτες ή και από το συνδυασμό όλων των ανωτέρω. Η βιοχημική αποτοξίνωση αποτελεί ενδεχομένως τον πιο σπουδαίο παράγοντα, διότι τα γονίδια που κωδικοποιούν τέτοια ένζυμα μπορούν να διερευνηθούν και να μεταφερθούν σ' άλλα ευαίσθητα φυτά οικονομικού ενδιαφέροντος. Ένζυμα όπως οξειδάσες, αμιδάσες, αποκαρβοξυλάσες, και ενζυμικά συστήματα συζευγμένα με διάφορες ομάδες έχουν πιστοποιηθεί σε φυτικά είδη ανεκτικά στα ζιζανιοκτόνα (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009).

Ένα γνωστό παράδειγμα είναι η αποτοξίνωση της ατραζίνης και του αλαχλάρ από σειρές καλαμποκιού από το ένζυμο μεταφοράς της γλουταθειόνης. Το προϊόν της αντίδρασης δεν είναι τοξικό για το φυτικό κύτταρο και τελικά μεταβολίζεται περαιτέρω. Το ένζυμο βρίσκεται σε υψηλά ποσοστά μέσα στο κύτταρο. Στις τοματιές ανεκτικές στο metribuzin, η αποτοξίνωση εμπλέκει τη σύζευξη με τη UDP-γλυκόζη από μια N-γλυκοζυλομεταφοράση. Το ένζυμο στις ανεκτικές ποικιλίες έχει μεγαλύτερη δραστηριότητα απ' ό,τι στις ευαίσθητες. Σε ορισμένες περιπτώσεις η αποτοξίνωση γίνεται μέσω πολύπλοκων ενζυμικών αντιδράσεων ή πολυενζυμικών συστημάτων. Έτσι, στις περιπτώσεις που η αποτοξίνωση δεν εξαρτάται από ένα γονίδιο ή ένα ένζυμο, δημιουργεί τουλάχιστον μέχρι σήμερα, ένα βαθμό δυσκολίας στη χρήση των συστημάτων αυτών (Ντονά και Αρβανιτογιάννης, 2009).

3.1.1 Ανθεκτικότητα στο Glyphosate

Το ζιζανιοκτόνο glyphosate (N-φωσφονομεθυλογλυκίνη) έχει μια απλή μοριακή δομή και είναι ένα ανάλογο της γλυκίνης (Don Grierson, 1991). Είναι μη εκλεκτικό, ευρέος φάσματος μεταφωτρωτικό ζιζανιοκτόνο με καλή αποτελεσματικότητα και σε πολυετή ζιζάνια (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999). Είναι φιλικό προς το περιβάλλον, μιας και αποδομείται πολύ γρήγορα σε μη τοξική χημική ένωση στο έδαφος. Ισχυρές ενδείξεις πιστοποιούν ότι υπάρχει ένας μόνο βιοχημικός στόχος, παρ' όλο που δεν μπορούν να αποκλειστούν άλλοι στόχοι (Χατζόπουλος Π., 2001).

Το glyphosate οφείλει τη ζιζανιοκτόνο αποτελεσματικότητά του στην ικανότητα που έχει να σταματάει τη σύνθεση ορισμένων απαραίτητων για τα φυτικά κύτταρα αρωματικών αμινοξέων, παρεμποδίζοντας τη δράση του ενζύμου EPSPS (Enolpyruvyl shikimate 3-phosphate synthase) της *Salmonella typhimurium* το οποίο είναι το ένζυμο-κλειδί στην σχετική αλληλουχία των αντιδράσεων βιοσύνθεσης αρωματικών αμινοξέων (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999). Οι αρχικές μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα αρωματικών αμινοξέων ελαττώνονταν με τη προσθήκη glyphosate και ότι η αναστολή της ανάπτυξης καταστέλλονταν με τη προσθήκη αρωματικών αμινοξέων (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ελαφρά διαφοροποιημένο το ένζυμο EPSPS *Salmonella typhimurium* και με τη σχετική ανθεκτικότητα στο glyphosate, εντοπίστηκε σε ορισμένα βακτήρια (π.χ. *Salmonella*) αλλά και σε ορισμένα φυτά (π.χ. πετούνια). Παράλληλα διαπιστώθηκε η παρουσία ενός αδρανοποιητικού ενζύμου (του glyphosate oxireductase) σε ορισμένους μικροοργανισμούς που αποδομούν ταχύτατα το glyphosate στο έδαφος (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των φυτών στο glyphosate επιτυγχάνεται με δύο κυρίως τρόπους: 1) με τη μεταφορά σε φυτά ενός μεταλλαγμένου γονιδίου από το βακτήριο *Salmonella typhimurium* που ελέγχει τη σύνθεση ενζύμου EPSPS μειωμένης συγγένειας για το glyphosate. 2) με την υπερέκφραση του κανονικού ενζύμου EPSPS. Τα ανθεκτικά φυτά επιβιώνουν σε δόση περίπου τέσσερις φορές μεγαλύτερη από αυτήν που σκοτώνει τα κανονικά φυτά. Τα γενετικά τροποποιημένα αυτά φυτά αναφέρονται στις ΗΠΑ ως *Roundup Ready* (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999).



Εικόνα 12: Νερά ρυπασμένα από glyphosate σε περιοχή που καλλιεργούνται ΓΤ ποικιλίες με ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο ζιζανιοκτόνο.

Πηγή: (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999)

3.1.2 Ανθεκτικότητα στο Phosphinotricin (L-φωσφινοθρισίνη)

Το phosphinotricin (PPT) είναι ανάλογο του γλουταμινικού, το οποίο αρχικά χαρακτηρίστηκε από ένα τριπεπτίδιο με δράση αντιβιοτικού που παράγεται από το *Streptomyces viridochromogenes* (Don Grierson, 1991). Πρόκειται επίσης για ένα ευρέως φάσματος μεταφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο με ήπιες τοξικολογικές και περιβαλλοντικές επιδράσεις (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999). Το ένζυμο συνθάση της γλουταμίνης (GS) εμπλέκεται στα πρώτα στάδια της αφομοίωσης της αμμωνίας που παράγεται από την αναγωγή του νιτρικού για την δέσμευση του αζώτου στις ρίζες καθώς και στην επαναφομοίωση της αμμωνίας που απελευθερώνεται με τη φωτοαναπνοή στα φυτά. Στα ανώτερα φυτά, η PPT προξενεί ραγδαία συσσώρευση αμμωνίας και αναστέλλει τη φωτοσύνθεση με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο. Η L-φωσφινοθρισίνη (PPT) αναστέλλει μη αντιστρεπτά το ένζυμο συνθάση της γλουταμίνης στα φυτά και στα βακτήρια. Δυο τύποι του ενζύμου GS έχουν ταυτοποιηθεί στα φυτά με χλωροπλαστική αλλά και κυτταροπλασματική διαμερισματοποίηση. Σε σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις του PPT επιλέχθηκαν κυτταροκαλλιέργειες μηδικής (*Medicago sativa*). Τα επίπεδα ανθεκτικότητας συσχετιζόνταν με τον αριθμό των υπερεκφρασμένων γονιδίων. Αύξηση της έκφρασης του γονιδίου GS, κάτω από την επίδραση του συστατικού υποκινητή του 35S του ιού CaMV, σε διαγονιδιακά φυτά καπνού παρείχε μικρή ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο (Don Grierson, 1991). Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά με ανθεκτικότητα στην L-φωσφινοθρισίνη αναφέρονται στις ΗΠΑ ως *Liberty Link* (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

3.1.3 Ανθεκτικότητα στις Sulphonylureas (θειουρίες)

Οι σουλφονουρίες είναι μια σχετικά νεότερη ομάδα ζιζανιοκτόνων, με εκλεκτική προφυτρωτική και μεταφυτρωτική δράση. Έχουν καλή αποτελεσματικότητα σε ευρύ φάσμα ζιζανίων και ευνοϊκά χαρακτηριστικά όσον αφορά τις τοξικολογικές και περιβαλλοντικές ιδιότητές τους. Μερικά παραδείγματα σουλφονουριών είναι:

- Chlorsulfuron (Glean), triasulfuron (Λογκράν) και tribenuron (Granstar) για τα χειμερινά σιτηρά,
- Rimsulfuron (Rush), primisulfuron (Τελ) και thifensulfuron (Harmony) για τον αραβόσιτο,
- Triflusufuron (Safari) για τα ζαχαρότευτλα κ.ά. (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

Οφείλουν τη ζιζανιοκτόνο δράση τους στην ικανότητά τους να αναστέλλουν μη-αντιστρεπτά το ένζυμο συνθάση του ακετογαλακτικού (Acetolactate synthase, ALS) στα βακτήρια, στη ζύμη και στα φυτά. Μια άλλη ομάδα ζιζανιοκτόνων, που αναστέλλουν το ίδιο ένζυμο είναι οι μιδαζολιόνες. Η συνθάση του ακετογαλακτικού εμπλέκεται στην βιοσύνθεση διακλαδιζόμενων αμινοξέων λευκίνης, ισολευκίνης και βαλίνης. Κυρίαρχες μεταλλάξεις του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο ALS έχουν απομονωθεί από το *Salmonella typhimurium*, *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* και *Chlamydomonas reinhardtii* και παρέχουν ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο μεθυλιωμένο sulphometuron (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ανθεκτικά φυτά στο χλωροσουλφορόν ή στο sulphometuron έχουν ανακτηθεί μετά από επιλογή είτε απλοειδών πρωτοπλαστών (καπνού) είτε μετά από μεταλλαξιγένεση (*Arabidopsis*). Στον καπνό, τα αναγεννημένα διπλοειδή φυτά ήταν ανθεκτικά και ο φαινότυπος αυτός συν-κληρονομούταν με δύο ασύνδετους γενετικούς τόπους, ενώ στο *Arabidopsis* υπήρχε μια κυρίαρχη μετάλλαξη σ' ένα

γονιδιακό τόπο. Επίσης, μετά από μεταλλαξιγένεση έχουν επιλεγεί φυτά μηδικής και σόγιας ανθεκτικά στο χλωροσουλφορόν. Παραπλήσια ήταν και τα αποτελέσματα με απλοειδή κύτταρα ανθήρων και πρωτοπλάστες του *Brassica napus* (Χατζόπουλος Π., 2001).

Τα αγρίου τύπου και μεταλλαγμένα γονίδια που κωδικοποιούν τη συνθάση του ακετογαλακτικού απομονώθηκαν από το καπνό και το *Arabidopsis*. Όλα τα γονίδια είναι πυρηνικά αλλά περιέχουν ένα σηματοδοτικό πεπτιδίο στο άμινο-τελικό άκρο, ειδικό για τον χλωροπλάστη. Τα μεταλλαγμένα γονίδια περιέχουν αντικαταστάσεις αμινοξέων (από προλίνη σε σερίνη). Ιδιαίτερα στο *Arabidopsis*, παρατηρείται αλλαγή σε μια βάση του γονιδίου ALS ακριβώς στην αντικατάσταση του ίδιου αμινοξέος όπως και στη ζύμη, με φαινότυπο ανθεκτικό στη θειουρία. Διαγονιδιακά φυτά καπνού και ντομάτας που περιείχαν το μεταλλαγμένο γονίδιο ALS (από καπνό ή *Arabidopsis*), ανθεκτικό στη θειουρία, επιδείκνυαν επίσης μεγάλη ή μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στο ζιζανιοκτόνο (Χατζόπουλος Π., 2001).

Κυτταροκαλλιέργειες καλαμποκιού ανθεκτικές σε χημικές ενώσεις ιμιδαζολινόνης έχουν επιλεγεί και έχουν αναγεννηθεί σε φυτά που είχαν μεταλλαχθεί στο γονίδιο ALS. Ομόζυγα φυτά για το μεταλλαγμένο γονίδιο ALS που προσδίδει ανθεκτικότητα σε συγκεντρώσεις έως και 300 φορές υψηλότερες (Don Grierson, 1991).

3.1.4 Ανθεκτικότητα στο Bromoxynil

Το bromoxynil είναι ένα εκλεκτικό μεταφωτοτοξικό ζιζανιοκτόνο που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση πλατύφυλλων ζιζανίων στα χειμερινά σιτηρά και τον αραβόσιτο. Οι πλατύφυλλες καλλιέργειες είναι ευαίσθητες στο bromoxynil. Οι προσπάθειες δημιουργίας γενετικά τροποποιημένων φυτών με ανθεκτικότητα στο bromoxynil στράφηκαν σε πλατύφυλλες καλλιέργειες όπως το βαμβάκι και ο καπνός για τις οποίες δεν υπάρχουν εκλεκτικά μεταφωτοτοξικά ζιζανιοκτόνα (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

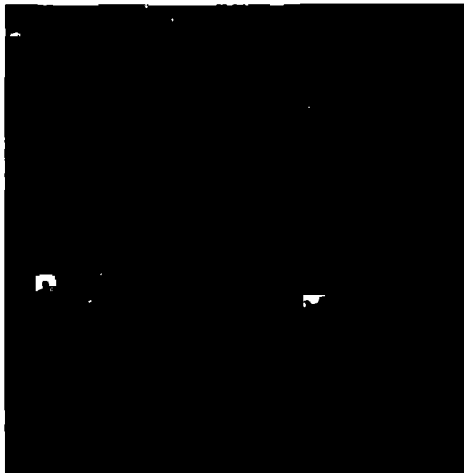
Για το ζιζανιοκτόνο αυτό δεν χρειάστηκε να αναζητηθεί ανθεκτικότητα στη θέση δράσης (ενζύμου) του επειδή σύντομα διαπιστώθηκε η ύπαρξη ενός πολύ αποτελεσματικού μηχανισμού αδρανοποίησης σε βακτήρια που διασπούν το ζιζανιοκτόνο στο έδαφος. Με γονίδια που συνθέτουν το αδρανοποιητικό ένζυμο στα βακτήρια, τα οποία μεταφέρονται και ενσωματώνονται σχετικά εύκολα στο γενετικό υλικό φυτών, έχει δημιουργηθεί ανθεκτικό βαμβάκι στις ΗΠΑ και ανθεκτικός καπνός στην Ευρώπη (Γαλλία) (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

3.2 Δημιουργία φυτών ανθεκτικών στα έντομα

Τα φυτά λόγω της ανικανότητας μετακίνησης τους για την αποφυγή των εντόμων, έχουν αναπτύξει διάφορους φυσικούς και χημικούς αμυντικούς μηχανισμούς. Οι χημικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τις περιπτώσεις όπου ένας μεταβολίτης είναι τοξικός στα έντομα-εχθρούς, ή τα απωθεί λόγω οσμής και γεύσης, ή παρεμβαίνει στην ανάπτυξή τους. Οι φυσικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν παρουσία τριχών, αγκαθιών ή άλλων μηχανισμών στις επιφάνειες των φυτικών ιστών (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η πρώτη αναφορά σε εντομοκτόνα βακτήρια ήταν από τον Ιάπωνα βιολόγο Shigetane Ishiwatari το 1901 που μελετούσε την αιτία μιας θανατηφόρας ασθένειας του μεταξοσκώληκα και απομόνωσε για πρώτη φορά το βακτήριο του εδάφους *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*). Αργότερα το

1911, ο Ernst Berliner εντόπισε το βακτήριο αυτό σε θανατωμένα μεσογειακά λεπιδόπτερα αλευριού. Ο ίδιος ερευνητής αργότερα το 1915, ανέφερε την ύπαρξη εντός αυτού μια κρυσταλλικής πρωτεΐνης, η οποία εντοπιζόταν για πρώτη φορά. Η θανατογόνος δράση της επί ορισμένων εντόμων ανακαλύφθηκε πολύ αργότερα (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Το βακτήριο αυτό για πάνω από 30 χρόνια έχει αποτελέσει τη βάση διαφόρων σκευασμάτων βιολογικών εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση προνυμφών λεπιδόπττερων (κάμπιες) σε δασικά και καλλιεργούμενα φυτά. Πιο πρόσφατα έχει επίσης αποτελέσει τη βάση άλλων ειδικών σκευασμάτων για την καταπολέμηση προνυμφών κολεόπττερων (δορυφόρος πατάτας) και τελευταία προνυμφών και κουνουπιών και άλλων δίπτερων (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999). Τα σκευάσματα αυτά παρασκευάζονται από καλλιέργειες του βακτηρίου που έχουν σποριοποιήσει και οφείλουν την εντομοκτόνο δράση τους σε τοξικές πρωτεΐνες, τις λεγόμενες κρυσταλλικές πρωτεΐνες Cry (crystal), τις οποίες παράγει το βακτήριο σε ενδοσπόρια σωματίδια (Χατζόπουλος Π., 2001).



Εικόνα 13: Ζημιά σε καρύδι βαμβακιού από το ρόδινο σκουλήκι. Η κάμπια του ρόδινου σκουληκιού καταπολεμάτε και αυτή από το *Bacillus thuringiensis*.

Πηγή: <http://asopichos.gr>

Στην φύση, υπάρχει πολύ μεγάλη ποικιλία τόσο στο ίδιο το βακτήριο (υποείδη, φυλές) όσο και στις ενδοτοξίνες του. Στην πράξη (σκευάσματα εντομοκτόνων) χρησιμοποιούνται συγκεκριμένα υποείδη και φυλές του βακτηρίου που έχουν αποδειχθεί ότι έχουν την καλύτερη αποτελεσματικότητα σε συγκεκριμένα έντομα. Έτσι για τις προνύμφες λεπιδόπττερων χρησιμοποιείται το υποείδος *B.thuringiensis Kurstaki*, για τις προνύμφες κολεόπττερων το *B.thuringiensis tenebrionis* και για τις προνύμφες κουνουπιών το *B.thuringiensis israelensis* (Χατζόπουλος Π., 2001). Τα σημαντικότερα βακτήρια που παρασιτούν επίσης σε έντομα είναι ο *Bacillus papillae* για σκαραβαιοειδή σκαθάρια, *Bacillus sphaericus* για κουνούπια, *Clostridium malacosome* για τα υποείδη του *Malacosoma* (κάμπιες), *Xenorhabdus nematophilus* για έντομα επιδεικτικά στο νηματοειδές *Steinernema feltiae* (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

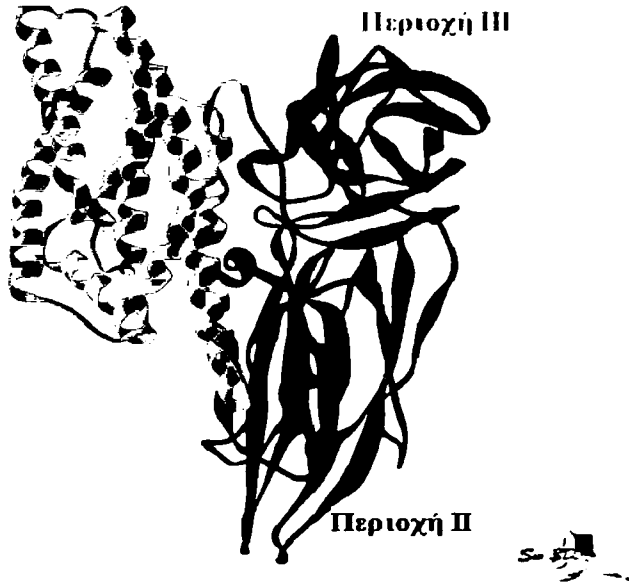
Οι κρυσταλλικές πρωτεΐνες Cry είναι δ-ενδοτοξίνες, δηλαδή δεν εκκρίνονται από κύτταρα αλλά δρουν μέσα σε αυτά. Απαντώνται επίσης σε μεγάλη ποικιλία και κατατάσσονται σε 4 κυρίως ομάδες:

- CryI (γονίδιο *cryI*): Λεπιδόπτερα
- CryII (γονίδιο *cryII*): Λεπιδόπτερα, δίπτερα
- CryIII (γονίδιο *cryIII*): Κολεόπτερα
- CryIV (γονίδιο *cryIV*): Δίπτερα

(Χατζηλουκάς Ε., 2012)

Ο ρόλος αυτών των πρωτεϊνών, που συνοδεύουν τα σπόρια του βακτηρίου, είναι να θανατώσουν ορισμένα έντομα ώστε να δημιουργείται ευνοϊκό υπόστρωμα για τη βλάστηση των σπορίων και τον πολλαπλασιασμό του βακτηρίου (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

δ- Ενδοτοξίνη του B. thuringiensis



Εικόνα 14: Η δομή της Cry πρωτεΐνης, διακρίνονται οι τρεις περιοχές από τις οποίες αποτελείται.
Πηγή: (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999)

Οι ενδοτοξίνες αυτές δρουν στο έντομο κατά ένα εντελώς ειδικό και εκλεκτικό τρόπο. Η δράση τους εξασφαλίζεται μόνο μετά τη λήψη τους από το έντομο ως την τροφή. Η επαφή της τοξίνης με την επιφάνεια του εντόμου δεν φέρει κανένα αποτέλεσμα. Στη συνέχεια μέσα στον πεπτικό σωλήνα του εντόμου, με την επίδραση των αλκαλικών υγρών, υφίσταται υδρόλυση σε μικρότερα μόρια (ενεργοποίηση). Τα ενεργοποιημένα αυτά μόρια προσροφούνται εκλεκτικά από ειδικούς υποδοχείς της επιφάνειας του πεπτικού σωλήνα προκαλώντας θανατηφόρες βλάβες. Κάθε ενδοτοξίνη έχει τους δικούς της υποδοχείς, οι οποίοι μπορεί να υπάρχουν σε ένα είδος εντόμου και όχι σε άλλο. Έτσι, κάθε ενδοτοξίνη έχει εκλεκτική δράση σ' ορισμένα είδη εντόμων μόνο (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999). Γενικά, η τοξικότητα ενός στελέχους του βακτηρίου σε ένα είδος εντόμου οφείλεται στη δράση κυρίως μια συγκεκριμένης ενδοτοξίνης αλλά μπορεί να επηρεάζεται αθροιστικά ή σε συνεργασία και από άλλες ενδοτοξίνες όπως και από άλλους παράγοντες που παράγει το συγκεκριμένο στέλεχος του βακτηρίου. Λόγω της δράσης αυτής των δ-ενδοτοξινών, τα σκευάσματα του *B. thuringiensis* έχουν θεωρηθεί ως ασφαλή βιολογικά εντομοκτόνα χωρίς δυσμενείς επιδράσεις στα θηλαστικά (και τον άνθρωπο) και στα ωφέλιμα αρπακτικά και παράσιτα (Κ.Ν. Γιαννοπολίτης, 1999).

Η αντιμετώπιση των εντόμων όμως με την τοξίνη Bt είναι περιορισμένη εξαιτίας δύο σοβαρών μειονεκτημάτων: 1) του στενού φάσματος δράσης και 2) της μικρής διάρκειας δράσης εκτός του πεπτικού συστήματος. Η μέθοδος ψεκασμού με την τοξίνη Bt είναι αναποτελεσματική για έντομα που προσβάλλουν το ριζικό σύστημα, το βλαστό ή για τα μυζητικά έντομα (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999). Επίσης, η δράση της τοξίνης Bt περιορίζεται σε ορισμένα αναπτυξιακά στάδια του εντόμου. Έτσι, το ράντισμα πρέπει να γίνει σε κάποιο συγκεκριμένο αναπτυξιακό στάδιο επειδή η πρωτεΐνη του

κρυστάλλου είναι ασταθής. Συνήθως, το ράντισμα των σπόρων συμπίπτει χρονικά με τη μέγιστη τιμή του πληθυσμού της προνύμφης του εντόμου που καταπολεμάται. Αυτό γίνεται γιατί οι κρύσταλλοι που είναι ευαίσθητοι στο ηλιακό φως, έχουν μικρή ημιπερίοδο ζωής στο περιβάλλον (Χατζόπουλος Π., 2001).

Το πρόβλημα της ευαισθησίας της τοξίνης στον ήλιο αντιμετωπίστηκε από τους ερευνητές με τη μεταφορά του υπεύθυνου γονιδίου σε βακτήρια του γένους *Pseudomonas*, στα οποία προστατεύεται ο κρύσταλλος της πρωτεΐνης καλύτερα και έτσι αυξάνει ο χρόνος ζωής του. Σήμερα χρησιμοποιούνται για γεωργική χρήση υγρά παρασκευάσματα που αποτελούνται από νεκρές γενετικά τροποποιημένες ψευδομονάδες (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999).

Για την αποφυγή των πολυδάπανων ψεκασμών, οι επιστήμονες προσπάθησαν να περάσουν την ιδιότητα σχηματισμού της τοξίνης απ' ευθείας στα φυτά. Απαιτούνται όμως και ορισμένα χαρακτηριστικά ώστε να δημιουργηθούν βιώσιμα διαγονιδιακά φυτά ανθεκτικά στα έντομα. Αυτά είναι:

1. Το συστατικό που παρέχει ανθεκτικότητα σε έντομα πρέπει να είναι προϊόν μοναδικού γονιδίου που έχει ταυτοποιηθεί και πλήρως χαρακτηριστεί.
2. Η έκφραση του εισαγόμενου γονιδίου στο διαγονιδιακό φυτό πρέπει να είναι εφικτή σε κατάλληλες συγκεντρώσεις στους επιθυμητούς ιστούς ώστε να παρέχει ανθεκτικότητα.
3. Η ανθεκτικότητα θα πρέπει να είναι σταθερά κληρονομήσιμη στους απογόνους του διαγονιδιακού φυτού.
4. Τα διαγονιδιακά φυτά θα πρέπει να επιδεικνύουν αποτελεσματική ανθεκτικότητα στα έντομα κάτω από διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος.
5. Το εισαγόμενο χαρακτηριστικό δεν θα πρέπει να έχει δυσμενείς επιδράσεις στο φυσιολογικό μεταβολισμό του φυτού.
6. Το προϊόν που κωδικοποιείται από το εισαγόμενο γονίδιο δεν θα πρέπει να προσδίδει τοξικότητα στα ζώα και στον άνθρωπο ή να είναι ακατάλληλο για ανθρώπινη χρήση (Don Grierson, 1991).

Σήμερα έχει γίνει τροποποίηση πολλών φυτικών ειδών, με το γονίδιο που κωδικοποιεί την τοξίνη Βt, καθιστώντας έτσι τα φυτά ανθεκτικά σε συγκεκριμένα έντομα. Με τον τρόπο αυτό ξεπερνιέται το πρόβλημα της σταθερότητας της τοξίνης στο περιβάλλον και επιπλέον μπορούν να αντιμετωπίσουν ασθένειες σε όλα τα μέρη του φυτού (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα υβρίδια καλαμποκιού που περιέχουν τα γονίδια *cry* και έχουν χρησιμοποιηθεί στην προστασία εναντίον της πυραλίδας (*Ostrinia nubilalis*), ένα πολύ σημαντικό εχθρό ο οποίος προκαλεί απώλειες στην παραγωγή που φθάνουν το 30% (Amizee Firoz, 1998).

Οι εξελίξεις αυτές δείχνουν τα πλεονεκτήματα της εξειδικευμένης προστασίας συγκριτικά με μια προστασία ευρέως φάσματος. Ο μεγάλος βαθμός εξειδίκευσης ανάμεσα στην τοξίνη και στο έντομο, αντίθετα με ότι συμβαίνει με τα χημικά εντομοκτόνα, προσφέρει τη δυνατότητα καταπολέμησης με μεγάλη ακρίβεια. Με άλλα λόγια, η συγκεκριμένη στρατηγική θεωρείται πολύ πιο ασφαλής γιατί επηρεάζει μόνο ένα είδος ή ένα πολύ μικρό αριθμό ειδών (British Medical Association, 1998). Το μειονέκτημα όμως της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι τα έντομα αναπτύσσουν ανθεκτικότητα στην τοξίνη Βt κάτι που σημαίνει ότι χάνεται η αποτελεσματικότητα της ποικιλίας έναντι των εντόμων. Έτσι η συγκεκριμένη τεχνική δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι παρέχει μόνιμη προστασία των καλλιεργειών στις προσβολές από έντομα.

Εναλλακτικά, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των φυτών στους εντομολογικούς εχθρούς μπορεί να επιτευχθεί με τη μεταφορά και υπερέκφραση φυτικών γονιδίων που ανήκουν στο φυσικό μηχανισμό άμυνας των φυτών. Παράδειγμα αποτελούν οι αναστολείς πρωτεασών, (αναστολέας τρυψίνης, αναστολέας α-αμυλάσης, λεκτίνη κ.α.) οι οποίοι όταν καταναλώνονται αποτρέπουν την υδρόλυση των

φυτικών πρωτεϊνών μέσα στο έντομο. Έτσι, κατ' ουσία, το έντομο λιμοκτονεί. Εάν οι πρωτεάσες αυτές είναι εξειδικευμένες μόνο για έντομα, τότε θεωρείται λογική η χρησιμοποίησή τους σε διαγονιδιακά φυτά που περιέχουν τη δόμηση αποτελούμενη από ένα δυναμικό υποκινητή συντηγμένο με την κωδική περιοχή του αναστολέα της πρωτεάσης. Η κατασκευή αυτή θα παράγει ικανοποιητική ποσότητα του αναστολέα της πρωτεάσης με αποτέλεσμα την ανθεκτικότητα των φυτών στα έντομα (Don Grierson, 1991). Μετασηματισμένα φυτά καπνού με το γονίδιο του αναστολέα της τρυψίνης, ανέπτυξαν αντίσταση στο *Heliothis virescens*, ένα επιβλαβές έντομο του καπνού, καθώς και σε αρκετά άλλα κολεόπτερα (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999). Οι φυσικοί αναστολείς πρωτεασών είναι πρωτεΐνες και αποτελούν κοινά συστατικά στις τροφές των ανθρώπων και των ζώων, απενεργοποιούνται εύκολα και σχεδόν αμέσως με το μαγείρεμα. Έτσι, η εισαγωγή τους και σε άλλες τροφές φυτικής προέλευσης θεωρείται ασφαλής.

Μια άλλη στρατηγική είναι ο συνδυασμός εντομοκτόνων βιομοριών στα διαγονιδιακά φυτά. Στην πιο απλή μορφή του είναι η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών που περιέχουν δύο διαφορετικά εντομοκτόνα μόρια π.χ. τοξίνη Bt και αναστολέα πρωτεασών. Σε εργαστηριακές δοκιμές βρέθηκε ότι όταν η ποσότητα τοξίνης Bt, που προξενεί ελάχιστη θανάτωση εντόμων, συμπληρώθηκε με μια μικρή συγκέντρωση αναστολέα πρωτεάσης, η δραστηριότητα του συνδυαστικού αυτού εντομοκτόνου ήταν 20 φορές περισσότερο απ' ό,τι μόνη της η τοξίνη Bt. Γι' αυτό το συνδυασμό δομήθηκε το γονίδιο χίμαιρα που αποτελείται από τη σύντηξη των δύο γονιδίων: της τοξίνης Bt και του αναστολέα της πρωτεάσης. Διαγονιδιακός καπνός συνέθετε τη συντηγμένη πρωτεΐνη (τοξίνη Bt: αναστολέα της πρωτεάσης) σε μικρή ποσότητα, με ικανοποιητικά αποτελέσματα όμως ως προς την προστασία τους από προσβολή εντόμων (Χατζόπουλος Π., 2001).

Το γονίδιο *LecA* του *Pisum sativum* που κωδικοποιεί τη λεκτίνη του σπέρματος μεταφέρθηκε στον καπνό. Βιοδοκιμές των διαγονιδιακών φυτών έναντι του εντόμου *Heliothis virescens* έδειξαν ότι η λεκτίνη απέδωσε σημαντική προστασία από τις προνύμφες. Όμως, ο αναστολέας της τρυψίνης (CrΠΙ) έδωσε καλύτερα αποτελέσματα. Το διαγονιδιακό φυτό που περιείχε και τις δύο πρωτεΐνες μαζί ήταν περισσότερο ανθεκτικό απ' ό,τι το καθένα μόνο του, αποδεικνύοντας έτσι την συσσωρευμένη δράση των γονιδίων ανθεκτικότητας στην προστασία φυτών. Η δημιουργία ποικιλιών φυτών ανθεκτικών στα έντομα μειώνει τη χρήση εντομοκτόνων και επομένως έχει ευνοϊκή επίδραση τόσο στο κόστος παραγωγής του προϊόντος όσο και στην προστασία του περιβάλλοντος (Don Grierson, 1991).

3.3 Δημιουργία φυτών ανθεκτικών στους ιούς

Οι απώλειες των καλλιεργειών και η ελάττωση της παραγωγής λόγω ιικών ασθενειών, μπορεί να αποβούν σημαντικές, ιδιαίτερα σε τροπικές και υποτροπικές χώρες. Οι ιοί πολλαπλασιάζονται κυρίως στα φύλλα, τα οποία κιτρινίζουν, συρρικνώνονται και ζαρώνουν. Το τελικό αποτέλεσμα της ιικής μόλυνσης είναι η διακοπή της φωτοσύνθεσης και η μείωση της παραγωγής (Maarten J. Chrispeels, David E. Sadava, 1994). Υπάρχουν τρεις κύριοι τρόποι ελέγχου προσβολής των φυτών από ιούς. Ο πρώτος τρόπος είναι η παραγωγή υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού ελεύθερων ιών. Ο δεύτερος στοχεύει στην παρεμπόδιση της διασποράς των ιών από φυτό σε φυτό, συνήθως με τη θανάτωση των φορέων που μεταδίδουν τους ιούς, και ο τρίτος είναι η παραγωγή και ο πολλαπλασιασμός καλλιεργούμενων φυτών ανθεκτικών στους ιούς (Don Grierson, 1991).

Η μόλυνση επιρρεπών φυτών από έναν ιό έχει σαν αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των ιών πρώτα στα κύτταρα στα οποία έχουν εισέλθει. Ακολούθως, γίνεται η συστηματική εξάπλωση του ιού, με τη μεταφορά του από κύτταρο σε κύτταρο, με αποτέλεσμα ο ιός να πολλαπλασιάζεται σε ιστούς που

δεν είχαν αρχικά μολυνθεί. Η ανθεκτικότητα του φυτού στην ιϊκή μόλυνση ορίζεται σαν την ικανότητα του φυτού να ελαττώσει δραστικά τον πολλαπλασιασμό του ιού και την εξάπλωση του σε αντιδιαστολή με τα επιρρεπή φυτά. Στη φύση τα περισσότερα φυτά είναι ανθεκτικά στους περισσότερους ιούς. Η ανθεκτικότητα αυτή εξαρτάται από τα γονίδια του φυτού-ξενιστή, το στέλεχος του ιού και των περιβαλλοντικών παραγόντων (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η ανθεκτικότητα μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις τύπους:

1. Πλήρης ανοσία. Ο ιός δεν πολλαπλασιάζεται καθόλου, ακόμη και στα κύτταρα που εισέρχεται πρώτα.
2. Μερική ανθεκτικότητα. Ο πολλαπλασιασμός του ιού επιτρέπεται μόνο στα κύτταρα εισέρχεται πρώτα.
3. Αντίδραση υπερευαισθησίας.

(Χατζόπουλος Π., 2001).

Όλοι οι ιοί μεταδίδονται με φορείς όπως έντομα, μύκητες ή νηματώδεις, ενώ μερικοί μεταδίδονται από φυτό σε φυτό. Ένας τρόπος ελάττωσης της μετάδοσης των ιών από τους φορείς πραγματοποιείται με η κατασκευή φυτών ανθεκτικών ή απωθητικών στους φορείς. Για να εισχωρήσει μέσα στο κύτταρο το ιϊκό σωματίδιο θα πρέπει να διαπεράσει τουλάχιστον το κυτταρικό τοίχωμα και την κυτταρική μεμβράνη. Η εισαγωγή γίνεται παθητικά με τοπική καταστροφή είτε από το φορέα είτε από μηχανικό τρόπο (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ο ιϊκός πολλαπλασιασμός μπορεί να "αποσυνδεθεί" από το φαινόμενο της εμφάνισης συμπτωμάτων και θεωρείται ορθότερος ο έλεγχος των συμπτωμάτων με την ελάττωση της συσσώρευσης των ιών. Επιπλέον, υπάρχουν μεταλλαγμένα στελέχη ιών που πολλαπλασιάζονται στα φυτά-ξενιστές χωρίς την εμφάνιση συμπτωμάτων. Τα φυτά που μολύνονται με αυτά τα "συγκαλυμμένα" ή "ήπια" στελέχη των ιών είναι συχνά ανθεκτικά στην επιμόλυνση με τοξικά στελέχη του ίδιου ή πολύ συγγενικών ιών. Το φαινόμενο αυτό ορίζεται σαν "διασταυροπροστασία" (Don Grierson, 1991).

Στα διαγονιδιακά φυτά που εκφράζεται το γονίδιο της πρωτεΐνης του περιβλήματος ενός ιού που κανονικά μολύνει το μη διαγονιδιακό φυτό, προκύπτει μεγάλη ελάττωση της εξάπλωσης του ιού αυτού συστημικά. Διαγονιδιακή τομάτα και καπνός τα οποία συνθέτουν την πρωτεΐνη CP από το κοινό στέλεχος (U1) του ιού του μωσαϊκού του καπνού TMV είναι μερικώς ανθεκτικά στον ιό TMV. Η ανθεκτικότητα ήταν εμφανής λόγω της απουσίας συμπτωμάτων ή της καθυστερημένης εμφάνισης συμπτωμάτων (Χατζόπουλος Π., 2001). Υπάρχει αναλογική σχέση ανάμεσα στην ποσότητα της πρωτεΐνης CP που συντίθεται στα διαγονιδιακά φυτά και στο βαθμό προστασίας, και αντίστροφη σχέση μεταξύ της αύξησης της συγκέντρωσης των ιών και της καθυστερημένης εμφάνισης συμπτωμάτων, καθώς επίσης και στην περίπτωση της χρήσης διαγονιδιακών φυτών που εκφράζουν την πρωτεΐνη CP, παρατηρήθηκε σταυροπροστασία. Η διακύμανση της προστασίας ήταν μεγάλη και εξαρτιόταν από τον τύπο του στελέχους του ιού και την ομολογία της πρωτεΐνης CP που κωδικοποιείται από τους τύπους αυτών των ιών (Χατζόπουλος Π., 2001). Παρ' όλα αυτά όμως, τα διαγονιδιακά φυτά που συνέθεταν την πρωτεΐνη CP του TMV ή του ιού του μωσαϊκού της μηδικής AIMV παρεμπόδιζαν την ανάπτυξη ασθένειας λόγω μόλυνσης με μη συγγενικούς ιούς. Έχουν δημιουργηθεί διαγονιδιακά φυτά που εκφράζουν το γονίδιο CP από τους ιούς μωσαϊκού της μηδικής (AIMV), του μωσαϊκού του αγγουριού (CMV), αλλά και άλλους όπως TRV, TSV, PVX. Τα διαγονιδιακά αυτά φυτά παρείχαν ανθεκτικότητα στην μόλυνση από τους αντίστοιχους ιούς δείχνοντας ότι η προσέγγιση αυτή μπορεί να γενικευτεί (Χατζόπουλος Π., 2001).

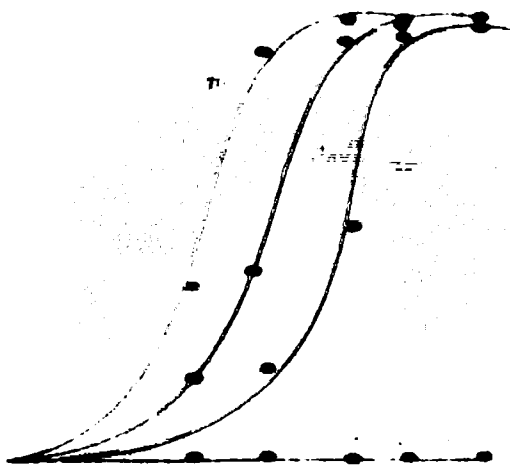
Σε δοκιμές στον αγρό, διαγονιδιακές τοματιές που συνέθεταν την πρωτεΐνη CP ήταν ανθεκτικές στο ιϊκό στέλεχος της τομάτας του ΤοMV. Η παραγωγή των μη διαγονιδιακών φυτών που προσβλήθηκαν από τον αντίστοιχο ιό ελαττώθηκε κατά 25-35%. Η έκφραση του γονιδίου της CP

στην διαγονιδιακή ανθεκτική τομάτα που προσέδιδε ανθεκτικότητα, ήταν σε ικανοποιητικά επίπεδα και δεν επηρέαζε τη φυσιολογία αλλά και δεν προξενούσε ελάττωση της παραγωγής. Είναι γνωστό ότι η έκφραση της πρωτεΐνης CP σε διαγονιδιακά φυτά προσδίδει ανθεκτικότητα παρεμβαίνοντας στα πρώιμα στάδια της ιϊκής προσβολής. Μπορεί επίσης να παρεμβαίνει στα τελευταία στάδια της αντιγραφής του RNA ή να παρεμβαίνει στη μετακίνηση των ιών από κύτταρο σε κύτταρο (Don Grierson, 1991).

Ο ιός της πατατιάς X αποτελείται από ένα μονόκλωνο γονιδιωματικό RNA. Τα διαγονιδιακά φυτά προστατεύονται από την προσβολή του ιού PVX αλλά και του ιϊκού RNA. Το γονίδιο της CP του PVX μεταφέρθηκε σε εμπορικές καλλιέργειες πατάτας. Ο ιός PVX από μόνος του προξενεί ήπια συμπτώματα. Όμως, μετά από επιμόλυνση της πατάτας με τον ιό της πατατιάς Y (PVY) τα συμπτώματα είναι οξύτερα με συνέπεια την καταστολή της παραγωγής. Διαγονιδιακή πατατιά η οποία περιέχει τα γονίδια των CP και από τους δύο τους ιούς (PVX και PVY) ήταν ανθεκτική στην προσβολή και από τους δύο ιούς. Η προστασία αυτή ήταν εμφανής και στον αγρό ενώ ταυτόχρονα δεν υπήρχε ελάττωση της παραγωγής (Χατζόπουλος Π., 2001).

Συχνά οι καλλιέργειες στον αγρό εκτίθεται σε διαφορετικούς ιούς που ο καθένας μπορεί να προξενήσει ελάττωση της παραγωγής ή πλήρεις καταστροφές. Ιδανικά, τα διαγονιδιακά φυτά θα πρέπει να είναι ανθεκτικά σε περισσότερους από έναν ιό. Για το λόγο αυτό έχουν δομηθεί πλασμίδια T1 που έχουν περισσότερα από ένα γονίδια. Ο κωδικοποιούν πρωτεΐνες CP από τον ιό του μωσαϊκού της αγγουριάς (CMV), από τον ιό του κίτρινου μωσαϊκού του κολοκυθίου (ZYMV) και από τον ιό του μωσαϊκού της καρπουζιάς (WMV). Τα πλασμίδια αυτά χρησιμοποιήθηκαν για μετασχηματισμό του *Cucurbita pepo* (κίτρινο κολοκύθι) (Χατζόπουλος Π., 2001).

Τα διαγονιδιακά φυτά που περιείχαν τις πρωτεΐνες CP απ' όλους τους ιούς ήταν ανθεκτικά στην προσβολή και στους τρεις ιούς. Τα διαγονιδιακά φυτά που συνθέτους τις πρωτεΐνες CP του ιού ZYMV και του ιού WMV δοκιμάστηκαν στον αγρό και η προσβολή έγινε με την χρήση των αφίδων σαν φορείς. Τα διαγονιδιακά φυτά που εκφράζουν το ένα από τα δύο γονίδια ήταν ανθεκτικά ως προς την εμφάνιση των συμπτωμάτων της μόλυνσης από τους δύο ιούς ανεξάρτητα. Επιπλέον ήταν ακόμα ανθεκτικότερα και στους δύο ιούς λόγω της μεγάλης καθυστέρησης στην εμφάνιση των συμπτωμάτων (Χατζόπουλος Π., 2001).



Σχήμα 4: Συσχέτιση της συχνότητας εμφάνισης συμπτωμάτων ιώσεων με παρουσία της πρωτεΐνης περιβλήματος των ιών σε διάφορα διαγονιδιακά φυτά.

Πηγή: Χατζόπουλος Π., 2001

Έτσι, είναι φανερό ότι η αξιοποίηση περισσότερων γονιδίων CP από διαφορετικούς ιούς είναι μια αποδοτική στρατηγική ώστε να δημιουργηθούν φυτά ανθεκτικά στους περισσότερους ιούς που κανονικά μολύνουν μια ποικιλία, αναστέλλοντας την αύξηση των φυτών και την παραγωγή της καλλιέργειας (Χατζόπουλος Π., 2001). Η κατασκευή διαγονιδιακών φυτών κατά το μάλλον ή ήττον ανθεκτικών σε ιώσεις, σήμερα πραγματοποιείται με χρήση πολλών διαφορετικών γονιδίων των ιών, όπως: γονίδια ρεπλικασών, πρωτεασών, και γονίδια πρωτεϊνών δια-κυτταρικής μετακίνησης. Η ιδέα προήλθε από μοντέλο της «εκ του παθογόνου εκπορευόμενης ανθεκτικότητας» (Pathogen Derived Resistance, PDR) των Sanford και Johnston, 1985 (Χατζηλουκάς Ε., 2012).

3.4 Κατασκευή φυτών ανθεκτικών στα βακτήρια και στους μύκητες

Κατασκευή διαγονιδιακών φυτών καπνού, ανθεκτικών στην ταμποξίνη και την *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci*. Ένα παράδειγμα φυτοτοξίνης, αποτελεί η ταμποξίνη, η οποία παράγεται από το φυτοπαθογόνο βακτήριο *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci*. Η δράση της τοξίνης δεν είναι απαραίτητη για τη διαδικασία μόλυνσης, εγκαθίδρυσης και πολλαπλασιασμού του βακτηρίου στον ξενιστή του, τον καπνό, είναι όμως καθοριστική για την εμφάνιση χλώρωσης στον ξενιστή (Anzai et al., 1989). Ακόμη μια προσπάθεια για τη δημιουργία φυτών ανθεκτικών στους μύκητες και στα βακτήρια περιλαμβάνει την εισαγωγή γονιδίων στα φυτά που κωδικοποιούν ένζυμα, τα οποία αποδομούν κυτταρικά τοιχώματα βακτηρίων και μυκήτων. Τα ένζυμα που αποδομούν τα βακτηριακά και μυκητιακά κυτταρικά τοιχώματα δεν βλάπτουν τα φυτά (Maarten J. Chrispeels, David E. Sadava, 1994).

Η αντίδραση των φυτών σε εισβολή παθογόνων ή άλλων αβιοτικών καταπονήσεων, επιφέρει τη σύνθεση μια ομάδας πρωτεϊνών που ονομάζονται πρωτεΐνες σχετικές με τη παθογένεση (PR). Οι πρωτεΐνες αυτές συμπεριλαμβάνουν τις β -1,3-γλουκανάσες, τις χιτινάσες, τους αναστολείς πρωτεασών και παρόμοιες πρωτεΐνες προς τη θαυματίνη (Χατζόπουλος Π., 2001). Τα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων αποτελούνται από δύο πολυμερή, τα β -1,3-γλουκάνια και την χιτίνη, που διασπώνται από τις γλουκανάσες και τις χιτινάσες (Maarten J. Chrispeels, David E. Sadava, 1994). Η συστατική ή επαγόμενη έκφραση ενός γονιδίου χιτινάσης (κωδικοποιεί το ένζυμο που υδρολύει τους β -1,4 δεσμούς του πολυμερούς N-ακετυλο-D-γλυκοζαμίνης), φυτικής ή βακτηριακής προέλευσης, σε διαγονιδιακό καπνό αυξάνει την ανθεκτικότητα των φυτών σε παθογόνους μύκητες. Παραπλήσια αποτελέσματα βρέθηκαν όταν το ίδιο γονίδιο ενσωματώθηκε στο γονιδίωμα ρυζιού κάτω από την επίδραση του υποκινητή 35S του CaMV. Διαγονιδιακά φυτά που εκφράζουν τη χιτινάση ήταν επίσης πιο ανθεκτικά στις μυκητιάσεις απ' ότι τα κανονικά φυτά και στις εργαστηριακές δοκιμές αλλά και στον αγρό. Επιπλέον, τα διαγονιδιακά φυτά ήταν ανθεκτικά σε παθογόνους μύκητες και δεν επηρέαζαν τον ωφέλιμο μύκητα *Glomus mosseae* και η πρόσδεσή του στις ρίζες γινόταν κανονικά. Αυτό μάλλον αντικατοπτρίζει τη ποικιλία της βιοχημικής σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος διαφόρων μυκήτων. Η ταυτόχρονη ενσωμάτωση και συστατική έκφραση των γονιδίων χιτινάσης και γλουκονάσης σε καπνό επέφερε υψηλότερα επίπεδα ανθεκτικότητας σε παθογόνους μύκητες απ' ότι όταν χρησιμοποιήθηκε κάθε ένα γονίδιο ξεχωριστά, υποδεικνύοντας τον τρόπο δράσης σε συνεργασία μεταξύ των δύο ενζύμων *in planta* (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η υψηλή και συστατική έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη PR-I-a σε διαγονιδιακό καπνό οδήγησε σε ανθεκτικότητα έναντι δύο παθογόνων ωομυκήτων, των *Peronospora tabacina* και *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Η υπερέκφραση της ωσμοτίνης του καπνού, μια πρωτεΐνης PR-5 στην πατάτα, επιβράδυνε σημαντικά την ανάπτυξη των συμπτωμάτων που προξενούνται από *Phytophthora infestans*. Επιπλέον των πρωτεϊνών PR, έχει ανακαλυφθεί και μια ευρεία ομάδα μικρών πεπτιδίων με αντιμυκητιακή δράση που ονομάζονται αμυντίνες. Ένα γονίδιο που κωδικοποιεί την αντιμυκητιακή πρωτεΐνη 2 (Rs-AFP2) από το ραδίκι, εισήχθη σε διαγονιδιακό καπνό με αποτέλεσμα την υψηλή ανθεκτικότητα στο παθογόνο φύλλων *Alternaria longipes* (Χατζόπουλος Π., 2001).

Τα βακτηριακά κυτταρικά τοιχώματα κατασκευάζονται από ασυνήθη πολυμερή που ονομάζονται πεπτιδογλυκάνες, οι οποίες αποτελούνται από συστατικά πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Οι πεπτιδογλυκάνες αποσυνθέτονται από το ένζυμο λυσοζύμη (Maarten J. Chrispeels, David E. Sadava, 1994). Η λυσοζύμη έχει χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία διαγονιδιακής πατατιάς, η οποία εκφράζει τη λυσοζύμη του βακτηριοφάγου T4. Οι ετήσιες απώλειες παγκοσμίως που προξενούνται στην πατάτα από το βακτήριο του εδάφους *Erwinia carotovora* πλησιάζουν τα 30 δις. Η λυσοζύμη κατευθύνθηκε με έκκριση στους αποπλάστες (διακυτταρικές περιοχές οι οποίες είναι μέσα στο φυτό αλλά έξω από το φυτικό κύτταρο) της πατάτας, επειδή, δια μέσου των περιοχών αυτών, εισέρχεται και μεταδίδεται το βακτήριο *E. carotovora*. Το γονίδιο της λυσοζύμης συντήχθηκε με το πεπτιδιο-σήμα της α -αμυλάσης του κριθαριού και τοποθετήθηκαν κάτω από τη μεταγραφική ρύθμιση του 35S του ιού CaMV, παρόλο που ο 35S είναι ένας ισχυρός υποκινητής. Επιπλέον, η λυσοζύμη μπορεί να λύσει ένα ευρύ φάσμα θετικών και αρνητικών κατά gram βακτηρίων, η προσέγγιση αυτή μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμη στην προστασία διαφορετικών φυτών (πατάτα κ.τ.λ.), από την προσβολή διαφόρων παθογόνων βακτηρίων. Οι φυτικές πρωτεΐνες θειονίνες συχνά επιδεικνύουν τοξικότητα *in vitro*, σε παθογόνα βακτήρια. Η έκφραση του γονιδίου α -θειονίνης του κριθαριού αύξησε σημαντικά την ανθεκτικότητα του διαγονιδιακού καπνού στα παθογόνα βακτήρια *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* και *P. syringae* pv. *syringae* (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η έκφραση ενζύμου που αδρανοποιεί τοξίνες έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την επίτευξη ανθεκτικότητας σε παθογόνα βακτήρια, όπως στην περίπτωση της ακετυλοτρανσφεράσης, ειδικής για ταμπτοξίνη όπου παρέχει υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας του διαγονιδιακού καπνού προς το βακτήριο *P. syringae* pv. *tabaci* (Anzai et al., 1989). Ομοίως, μετασχηματισμός φυτών καπνού με το γονίδιο αυτοανοσίας *argK* από το βακτήριο *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Το *argK* προδίδει ανθεκτικότητα στην δράση της τοξίνης φασεολοτοξίνη που παράγεται από το *P. syringae* pv. *Phaseolicola* (Hatziloukas and Panopoulos, 1992). Οι φυτοαλεξίνες επίσης παίζουν σπουδαίο ρόλο στην ανθεκτικότητα των φυτών έναντι των παθογόνων βακτηρίων και μυκήτων. Η έκφραση του γονιδίου συνθάση του σιλβενίου από το αμπέλι σε διαγονιδιακό καπνό οδήγησε στην παραγωγή νέων φυτοαλεξινών (ρεσβερατρόλη) και σε μεγάλη αύξηση της ανθεκτικότητας έναντι του *Botrytis cinerea*. Έτσι, η στρατηγική της παραγωγής ξένων φυτοαλεξινών σε διαγονιδιακά φυτά φαίνεται ελπιδοφόρα για την αύξηση της ανθεκτικότητας (Χατζόπουλος Π., 2001). Ενεργές μορφές οξυγόνου (AOS active oxygen species), συμπεριλαμβανομένου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου, παίζουν σπουδαίο ρόλο στην άμυνα των φυτών έναντι προσβολής παθογόνων. Αυξημένες συγκεντρώσεις H₂O₂ σε διαγονιδιακή πατάτα οδήγησαν σε αυξημένη ανθεκτικότητα έναντι παθογόνων βακτηρίων και μυκήτων. Οι κόνδυλοι των φυτών αυτών έδειξαν δραστική ανθεκτικότητα στην ασθένεια του μαρασμού που προκαλείται από το *Verticillium*, στην ασθένεια του περονόσπορου που προκαλείται από το *Phytophthora infestans* και στη βακτηριακή ασθένεια μαλακή σήψη που προκαλείται από το *Erwinia carotovora*, υποείδος *carotovora*. Έτσι, η αύξηση της παραγωγής των AOS σε διαγονιδιακά

φυτά φαίνεται να οδηγεί σε ανθεκτικότητα έναντι ασθενειών από διάφορους φυτοπαθογόνους οργανισμούς (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ένας πιο αποτελεσματικός τρόπος άμυνας των φυτών σε μύκητες, σε βακτήρια και σε ιούς είναι η αντίδραση υπερευαισθησίας (HR). Η αντίδραση HR επάγεται στην αλληλεπίδραση φυτού-παθογόνου, μόνο όταν το φυτό περιέχει ένα γονίδιο ανθεκτικότητας που "αναγνωρίζει" το αντίστοιχο γονίδιο μη-τοξικότητας του παθογόνου. Η αλληλεπίδραση φυτού και παθογόνου οδηγεί σε ασθένεια όταν υπάρχει απουσία ή μετάλλαξη ενός εκ των δύο γονιδίων, ή και των δύο. Έχουν απομονωθεί διάφορα γονίδια ανθεκτικά σε ασθένειες. Ένα από αυτά είναι το γονίδιο *Pto* από την τομάτα που κωδικοποιεί μια ενεργή πρωτεϊνική κίνηση σερίνης/θρεονίνης και ενδεχομένως εμπλέκεται στη μεταγωγή σήματος. Η ανθεκτικότητα που παρέχεται από το γονίδιο αυτό διατηρείται όταν αυτό εισαχθεί και σε ετερόλογα φυτικά συστήματα. Διαγονιδιακός καπνός που περιέχει το γονίδιο *Pto* της τομάτας που κανονικά παρέχει ανθεκτικότητα σε στελέχη *P. syringae* pv. *tomato* και που εκφράζουν το μη-τοξικό γονίδιο *avrPto*, είναι ανθεκτικός σε στέλεχη του *P. syringae* pv. *tabaci* που έχουν το γονίδιο *avrPto* (Χατζόπουλος Π., 2001).

3.5 Ανθεκτικότητα σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις

Πρωταρχική αιτία της απώλειας φυτών παγκοσμίως είναι το αβιοτικό στρες, ιδιαίτερα η αλατότητα, η ξηρασία και οι ακραίες θερμοκρασίες. Στο μέλλον αυτές οι απώλειες θα αυξηθούν καθώς οι υδάτινοι πόροι μειώνονται και η ερημοποίηση εντείνεται (Vinocur B, Altman A., 2005). Η ξηρασία και η αλατότητα αναμένεται να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα όλων των καλλιεργήσιμων εκτάσεων μέχρι το 2050, απαιτώντας την εφαρμογή νέων τεχνολογιών για την επιβίωση τους. Παρόλο αρκετών υποσχόμενων στόχων στην παραγωγή γενετικά τροποποιημένων φυτών ανθεκτικών στους αβιοτικούς παράγοντες η έρευνα παραμένει σε εξέλιξη σε εργαστηριακό επίπεδο. Ένα παράδειγμα είναι η μελέτη των (Shou H. et al., 2004) που καταδεικνύει ότι η έκφραση ενός ενζύμου σε γενετικά τροποποιημένο αραβόσιτο ενεργοποιεί ένα οξειδωτικό σήμα καταρράκτη που προσδίδει κρύο, θερμότητα και αλατότητα.

Μια ακόμη από τις προσπάθειες των βιοτεχνολόγων είναι να δημιουργήσουν ποικιλίες οι οποίες να είναι ανθεκτικές στις ακραίες συνθήκες του περιβάλλοντος, όπως παγετοί, ξηρασία, αλατότητα, υψηλά επίπεδα υπεριώδους ακτινοβολίας, τοξικά μέταλλα. Θέλουν δηλαδή να δημιουργήσουν φυτά που να αντέχουν σε διάφορες περιπτώσεις αβιοτικής καταπόνησης (stress). Τα μοριακά φαινόμενα που υπογραμμίζουν τις καταπονήσεις αυτές είναι η επαγωγή της έκφρασης και της σύνθεσης συγκεκριμένων πρωτεϊνών, όπως θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες (HSP), ώστε να ανταπεξέλθουν στις συνθήκες αυτές. Όμως οι αβιοτικές καταπονήσεις δημιουργούν και ανεπιθύμητα επακόλουθα όπως οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Χατζόπουλος Π., 2001). Η έρευνα όμως σε αυτή την περίπτωση παρουσιάζει περισσότερες δυσκολίες σε σχέση με άλλες εφαρμογές της γενετικής μηχανικής, επειδή στην ανταπόκριση του φυτού στους διάφορους τύπους καταπόνησης εμπλέκονται τις περισσότερες φορές πολλά γονίδια. (Εδώ κι αν δεν χρειάζεται γενετική χειραγώγηση. Αρκεί η μόλυνση με μυκορριζικούς μύκητες).

Σε μοριακό επίπεδο, ένα από τα ανεπιθύμητα επακόλουθα της καταπόνησης είναι η παραγωγή ριζών οξυγόνου. Συνεπώς οι ερευνητές προσπαθούν να δημιουργήσουν φυτά με αντοχή σε αυξημένα επίπεδα ριζών O_2 και έτσι θα είναι ανθεκτικά στις διάφορες περιπτώσεις αβιοτικών καταπονήσεων. Ένας κοινός τύπος βλαβερής ρίζας οξυγόνου είναι το ανιόν του υπεροξειδίου (O_2^-). Σε κανονικές συνθήκες το ανιόν του υπεροξειδίου μετατρέπεται από το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) το οποίο στη συνέχεια διασπάται σε νερό και οξυγόνο από τα

ένζυμα υπεροξειδάσες και καταλάσες. Τα φυτά έχουν αρκετά διαφορετικά ισοένζυμα δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Χατζόπουλος Π., 2001).

Οι χλωροπλάστες έχουν τη δισμουτάση του υπεροξειδίου τύπου Cu/Zn, ενώ το ίδιο ισοένζυμο υπάρχει στο κυτταρόπλασμα σε μικρή ποσότητα. Ο τύπος Mn του ενζύμου εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια ενώ άλλα φυτά περιέχουν χλωροπλαστική δισμουτάση του υπεροξειδίου τύπου Fe. Όλα τα γονίδια είναι πυρηνικής προέλευσης. Διαγονιδιακός καπνός με εισαγόμενο το γονίδιο της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, κάτω από την επίδραση του συστατικού υποκινητή 35S, ήταν ανεκτικός στις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου λόγω ταχείας κατάλυσης. Σε μεταγενέστερα πειράματα όπου ο διαγονιδιακός καπνός έφερε ένα γονίδιο (cDNA) δισμουτάσης του υπεροξειδίου τύπου Cu/Zn που εντοπίζεται στο χλωροπλάστη, κάτω από την επίδραση του υποκινητή 35S του ιού του CaMV, ήταν πολύ περισσότερο ανθεκτικός στις καταστροφές που προξενούνται από υπερβολική δόση φωτός (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η δοκιμή έδειξε ότι ο διαγονιδιακός καπνός διατηρούσε το 95% της φωτοσυνθετικής του ικανότητας κάτω από συνθήκες όπου τα μη μετασχηματισμένα φυτά έχασαν όλη τη φωτοσυνθετική τους ικανότητα. Με μια άλλη προσέγγιση, διαγονιδιακά φυτά που φέρουν το ένζυμο δισμουτάση του υπεροξειδίου, τύπου Mn, κλωνοποιημένο έτσι ώστε να κατευθύνεται στις καταστροφικές συνέπειες του όζοντος απ' ότι τα μη διαγονιδιακά φυτά (Χατζόπουλος Π., 2001). Η SOD μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και για τη διατήρηση της ποιότητας των κομμένων ανθέων. Η μάρανση των πετάλων οφείλεται εν μέρει σε ρίζες οξυγόνου που παράγονται κατά το γηρασμό των ανθέων. Οπότε η υπερέκφραση της SOD μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ζωής των κομμένων ανθέων (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ένα άλλο πρόβλημα της σύγχρονης γεωργίας είναι η αυξημένη αλατότητα του εδάφους και η ξηρασία. Υπάρχουν πολλά φυτά που αντιμετωπίζουν αυτές τις συνθήκες συνθέτοντας ενώσεις μικρού μοριακού βάρους, γνωστές ως οσμοπροστατευτικά (σάκχαρα, αλκοόλες, προλίνη και τεταρτογενείς ενώσεις του αμμωνίου). Σκοπός των ενώσεων αυτών είναι να διευκολύνουν την πρόσληψη νερού και να σταθεροποιούν και να προστατεύουν τα μακρομόρια του κυττάρου από ζημιές που προκαλεί η υψηλή αλατότητα. Ιδίως η τεταρτογενής ένωση του αμμωνίου μεταϊνή είναι ένας πολύ αποτελεσματικός ωσμολύτης που συσσωρεύεται σε μερικά φυτά σε περιόδους ξηρασίας ή υψηλής αλατότητας. Οι μεταβολίτες αυτοί προάγουν τη λήψη και την κατακράτηση νερού. Έτσι, προστατεύουν το φυτικό κύτταρο, σταθεροποιώντας δομές μακρομορίων, από τη ξηρασία και την υψηλή συγκέντρωση άλατος (λόγω αραίωσης από την αύξηση του νερού) (Χατζόπουλος Π., 2001). Πολλά καλλιεργούμενα φυτικά είδη υψηλής σημασίας όπως το ρύζι, η πατάτα και η τομάτα δεν συσσωρεύουν μεταϊνή. Συνεπώς αν σε αυτά τα φυτά εισαχθούν γονίδια βιοσύνθεσης της μεταϊνής, μπορούν να μετατραπούν σε ανθεκτικά. Πράγματι, σε πειραματικές συνθήκες, γενετικά τροποποιημένα φυτά καπνού που βιοσυνθέτουν μεταϊνή ήταν 80% πιο ανθεκτικά σε υψηλά επίπεδα αλατότητας από τα κανονικά φυτά. Η αντιμετώπιση του παγετού που προκαλεί σημαντικές καταστροφές σε πολλές καλλιέργειες, είναι ένας ακόμη στόχος της γενετικής μηχανικής. Ορισμένοι οργανισμοί οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στις χαμηλές θερμοκρασίες έχουν γονίδια που παράγουν αντιπηκτικές πρωτεΐνες. Αν αυτά τα γονίδια μεταφερθούν σε μη ανθεκτικά φυτά, εξασφαλίζεται η αντοχή αυτών των φυτών στον παγετό και προστατεύονται τα προϊόντα τους κατά τη μετασυλλεκτική αποθήκευσή τους σε χαμηλές θερμοκρασίες (Χατζόπουλος Π., 2001).

Τέλος υπάρχουν φυτά που παρουσιάζουν αυξημένη ικανότητα επιβίωσης σε εδάφη μολυσμένα με βαρέα μέταλλα. Φυτά του γένους *Alyssum* (*Brassicaceae*) συσσωρεύουν νικέλιο έως και 3% του ξηρού τους βάρους, πιθανότατα λόγω της ικανότητας τους να σχηματίζουν σύμπλοκα νικελίου με το αμινοξύ ιστιδίνη, που το παράγουν σε μεγάλες ποσότητες. Η τροποποίηση επομένως, του μεταβολισμού των αμινοξέων των φυτών έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία φυτών ανθεκτικών σε

εδάφη μολυσμένα με νικέλιο. Αυτά τα φυτά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την απορρύπανση μολυσμένων εδαφών (Κ.Α. Λουλακάκης, 1999).

4. Νομοθεσία και Γενετικά Τροποποιημένα Φυτά/Προϊόντα

4.1 Το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης για τη Βιοασφάλεια

Το Πρωτόκολλο της Καρθαγένης για τη Βιοασφάλεια υπογράφηκε σε περισσότερες από 130 χώρες στις 29 Ιανουαρίου του 2000, στο Μόντρεαλ του Καναδά. Ονομάζεται « Πρωτόκολλο της Καρθαγένης» προς τιμή της Κολομβίας η οποία φιλοξένησε το Συνέδριο για τη Βιολογική Ποικιλία (Convention on Biological Diversity – CBD) στην Καρθαγένη το 1999. Ο σκοπός αυτού του πρώτου Πρωτοκόλλου στο CBD ήταν να συνεισφέρει στην ασφαλή μεταφορά, χειρισμό και τη χρήση των ζωντανών τροποποιημένων οργανισμών (ΖΤΟ), όπως για παράδειγμα γενετικά τροποποιημένα φυτά, ζώα και μικρόβια, τα οποία διακινούνται διεθνώς. Το Πρωτόκολλο για τη Βιοασφάλεια είχε επίσης σκοπό να διατηρήσει τη βιοποικιλότητα, χωρίς μη αναγκαίες διαταράξεις του παγκόσμιου εμπορίου τροφίμων. Η ισχύς του Πρωτοκόλλου θα ξεκινούσε από την 11η Σεπτεμβρίου του 2003 (Aaron Cosbey, Stas Burgiel, 2000).

Βασικές Διατάξεις του Πρωτοκόλλου για τη Βιοασφάλεια:

- Συνάινεση μετά από ενημέρωση (Advanced Informed Agreement – AIA)

Η διαδικασία AIA του Πρωτοκόλλου, στην ουσία απαιτεί ότι ο εξαγωγέας θα λάβει τη συγκατάθεση από τη χώρα εισαγωγής για την πρώτη τοποθέτηση στο περιβάλλον ενός ΖΤΟ.

Η διαδικασία AIA δεν έχει εφαρμογή στους ΖΤΟ που προορίζονται για τροφή, ζωοτροφή ή επεξεργασία (π.χ. καλαμπόκι, σόγια ή βαμβάκι), σε αυτούς που βρίσκονται υπό μεταφορά και σε αυτούς που προορίζονται για συγκεκριμένη χρήση (π.χ. οργανισμοί που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν μόνο για επιστημονική έρευνα μέσα στο εργαστήριο).

Οι εισαγωγείς υποτίθεται ότι θα πρέπει να πάρουν αποφάσεις μέσα σε 270 ημέρες από την ειδοποίηση για την εξαγωγή, βασισμένες σε επιστημονική ανάλυση κινδύνων, σχετικά με την εισαγωγή ή όχι των ΖΤΟ που πρόκειται να εισαχθούν στο περιβάλλον.

- Εμπορευματικές Απαιτήσεις / Ίδρυμα για τη Βιοασφάλεια

Η συμφωνία αυτή απαιτεί από τις κυβερνήσεις να παρέχουν στο Ίδρυμα για τη Βιοασφάλεια πληροφορίες σχετικά με κάθε τελική απόφαση για την εγχώρια χρήση ενός ΖΤΟ μέσα σε 15 ημέρες από τη λήψη της απόφασης.

- Τεκμηρίωση

Η συμφωνία διατυπώνει διαφορετικές απαιτήσεις τεκμηρίωσης για διαφορετικούς τύπους ΖΤΟ:

α) Τα έγγραφα που συνοδεύουν τα φορτία ΖΤΟ που προορίζονται για εισαγωγή στο περιβάλλον (π.χ. σπόροι) θα πρέπει να ορίζουν το φορτίο που περιέχει ΖΤΟ μαζί βέβαια και με τα χαρακτηριστικά και τις ιδιαιτερότητες του ΖΤΟ, καθώς και οδηγίες για ασφαλή χειρισμό, αποθήκευση, μεταφορά και χρήση, κάποιο τηλέφωνο επικοινωνίας για περισσότερες πληροφορίες, δήλωση ότι η διακίνηση του προϊόντος είναι σύμφωνη με τις αρχές του παρόντος Πρωτοκόλλου και τέλος το όνομα και τη διεύθυνση του εξαγωγέα και του εισαγωγέα.

β) Τα έγγραφα που συνοδεύουν τα φορτία ΖΤΟ που προορίζονται για τροφή ή ζωοτροφή ή επεξεργασία θα πρέπει να αναφέρουν ότι το εμπόρευμα «μπορεί να περιέχει» ΖΤΟ, ότι δεν πρόκειται να εισαχθεί σκόπιμα στο περιβάλλον και ένα σημείο επαφής για περισσότερες πληροφορίες.

γ) Τα έγγραφα που συνοδεύουν τα φορτία ΖΤΟ που προορίζονται για συγκεκριμένη χρήση (π.χ. επιστημονική έρευνα) θα πρέπει να αναφέρουν ότι το εμπόρευμα «περιέχει» ΖΤΟ και να καθορίζουν τις οδηγίες για ασφαλή χειρισμό, αποθήκευση, μεταφορά και χρήση, κάποιο στοιχείο επικοινωνίας για

περισσότερες πληροφορίες και τέλος το όνομα και τη διεύθυνση του ιδιώτη και του ιδρύματος στους οποίους αποστέλλονται.

- Υπάρχοντα Δικαιώματα και Υποχρεώσεις

Τα μέρη του Πρωτοκόλλου θα πρέπει να εκτελούν τα δικαιώματα και τις υποχρεώσεις τους σύμφωνα με όσα αναγνωρίζει το Πρωτόκολλο πάντα σύμφωνα με τα διεθνή δικαιώματα και υποχρεώσεις, συμπεριλαμβανομένων και των χωρών που δεν συμμετέχουν στη συμφωνία.

- Αρχή της Προφύλαξης

Σύμφωνα με το Πρωτόκολλο «Η έλλειψη επιστημονικής βεβαιότητας λόγω ανεπαρκών σχετικών επιστημονικών πληροφοριών και γνώσεων σχετικά με την έκταση των πιθανών παρενεργειών ενός ΖΤΟ στη διατήρηση και παράταση της βιοποικιλότητας από την πλευρά του εισαγωγέα, λαμβάνοντας υπόψη και τους κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία, δεν θα εμποδίσει αυτόν από τη λήψη της κατάλληλης απόφασης, έτσι ώστε να ελαχιστοποιεί τα αρνητικά αποτελέσματα».

- Εμπόριο με μη συμμετέχοντες στη συμφωνία

Το Πρωτόκολλο δηλώνει ότι οι «διασυνοριακές μετακινήσεις ΖΤΟ μεταξύ Μερών και Μη-Μερών θα πρέπει να είναι σύμφωνες με το σκοπό του Πρωτοκόλλου». Για το λόγο αυτό, θα πρέπει και οι χώρες που δεν ανήκουν στη συμφωνία και θέλουν να εξάγουν σε χώρα που είναι μέρος της συμφωνίας, να ακολουθήσουν τους κανονισμούς που περιέχει το Πρωτόκολλο.

(Τ.Κ. Βιδάλης, Κ. Μανωλάκου, Γ. Μπαλιάς, 2004).

Παραλήψεις του Πρωτοκόλλου:

- Δεν περιλαμβάνει θέματα σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων.
- Δεν απαιτεί διαχωρισμό των εμπορευμάτων που μπορεί να περιέχουν ΖΤΟ.
- Δεν περιλαμβάνει προϊόντα, τα οποία παρεμποδίζουν σημαντικά τη λειτουργία του εμπορίου και διακινδυνεύουν τη δυνατότητα πρόσβασης στα τρόφιμα, χωρίς να έχουν ανάλογο όφελος για το περιβάλλον.
- Δεν απαιτεί τη σήμανση των καταναλωτικών προϊόντων, αλλά ασχολείται μόνο με τους κινδύνους των ΖΤΟ που μπορεί να σχετίζονται με τη βιοποικιλότητα. Επίσης, θέματα σχετιζόμενα με την προστασία των καταναλωτών δεν ήταν μέρος των διαπραγματεύσεων.

(Τ.Κ. Βιδάλης, Κ. Μανωλάκου, Γ. Μπαλιάς, 2004).

4.2 Παγκόσμιος Οργανισμός Εμπορίου

Από την έναρξη της λειτουργίας του (ως μετεξέλιξη της General Agreement on Tariffs and Trade, GATT, Γενική Συμφωνία Δασμών και Εμπορίου) το 1995, ο ΠΟΕ (Παγκόσμιος Οργανισμός Εμπορίου) έχει γίνει ένας από τους πιο σημαντικούς διεθνείς οργανισμούς, παρέχοντας τη βάση για τη διαπραγμάτευση και ενίσχυση των παγκόσμιων κανόνων για το διεθνές εμπόριο και την οικονομική δραστηριότητα. Ο ΠΟΕ προσπαθεί να απαλείψει τα σύνορα για το εμπόριο, να εμποδίσει τη διάκριση μεταξύ των συμμετεχόντων στο παγκόσμιο εμπορικό σύστημα και να επιλύσει συγκεκριμένες εμπορικές διαφωνίες (Simonetta Zarrilli, 2000). Καθώς αυξάνεται ο όγκος του διεθνούς εμπορίου, σε απόλυτα μεγέθη και σε ποσοστό επί της συνολικής παραγωγής, ο ρόλος του ΠΟΕ θα συνεχίσει να μεγαλώνει. Το παγκόσμιο σύστημα εμπορίου ελέγχεται από μια σειρά συμφωνιών, γνωστές ως Συμφωνίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Εμπορίου που ορίζουν τα δικαιώματα και τις υποχρεώσεις των μελών του και οδηγούν τις πολιτικές τους προς την οικονομική απελευθέρωση. Καθώς, ελέγχουν το εμπόριο των αγαθών, αυτοί οι κανόνες περιορίζουν τους τρόπους

με τους οποίους οι κυβερνήσεις μπορούν να νομοθετήσουν για την προστασία της υγείας και του περιβάλλοντος (G.E. Isaac, W.A. Kerr, 2003).

Ο ΠΟΕ περικλείει, επίσης, μια διαδικασία για την αποκατάσταση των διαφωνιών μεταξύ των διαφόρων μερών. Οι δικαστικές αποφάσεις λαμβάνονται από μια ομάδα ειδικά εκλεγμένων εμπορικών συμβούλων οι οποίοι βασίζονται στην ερμηνεία των ευθυνών της κάθε χώρας, κάτω από τις Συμφωνίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Εμπορίου.

Τέσσερις από αυτές τις συμφωνίες του ΠΟΕ (1994) φαίνεται να έχουν ιδιαίτερη εφαρμογή στο διεθνές εμπόριο για τους ΓΤΟ, με τους δύο πρώτους να έχουν μεγαλύτερη σημασία και πιθανή εφαρμογή:

- 1) Η Συμφωνία για τα Προστατευτικά και Φυτοπροστατευτικά Μέτρα (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures - SPS)
- 2) Η Συμφωνία για τα Τεχνικά Εμπόδια στο Εμπόριο (Agreement on Technical Barriers to Trade – TBT)
- 3) Η Συμφωνία για τα Δικαιώματα Διανοητικής Ιδιοκτησίας στον Τομέα του Εμπορίου (Agreement on Trade-Related Aspects of Intellectual Property Rights - TRIPS)
- 4) Η Γενική Συμφωνία Δασμών και Εμπορίου (General Agreement on Tariffs and Trade – GATT).

(M. Stilwell, B. Van Dyke, 1999).

Η Συμφωνία για τα Προστατευτικά και Φυτοπροστατευτικά Μέτρα (SPS Agreement), ασχολείται με την εφαρμογή των κανονισμών των σχετικών με την ασφάλεια των τροφίμων και την υγεία των ζώων και φυτών. Ενώ επιτρέπει στις χώρες να θέτουν τα δικά τους πρότυπα, απαιτεί παράλληλα οι κανονισμοί να βασίζονται στην επιστήμη και να εφαρμόζονται μόνο μέχρι τον αναγκαίο βαθμό, προκειμένου να εξασφαλιστεί η προστασία της ζωής και υγείας των ανθρώπων, των ζώων και φυτών. Θέτοντας κανόνες βασισμένους στην επιστήμη και απαιτώντας ανάλυση κινδύνου, η συγκεκριμένη Συμφωνία SPS στοχεύει να εμποδίζει τις κυβερνήσεις να χρησιμοποιήσουν τους νόμους περί υγείας και ασφάλειας για να θέτουν εμπόδια στο διεθνές εμπόριο και να προστατεύουν τις εγχώριες επιχειρήσεις. Η Συμφωνία αυτή έχει σχεδιαστεί να εμποδίσει τους εθνικούς νόμους που ρυθμίζουν την ποιότητα των τροφίμων και την εξάπλωση ασθενειών από υπερβολικό περιορισμό του διεθνούς εμπορίου. Η Συμφωνία αυτή περιέχει τρεις βασικές αρχές. Αρχικά, απαιτεί τα εθνικά μέτρα της Συμφωνίας που υπερβαίνουν τα διεθνή πρότυπα να βασίζονται στη διενέργεια ανάλυσης ρίσκου και σε επιστημονικές αποδείξεις. Επίσης, σε περιπτώσεις όπου μπορεί να επιτευχθεί ένα αποδεκτό επίπεδο κινδύνου, απαιτεί από τις κυβερνήσεις να επιλέξουν το νομοθέτημα που εξασφαλίζει τα πρότυπα υγείας, αλλά με τον λιγότερο περιοριστικό τρόπο για το εμπόριο. Επιπρόσθετα, σε αυτές τις υποχρεώσεις, η συγκεκριμένη Συμφωνία ενθαρρύνει τα μέλη της να αναγνωρίσουν τα μέτρα άλλων μελών ως ισοδύναμα, εφόσον αποδεικνύεται ότι τα μέτρα αυτά επιταχύνουν το ίδιο επίπεδο ασφάλειας της υγείας (M. Stilwell, B. Van Dyke, 1999).

Όσον αφορά τη **Συμφωνία για τα Τεχνικά Εμπόδια στο Εμπόριο (Agreement on Technical Barriers to Trade – TBT)**, αυτή στοχεύει στο να εξασφαλίσει ότι τα μέλη του ΠΟΕ δεν χρησιμοποιούν εθνικούς κανονισμούς, πρότυπα, ελέγχους και διαδικασίες πιστοποίησης για τη δημιουργία άσκοπων εμποδίων στο εμπόριο. Η Συμφωνία αυτή σχεδιάστηκε για να αποτρέψει τη χρήση αυθαίρετων προτύπων για την προστασία της εγχώριας βιομηχανίας από τον ξένο ανταγωνισμό. Ενθαρρύνει τις χώρες να κάνουν χρήση των διεθνών προτύπων, όπου το κρίνουν αναγκαίο. Αυτή η αρμονία των προτύπων αναμένεται να διευκολύνει το εμπόριο, μειώνοντας την ποικιλία διαφορετικών και μερικές φορές ασυμβίβαστων προτύπων με τα οποία ο παραγωγός θα πρέπει να συμβιβαστούν, έτσι ώστε να εισχωρήσουν σε διαφορετικές αγορές. Η Συμφωνία αυτή

καλύπτει ένα ευρύ φάσμα εθνικών κανόνων, συμπεριλαμβανομένων και πολλών για την προστασία του περιβάλλοντος. Χωρίζει αυτούς τους κανόνες σε δύο κατηγορίες: τους «τεχνικούς κανονισμούς» και τα «πρότυπα». Οι τεχνικοί κανονισμοί είναι νόμοι που απαιτούν υποχρεωτική συμμόρφωση, όπως αυτοί για τις προδιαγραφές, τη σήμανση, τη συσκευασία και άλλα «τεχνικά» θέματα του προϊόντος, καθώς και την υποχρεωτική σήμανση των ΓΤΟ. Αντίθετα, τα «πρότυπα» είναι μη – δεσμευτικοί κανόνες και μπορούν να συμπεριλάβουν και εθελοντικά σχέδια σήμανσης των προϊόντων. Επίσης, η Συμφωνία συμπεριλαμβάνει και υποχρεώσεις σχετικές με την προετοιμασία, την υιοθέτηση και την εφαρμογή τεχνικών κανονισμών και προτύπων και διαδικασίες αποτίμησης εάν τα προϊόντα συμμορφώνονται προς αυτούς τους κανονισμούς και πρότυπα. Πολλές από αυτές τις υποχρεώσεις παρουσιάζονται σε έναν Κώδικα Καλής Συμπεριφοράς (Code of Good Conduct) που μπορεί να εφαρμοστεί σε ιδιωτικά και μη – κυβερνητικά σώματα (M. Stilwell, B. Van Dyke, 1999).

Η Συμφωνία για τα Δικαιώματα Διανοητικής Ιδιοκτησίας στον Τομέα του Εμπορίου (TRIPS), προβλέπει τη δυνατότητα εξαίρεσης από την κατοχύρωση με ευρεσιτεχνία ορισμένων «εφευρέσεων», για λόγους υπεροχής άλλων έννομων αγαθών. Μπορεί να θεωρηθεί σαν η συμφωνία που προάγει την υιοθέτηση των ΓΤΟ στο διατροφικό σύστημα. Σχετικά με το θέμα εφαρμογής της βιοτεχνολογίας στα γεωργικά προϊόντα και στα τρόφιμα υπάρχει το θέμα της απόκτησης ευρεσιτεχνίας σε ζωντανά φυτά ή ζώα, συμπεριλαμβανομένων και των βιοτεχνολογικών εφευρέσεων και των ποικιλιών φυτών. Επί του παρόντος, η συγκεκριμένη Συμφωνία δεν απαιτεί από τις διάφορες χώρες να παραχωρήσουν τις ευρεσιτεχνίες τους που έχουν σχέση με τα ζώα ή τα φυτά. Παρόλα αυτά, θα πρέπει να εξασφαλίσουν την προστασία των ποικιλιών των φυτών είτε μέσω ευρεσιτεχνιών, είτε με ένα αποτελεσματικό και μοναδικό στο είδος του σύστημα ή ακόμα και με ένα συνδυασμό των δύο. Ένα τέτοιο σύστημα που αφορά τα δικαιώματα των καλλιεργητών των φυτών προάγει εμπορικά ορισμένες ποικιλίες για βιομηχανικά γεωργικά συστήματα για τα οποία θα πρέπει οι αγρότες να πληρώνουν κάποιο ποσό κάθε φορά (royalty), για την απόκτηση των σπόρων με αποτέλεσμα να δημιουργείται επενδυτική ευκαιρία για τις χημικές και βιοτεχνολογικές βιομηχανίες. Έτσι, όσον αφορά τη σχέση των ευρεσιτεχνιών με την ανάπτυξη και εισαγωγή των γενετικά τροποποιημένων φυτών, θα πρέπει η κάθε χώρα να αναπτύξει πρώτα ένα κατάλληλο σύστημα κανόνων για τη βιοασφάλεια και στη συνέχεια να προχωρήσει στην υλοποίηση συστημάτων ευρεσιτεχνιών που θα ενθαρρύνουν την ανάπτυξη και απελευθέρωση αυτών των φυτών. Τέλος, οι κανόνες του ΠΟΕ δε θα πρέπει να περιορίσουν την ικανότητα των εθνικών κυβερνήσεων να θεσπίσουν νόμους σχετικά με τη σήμανση των προϊόντων που θα επιτρέπουν στους καταναλωτές να επιλέξουν προϊόντα ανάλογα με τις κοινωνικές, ηθικές, θρησκευτικές, διατροφικές και περιβαλλοντικές τους προτιμήσεις και να προστατέψουν το δικαίωμα τους να γνωρίζουν για τη γενετική τροποποίηση. Παρόλα αυτά, όσο περισσότερο οι σύμφωνες ομάδες αναγνωρίζουν, υποστηρίζουν και ζητούν αυτά τα δικαιώματα σε σχέση με το διεθνές εμπόριο, τόσο πιθανότερο είναι η υποχρεωτική σηματοδότηση των ΓΤΟ να αναγνωριστεί σαν σύμφωνη με τις απαιτήσεις του ΠΟΕ. Ακόμα, οι παραπάνω συμφωνίες του ΠΟΕ δεν κάνουν αναφορά στην αρχή της προφύλαξης, η οποία αποτελεί την κυριότερη βάση, επί της οποίας στηρίζονται οι ρυθμίσεις για τους ΓΤΟ τόσο στην Ε.Ε. όσο και στο Πρωτόκολλο της Καρθαγένης (M. Stilwell, B. Van Dyke, 1999).

4.3 Νομοθεσία για τα Γενετικά τροποποιημένα φυτά/ προϊόντα

Η εισαγωγή γενετικά τροποποιημένων προϊόντων στην παγκόσμια αγορά δημιούργησε την ανάγκη λήψης συγκεκριμένων μέτρων και τη θέσπιση νόμων και κανόνων ώστε να αντιμετωπίσουν οι ποικίλοι προβληματισμοί για τους πιθανούς κινδύνους απελευθέρωσης τους στο περιβάλλον και να

αντιμετωπιστούν οι εκάστοτε παράγοντες που αφορούν το κάθε προϊόν ξεχωριστά, ανάλογα με το περιβάλλον και τις χρήσεις του. Οι διαδικασίες άρχισαν από τις ΗΠΑ όπου υπήρχαν και τα πρώτα επιτεύγματα της γενετικής μηχανικής. Δεδομένου ότι η αλματώδης ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας συντελείται σε μια περίοδο που η κοινωνία είναι ιδιαίτερα ευαισθητοποιημένη και επιφυλακτική με τα επιστημονικά και τεχνολογικά επιτεύγματα, οι σχετικές νομοθετικές διατάξεις θα έπρεπε να γίνονται αντικείμενο διαλόγου ανάμεσα στην ανάγκη των χωρών για οικονομική ανάπτυξη και την επιθυμία του κοινού για ασφάλεια και ηθική. Στην Ευρώπη έχει θεσπιστεί ένα αυστηρό νομοθετικό πλαίσιο, το οποίο ισχύει και στην Ελλάδα.

1. **Αρχή «Οικειότητας» (Familiarity=Substantial Equivalence):** Σύμφωνα με την οποία εξετάζεται το κατά πόσον το ΓΤ φυτό είναι «συγκρίσιμο» με το συμβατικό ανάλογο του ως προς την ασφάλεια του περιβάλλοντος δηλαδή «σε σύγκριση, συνήθως με το μητρικό, μη - ΓΤ φυτό, εξετάζεται αν η ΓΤ προσθέτει νέους ή αυξάνει το μέγεθος των υπαρχόντων κινδύνων».
2. **Αρχή «Προγόνου Οργανισμού» (Antecedent Organism):** Σύμφωνα με αυτή την αρχή, εφόσον ένας οργανισμός έχει ήδη αξιολογηθεί (π.χ. ως προς την οικειότητα), οι μελλοντικές αξιολογήσεις ου μπορεί να είναι λιγότερο αυστηρές.
3. **Αρχή «Κατ' ουσίαν ισοδυναμία»:** Αποτελεί επιστημονική έννοια που αφορά την αξιολόγηση του τροφίμου για το αν είναι επαρκώς ασφαλές.
(Κυριακίδης, 2003).

4.3.1 Διεθνή νομοθεσία που αφορά τους ΓΤΟ ή τα προϊόντα τους

ΚΑΝΑΔΑΣ

Εμφανίζονται ομοιότητες με το καθεστώς που επικρατεί στις ΗΠΑ. Σε αρκετές περιπτώσεις υπάρχει εναρμόνιση των σχετικών κανονισμών και των απαιτήσεων από τις δύο χώρες. Οι αρμόδιες υπηρεσίες των δύο χωρών δουλεύουν σταθερά προς αυτή την κατεύθυνση.

Βασική Προσέγγιση: Εξετάζεται το προϊόν, όχι η διαδικασία.

Αρχές της Οικειότητας και της Κατ' ουσίαν Ισοδυναμίας (Κυριακίδης, 2003).

ΑΡΓΕΝΤΙΝΗ

Εμφανίζονται ομοιότητες με το καθεστώς των ΗΠΑ.

Βασική Προσέγγιση: Εξετάζεται το προϊόν, όχι η διαδικασία.

Νομοθεσία: Συνδυασμός προϋπάρχουσας και νέας (Κυριακίδης, 2003).

ΚΙΝΑ

Εξετάζεται το προϊόν, όχι η διαδικασία.

Αρχές της οικειότητας και της κατ' ουσίαν ισοδυναμίας.

1993: «Κανονισμός για τον έλεγχο της Γενετικής Μηχανικής ως προς τη Βιοασφάλεια».

Κατάταξη των ΓΤΟ σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με τις επιπτώσεις τους στο περιβάλλον και τον άνθρωπο.

Δίνεται έμφαση στο οικονομικό ενδιαφέρον.

Έλλειψη, μέχρι πρόσφατα, ειδικής νομοθεσίας για τα τρόφιμα (Κυριακίδης, 2003).

4.3.2 Νομοθεσία των ΗΠΑ που αφορά τους ΓΤΟ ή τα προϊόντα τους

Στις ΗΠΑ από το 1986 θεσπίστηκε το CFRB (Coordinated Framework for Regulation of Biotechnology), δηλαδή το Συντονισμένο Πλαίσιο Ρυθμίσεων για τη Βιοτεχνολογία που βρίσκεται σε ισχύ έως σήμερα. Βασική Αρχή του CFRB είναι ότι «Εξετάζεται κυρίως το προϊόν (ως προς τα χαρακτηριστικά του), παρά ο τρόπος με τον οποίο παράχθηκε το προϊόν». Στο πλαίσιο της Αμερικάνικης Νομοθεσίας εμπλέκονται τρεις Ομοσπονδιακές υπηρεσίες στην έγκριση για ελευθέρωση ΓΤΟ στο περιβάλλον: οι APHIS, FDA και EPA. Σε αντίθεση με την Ε.Ε. όπου το κανονιστικό πλαίσιο καλύπτει οργανισμούς/ προϊόντα που κατασκευάστηκαν με μεθόδους γενετικής μηχανικής, οι Αμερικάνικες υπηρεσίες εφαρμόζουν νομοθεσίες που αξιολογούν τον «οργανισμό/ προϊόν» και όχι την μέθοδο με την οποία παρήχθη. Η προσέγγιση αυτή δεν κατηγοριοποιεί τους ΓΤΟ με βάση τις μεθόδους γενετικής μηχανικής, αλλά με βάση τα ίδια τους τα χαρακτηριστικά (Πανόπουλος, 2003). Η Αμερικάνικη νομοθεσία αποδέχεται επίσης τη χρήση των ΓΤΟ στη βιολογική γεωργία.

1. APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service, Υπηρεσία Υγιεινού Ελέγχου ζώων και φυτών)

Η Υπηρεσία αυτή του Ομοσπονδιακού Υπουργείου Γεωργίας των ΗΠΑ (United States Department of Agriculture – USDA), αξιολογεί αιτήσεις για πειράματα μικρής έκτασης με ΓΤΟ, ελέγχοντας τους πιθανούς κινδύνους για το περιβάλλον από τις εν λόγω καλλιέργειες. Από το 1993 η υπηρεσία αυτή εφαρμόζει απλοποιημένες διαδικασίες (Notifications), που ισχύουν υπό ορισμένες συνθήκες για την απελευθέρωση ΓΤΟ στο περιβάλλον (Πανόπουλος, 2003).

2. FDA (Food and Drug Administration, Διεύθυνση Τροφίμων και Φαρμάκων)

Η υπηρεσία αυτή έχει ρυθμιστικό πεδίο την ασφάλεια και διατροφική αρτιότητα των περισσότερων τροφίμων και ζωοτροφών που προέρχονται από ΓΤΟ (εκτός από το κρέας και τα πουλερικά που ελέγχονται από το USDA και τα φυτοφάρμακα που είναι υπό την δικαιοδοσία της Ομοσπονδιακής υπηρεσίας Προστασίας του Περιβάλλοντος). Η FDA δεν απαιτεί σήμανση για τα τρόφιμα που προέρχονται από ΓΤΟ, εκτός αν η σύσταση του ΓΤ προϊόντος διαφέρει σημαντικά από το αντίστοιχο συμβατικό του (Πανόπουλος, 2003).

3. EPA (Environmental Protection Agency, Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος)

Έγκριση από αυτήν την υπηρεσία χρειάζονται μόνο ορισμένοι ΓΤΟ που περιέχουν γονίδια με εντομοκτόνες ιδιότητες (π.χ. γονίδια της ενδοτοξίνης από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*). Επίσης η EPA εγκρίνει την άδεια χρήσης ζιζανιοκτόνων για ΓΤ φυτά στα οποία έχουν ενσωματωθεί γονίδια αντοχής σε αυτά, χάρη όμως να ασχολείται με θέματα φυτοτοξικότητας των φαρμάκων αυτών ή τις πιθανές περιβαλλοντικές επιπτώσεις τέτοιων καλλιεργειών (Πανόπουλος, 2003).

Στην Αμερικάνικη Νομοθεσία εφαρμόζονται οι ακόλουθες αρχές (Κυριακίδης, 2003):

1. Αρχή της «Οικειότητας»
2. Αρχή του «Προγόνου Οργανισμού»

Οι βασικές διαφορές μεταξύ Ευρωπαϊκής και Αμερικάνικης νομοθεσίας για τους ΓΤΟ, μπορούν να συνοψιστούν στα ακόλουθα σημεία (Κυριακίδης, 2003):

1. Η Αμερικάνικη νομοθεσία εξετάζει κυρίως το προϊόν ως προς τα χαρακτηριστικά του και όχι ως προς τον τρόπο με τον οποίο παράχθηκε (δηλαδή ελέγχονται τα προϊόντα και όχι οι διαδικασίες). Οι ΓΤΟ, τουλάχιστον καταρχήν, δεν θεωρούνται ουσιαστικά διαφορετικοί από τους μη ΓΤΟ στην Αμερικάνικη νομοθεσία.
2. Στην Αμερικάνικη νομοθεσία δεν απαιτείται ειδικό ρυθμιστικό καθεστώς για τα προϊόντα της Βιοτεχνολογίας. Το ισχύον νομοθετικό πλαίσιο μπορεί να καλύψει και τα προϊόντα της Βιοτεχνολογίας, ενώ η επιβλέπουσα αρχή μπορεί να επιλαμβάνεται μόνο όταν υπάρχει ένδειξη ότι ο κίνδυνος από την εισαγωγή του προϊόντος είναι πολύ μεγάλος.

3. Στο ζήτημα της επισήμανσης διακρίνουμε δύο πολιτικές σε διεθνές επίπεδο. Από τη μια πλευρά τίθεται οι ΗΠΑ, ο Καναδάς και η Αργεντινή που δεν απαιτούν επισήμανση για τους ΓΤΟ, ενώ από την άλλη πλευρά η Ευρωπαϊκή Ένωση, η Άπω Ανατολή, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία υποστηρίζουν την υποχρεωτική σήμανση.

4.3.3 Ευρωπαϊκή Νομοθεσία

Η τοποθέτηση ΓΤΟ στην Ευρωπαϊκή αγορά ρυθμίζεται από ορίζοντες και κάθετες νομοθεσίες. Το ρυθμιστικό πλαίσιο στα κράτη-μέλη της Ε.Ε. βασίζεται κυρίως (Πανόπουλος, 2003):

Α) σε δύο κοινοτικές οδηγίες (Directives) του Ευρωπαϊκού συμβουλίου που πρωτοδημοσιεύτηκαν το 1990 και ενσωματώθηκαν στην Ελληνική νομοθεσία το 1995, με τις κοινές υπουργικές αποφάσεις 88740/1883 (ΦΕΚ 1008/Β'95) και 95267/1893/95 (ΦΕΚ 1030/Β'95). Πρόκειται για τις ακόλουθες οδηγίες:

1. Για την Οδηγία 90/220/EEC περί «καθορισμού μέτρων και όρων για την σκόπιμη απελευθέρωση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών στο περιβάλλον». Η Οδηγία αυτή συνιστά το κύριο «οριζόντιο» ρυθμιστικό πλαίσιο για όλους τους ΓΤΟ (φυτά, ζώα, μικροοργανισμούς) που προορίζονται για απελευθέρωση στο περιβάλλον.

2. Για την Οδηγία 90/219/EEC περί «καθορισμού μέτρων και όρων για την περιορισμένη χρήση γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών».

Β) στον Κανονισμό (Regulation) του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου 258/97 που καλύπτει «τα νεοφανή τρόφιμα και τα συστατικά τροφίμων», εγκρίθηκε από το Ευρωπαϊκό συμβούλιο τον Δεκέμβριο του 1996 και εφαρμόστηκε το ίδιο έτος. Ο Κανονισμός αυτός επιβάλλει τον έλεγχο των τροφίμων που προέρχονται ή συνίστανται από ΓΤΟ (εξάιρεση αποτελούν τα ένζυμα, οι βιταμίνες και τα βοηθητικά επεξεργασίας που έχουν τέτοια προέλευση).

Επίσης όσον αφορά την ιχνηλασιμότητα η πρόσφατη Οδηγία 18/2001 (τροποποίηση της Οδηγίας 90/220), «Για την σκόπιμη απελευθέρωση ΓΤΟ στο Περιβάλλον», υποχρεώνει τα κράτη-μέλη να εξασφαλίζουν την ιχνηλασιμότητα σε όλα τα στάδια της διακίνησης ΓΤΟ στην αγορά και προβλέπει την επισήμανση των ΓΤΟ στο πλαίσιο της χορήγησης άδειας κυκλοφορίας. Με τον όρο «ιχνηλασιμότητα» εννοούμε «την δυνατότητα εντοπισμού των ΓΤΟ και των προϊόντων που παράγονται από ΓΤΟ σε όλα τα στάδια της διάθεσης αυτών στην αγορά μέσω των αλυσίδων παραγωγής και διανομής με αποτέλεσμα να διευκολύνεται ο ποιοτικός έλεγχος καθώς και οι δυνατότητες απόσυρσης προϊόντων». Φυσικά όπως φαίνεται και από τα προαναφερόμενα η ιχνηλασιμότητα δεν αποτελεί καθαυτό μέτρο ασφαλείας αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διευκολύνει την εφαρμογή άλλων μέτρων (παρακολούθηση των προϊόντων και απόσυρση). Για την εφαρμογή του συστήματος της ιχνηλασιμότητας είναι απαραίτητη η συνεργασία όλων των εμπλεκόμενων φορέων π.χ. φορείς διακίνησης, αρμόδιες αρχές και καταναλωτές (Κυριακίδης, 2003).

Στην περίπτωση της επισήμανσης των τροφίμων ισχύουν τα εξής για τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα (Στεφανίτση, 2003):

- α) πρέπει να εγκριθούν με βάση τον κανονισμό «για τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα ή ζωοτροφές».

- β) αν διατίθεται στον τελικό καταναλωτή ή σε μονάδες μαζικής εστίασης πρέπει να είναι επισημασμένο με την ένδειξη «γενετικά τροποποιημένο».

- γ) αν πρόκειται για ΓΤ οργανισμούς που έχουν περάσει την πλήρη διαδικασία έγκρισης της Ε.Ε. και ανιχνεύεται η παρουσία τους σε ποσοστό <1% επί ενός εκάστου συστατικού και είναι βάσει στοιχείων από τυχαία επιμόλυνση, τότε δεν χρειάζεται να επισημανθεί η παρουσία αυτή.

δ) αν πρόκειται για ΓΤ οργανισμούς που δεν έχουν περάσει την πλήρη διαδικασία της Ε.Ε. αλλά η γενετική τροποποίηση τους είναι ευνοϊκά αξιολογημένη από κοινοτικά επιστημονικά όργανα, αν ανιχνεύεται η παρουσία σε ποσοστό <0,5%, και εφόσον προέρχεται βάσει στοιχείων από τυχαία επιμόλυνση, δεν χρειάζεται να περάσουν τη διαδικασία έγκρισης.

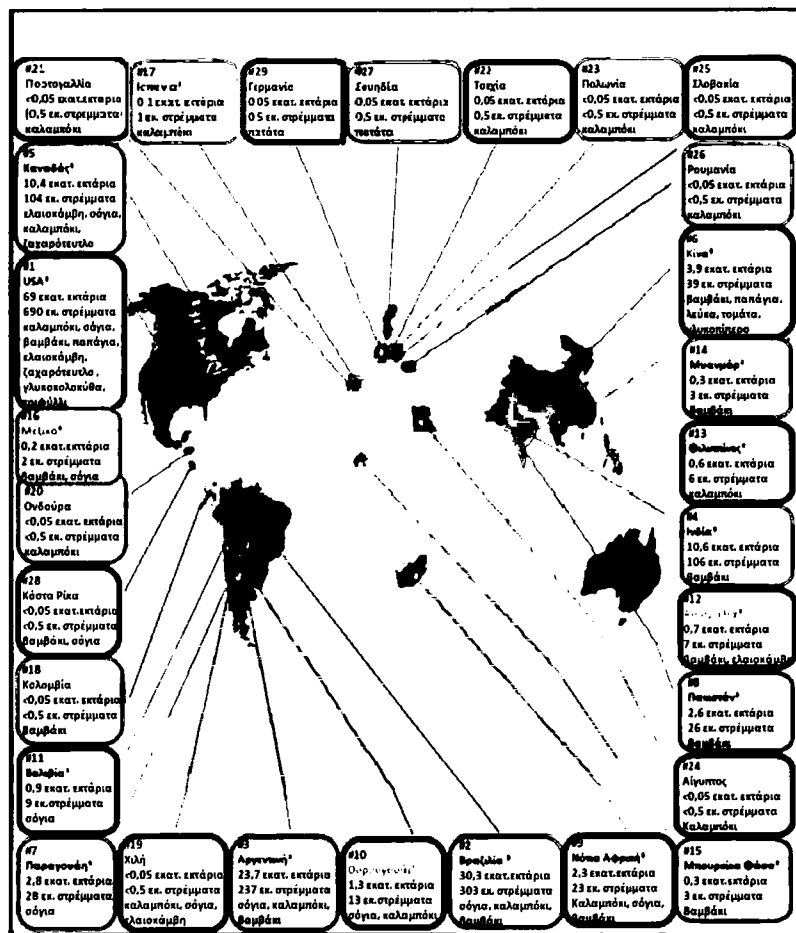
4.3.4 Ελληνική Νομοθεσία

Σύμφωνα με μια σχετικά πρόσφατη νομοθεσία (οδηγία 2015/412) για τις διαγονιδιακές καλλιέργειες, που υποβλήθει στην Ευρωπαϊκή επιτροπή Υγείας και Ασφάλειας Τροφίμων (DG SANTE). Η Ελλάδα και η Λετονία εξαιρέθηκαν από την πανευρωπαϊκή αδειοδότηση μιας ποικιλίας καλαμποκιού της Monsanto, η οποία είναι το μόνο γενετικά τροποποιημένο φυτό που καλλιεργείται σήμερα στην Ε.Ε., σύμφωνα με τον Γενικό Γραμματέα Αγροτικής Πολιτικής και Διαχείρισης των Κοινοτικών Πόρων του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων Δρ. Χαράλαμπος Κασίμης. Η απόφαση που υπογράφηκε από τον κ. Κασίμη συνεχίζει σταθερά την πολιτική της χώρας για την απαγόρευση γενετικά τροποποιημένων φυτών στον Ελλαδικό χώρο (Ελληνική Γεωργία, 2015).

4.4 Γενετικά Τροποποιημένα αγροτικά προϊόντα

Στις χώρες εκτός Ευρώπης, οι 5 κύριες αναπτυσσόμενες χώρες σε Γενετικά Τροποποιημένες Καλλιέργειες (ΓΤΚ) είναι η Κίνα και η Ινδία, η Βραζιλία και η Αργεντινή, και η Νότια Αφρική που καλλιεργούν συνολικά 71,4 εκατομμύρια εκτάρια – 714 εκατομμύρια στρέμματα (44% της παγκόσμιας έκτασης ΓΤΚ) και μαζί αντιπροσωπεύουν το 40% περίπου του παγκόσμιου πληθυσμού. Οι Η.Π.Α. συνέχισαν να είναι ο κυριότερος παραγωγός των ΓΤΚ παγκοσμίως με 69 εκατομμύρια εκτάρια – 690 εκατομμύρια στρέμματα με ιδιαίτερη ισχυρή ανάπτυξη στον αραβόσιτο και βαμβάκι το 2011 και την επαναλαμβανόμενη φύτευση του RR® μηδική – τριφύλλι που είναι η τέταρτη μεγαλύτερη καλλιέργεια εκτάσεων που καλύπτονται στις Η.Π.Α. (με περίπου 8 εκατομμύρια εκτάρια - 80 στρέμματα) μετά τον αραβόσιτο, την σόγια και το σιτάρι (James, 2011).

Όσον αφορά την Ευρώπη υπάρχουν δύο ΓΤΚ που καλλιεργούνται εμπορικά στην Ε.Ε., μια γενετικά τροποποιημένη ποικιλία αραβόσιτου η MON810 και μια ΓΤ ποικιλία πατάτας για παραγωγή ΓΤ αμύλου, γνωστή ως "Amflora" πατάτα (James, 2011). Σε 6 άλλες χώρες της Ε.Ε. (Ισπανία, Πορτογαλία, Γαλλία, Πολωνία, Σλοβακία και Ρουμανία) έχουν φυτευτεί 114.490 εκτάρια (1.144.900 στρέμματα) με ΓΤ καλαμπόκι Bt. Η έκταση αυτή αντιστοιχεί στο 26% ή σε 23.297 εκτάρια (232.970 στρέμματα) περισσότερο απ' ό τι είχαν καλλιεργηθεί το 2010, με την Ισπανία να έχει το 85% της καλλιέργειας του συνόλου της Ε.Ε. (James, 2011).



Εικόνα 15: Παγκόσμιος χάρτης των ΓΤΚ το 2011
 Πηγή: (James, 2011).

Όλα τα αυτά τα προϊόντα έχουν χαρακτηριστεί ως «κατ' ουσίαν ισοδυναμία» σύμφωνα με την οδηγία 79/112/ΕΟΚ.

Α. «Ισοδυναμία»: αποτελεί νομικό όρο που σχετίζεται με την μετά από ανάλυση διαφορά που προκύπτει στη σύνθεση των προϊόντων και υποστηρίζει την απαίτηση του καταναλωτή να γνωρίζει την προέλευση και τη σύνθεση του νέου τροφίμου.

Β. «Κατ' ουσίαν ισοδυναμία»: αποτελεί επιστημονική έννοια που αφορά την αξιολόγηση του τροφίμου για το αν είναι επαρκώς ασφαλές (Κυριακίδης, 2003).

Η καλλιέργεια της σόγιας ανέρχεται σε ποσοστό 47% ή 75,4 εκατομμύρια εκτάρια, το καλαμπόκι σε ποσοστό 32% ή 51,00 εκατομμύρια εκτάρια, το βαμβάκι σε 15% ή 24,7 εκατομμύρια εκτάρια και η ελαιοκράμβη σε 5% ή 8,2 εκατομμύρια εκτάρια για το 2011 (James, 2011). Επίσης, καλλιεργούνται γενετικά τροποποιημένα φυτά με αντοχή

Τα γενετικά τροποποιημένα προϊόντα που βρίσκονται ήδη στις αγορές έχουν περάσει μια σειρά από ελέγχους από τις κρατικές αρχές. Αυτές οι διαφορετικές εκτιμήσεις που γίνονται σε κάθε κράτος ακολουθούν συγκεκριμένες βασικές αρχές που περιλαμβάνουν τον έλεγχο των επιπτώσεων αυτών των προϊόντων στην υγεία και στο περιβάλλον (James, 2011).

4.5 Ζωοτροφές - Προϋποθέσεις έγκρισης

Οι γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες ρυθμίζονται αυστηρά από τα όργανα της κυβέρνησης. Η Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (The European Food Safety Authority) και κάθε μεμονωμένο κράτος μέλος έχει αναλύσει τις απαιτήσεις για την πλήρη αξιολόγηση κινδύνου γενετικά τροποποιημένων φυτών, τα παράγωγα τρόφιμα και τις ζωοτροφές (EFSA, 2004). Η παραγωγή ζωοτροφών αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος της αγοράς των γενετικά τροποποιημένων οργανισμών. Το 80% των εισαγωγών σόγιας και καλαμποκιού προορίζεται για την παραγωγή ζωοτροφών. Η χώρα μας εισάγει περίπου 500.000 τόνους σόγιας και 400.000 τόνους καλαμποκιού κάθε χρόνο. Το ποσοστό των εισαγωγών που περιέχει μεταλλαγμένους οργανισμούς παραμένει άγνωστο λόγω απουσίας συστηματικών ελέγχων (Schiermeier Q, 1997). Μέχρι στιγμής ελάχιστες επιστημονικές μελέτες έχουν ασχοληθεί με τις περιπτώσεις στην υγεία των ζώων και κατ' επέκταση στους ανθρώπους από την χρήση των μεταλλαγμένων στις ζωοτροφές. Σε αρκετές περιπτώσεις (π.χ. στα κοτόπουλα) η σόγια ξεπερνά το 20% της καθημερινής διατροφής τους, σε αντίθεση με τους ανθρώπους, τα ζώα καταναλώνουν τεράστιες ποσότητες σόγιας και καλαμποκιού σε όλο τον κύκλο της ζωής τους (Schiermeier Q, 1997).

Στις ΗΠΑ ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων, το υπουργείο Προστασίας Περιβάλλοντος, το Υπουργείο Γεωργίας και η υπηρεσία επιθεώρησης υγείας των ζώων και των φυτών, συμμετέχουν στην διαδικασία ρύθμισης της έγκρισης γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών (McKeon TA., 2003). Σύμφωνα με τη νέα Ευρωπαϊκή νομοθεσία για την σήμανση και την ιχνηλασιμότητα των γενετικά τροποποιημένων τροφίμων και ζωοτροφών (Κανονισμός 1829/2003 και Κανονισμός 1830/2003) καθίσταται υποχρεωτική η σήμανση τους είτε πάνω στην εμπορική συσκευασία είτε σε συνοδευτικό έγγραφο (Schiermeier Q, 1997). Παντού στην Ευρώπη οι καταναλωτές δείχνουν την αντίθεση τους στα γενετικά τροποποιημένα προϊόντα, η έρευνα του Ευρωβαρομέτρου (Δεκέμβριος 2001) δείχνει ότι το 93,3% των Ελλήνων καταναλωτών δεν θέλει να τρώσει γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για το σύνολο των Ευρωπαίων καταναλωτών ανέρχεται σε 71% (European Environment Agency, 2002).

4.6 Λευκή Βίβλος

Για τους καταναλωτές, η ασφάλεια είναι πιο σημαντικό συστατικό στη διατροφή τους. Οι πρόσφατες κρίσεις που παρουσιάστηκαν σε πολλές τροφές υπονόμισαν την εμπιστοσύνη του κοινού για την ικανότητα της βιομηχανίας τροφίμων και των νομικών αρχών να εξασφαλίσουν την ασφάλεια των τροφίμων. Όπως γνωρίζουμε, η ασφάλεια των τροφίμων είναι πρωταρχικής σημασίας για την Ευρωπαϊκή Ένωση και η "Λευκή Βίβλος" για την ασφάλεια των τροφίμων της 12^{ης} Ιανουαρίου 2000, θέτει τις βάσεις για μια προληπτική πολιτική αντιμετώπισης των νέων τροφίμων: εκσυγχρονίζει τη νομοθεσία σε ένα κατανοητό και ξεκάθαρο σύνολο κανόνων, ενισχύοντας τους ελέγχους «από το αγρόκτημα έως το τραπέζι» και βελτιώνοντας την ικανότητα του επιστημονικού συμβουλευτικού συστήματος, έτσι ώστε να εγυηθούν ένα υψηλό επίπεδο στην υγεία των ανθρώπων και στην προστασία του καταναλωτή (R. Pendrous, 2003).

Οι στρατηγικές προτεραιότητες της Λευκής Βίβλου είναι:

- Η δημιουργία μια Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority – EFSA)

- Η συνεπής εκτέλεση της προσέγγισης «από το αγρόκτημα στο τραπέζι» στη νομοθεσία των τροφίμων
- Να υιοθετηθεί η αρχή ότι οι διαχειριστές των τροφίμων και των ζωοτροφών έχουν βασική ευθύνη για την ασφάλεια τους, ότι τα κράτη-μέλη πρέπει να εξασφαλίζουν την επίβλεψη και τον έλεγχο αυτών των διαχειριστών και ότι η Ευρωπαϊκή Επιτροπή θα πρέπει να μπορεί να ελέγχει τις κινήσεις όλων των κρατών-μελών της.

Το Λευκό Βιβλίο για την ασφάλεια των τροφίμων υιοθετήθηκε στις 12 Ιανουαρίου 2000 σαν συνέχεια του Πράσινου Βιβλίου της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τη νομοθεσία των τροφίμων. Το Λευκό Βιβλίο καλύπτει το σύνολο της τροφικής αλυσίδας, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής ζωοτροφών, καθιερώνει ένα υψηλό επίπεδο προστασίας της υγείας των καταναλωτών και αποδίδει σαφώς την κύρια ευθύνη για την ασφαλή παραγωγή τροφίμων στη βιομηχανία, τους παραγωγούς και τους προμηθευτές. Επιπρόσθετα, καθιερώνονται οι κατάλληλοι επίσημοι έλεγχοι τόσο σε εθνικό όσο και σε ευρωπαϊκό επίπεδο. Η χρήση επιστημονικών συμβουλευτών ενισχύει την πολιτική για την ασφάλεια των τροφίμων, ενώ όπου χρειάζεται εφαρμόζεται η αρχή της προφύλαξης. Η ικανότητα λήψης ταχέων και αποτελεσματικών μέτρων προστασίας σε όλη την τροφική αλυσίδα ως απάντηση σε καταστάσεις έκτακτης ανάγκης σε σχέση με την υγεία, αποτελεί επίσης ένα πολύ σημαντικό στοιχείο του πλαισίου που εισάγει το Λευκό Βιβλίο.

Οι προτάσεις που περιέχονται στο βιβλίο αυτό σχετικά με τον τομέα των ζωοτροφών θα εξασφαλίσουν τη χρήση μόνο ασφαλών υλικών στην παραγωγή τους και τον αποτελεσματικότερο έλεγχο της χρήσης πρόσθετων ουσιών. Επίσης, με το Λευκό Βιβλίο θα αντιμετωπιστούν ορισμένα θέματα που αφορούν την ποιότητα των τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των πρόσθετων και των αρωματικών ουσιών, καθώς και των ισχυρισμών για την υγεία, ενώ θα βελτιωθούν οι έλεγχοι σχετικά με τα νέα τρόφιμα. Ακόμα, λόγω των κινδύνων που συνδέονται με τη μόλυνση των τροφίμων, θα ληφθούν μέτρα για τη βελτίωση της υπάρχουσας νομοθεσίας στους τομείς που η βελτίωση είναι αναγκαία για την παροχή ικανοποιητικής προστασίας. Με το παρόν βιβλίο, ενισχύονται οι έλεγχοι σε κοινοτικό επίπεδο και αναπτύσσονται πιο εύρηστες διαδικασίες εφαρμογής. Επίσης, επεκτείνονται οι έλεγχοι των εισαγωγών στα σύνορα της Ευρωπαϊκής Κοινότητας, έτσι ώστε να καλύπτουν όλα τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές και βελτιώνεται ο συντονισμός μεταξύ των σταθμών επιθεώρησης (R. Pendrous, 2003).

Προκειμένου να πεισθούν οι καταναλωτές ότι οι ενέργειες που προτείνονται στο Λευκό Βιβλίο θα οδηγήσουν σε πραγματική βελτίωση των προτύπων ασφαλείας των τροφίμων θα πρέπει να κρατούνται πλήρως ενημερωμένοι. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή μαζί με τη νέα Ευρωπαϊκή Υπηρεσία Ασφάλειας Τροφίμων θα προωθήσουν το διάλογο με τους καταναλωτές, προκειμένου να ενθαρρύνουν τη συμμετοχή τους στη νέα πολιτική για την ασφάλεια των τροφίμων που περιλαμβάνεται στο Λευκό Βιβλίο. Οι καταναλωτές έχουν δικαίωμα να λαμβάνουν χρήσιμες και σαφείς πληροφορίες, σχετικά με την ποιότητα και τα συστατικά των τροφίμων, έτσι ώστε να μπορούν να επιλέγουν εν γνώση τους. Στο βιβλίο υπάρχουν, επίσης, προτάσεις για την επισήμανση των τροφίμων που θα επεκτείνουν τους ισχύοντες κανόνες.

Ακόμα, και λόγω του ότι η Ευρωπαϊκή Ένωση είναι ο μεγαλύτερος εισαγωγέας και εξαγωγέας τροφίμων παγκοσμίως, οι ενέργειες που προτείνονται στο Λευκό Βιβλίο, θα πρέπει να παρουσιαστούν και να εξηγηθούν κατάλληλα σε όλους τους εμπορικούς εταίρους. Ο ενεργός ρόλος της Ευρωπαϊκής Επιτροπής στους διεθνείς φορείς θα αποτελέσει σημαντικό στοιχείο για την εξήγηση των ευρωπαϊκών εξελίξεων στην ασφάλεια των τροφίμων (R. Pendrous, 2003).

Συνοπτικά, η εφαρμογή όλων των μέτρων που προτείνονται στο Λευκό Βιβλίο επιτρέπει την πιο συντονισμένη και ολοκληρωμένη οργάνωση της ασφαλείας των τροφίμων, προκειμένου να επιτευχθεί το υψηλότερο δυνατό επίπεδο προστασίας της υγείας. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή δεσμεύεται να

αναθεωρήσει τη νομοθεσία ώστε να είναι πιο συνεπής, πλήρης και σύγχρονη. Σε συνεργασία με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Ασφάλειας Τροφίμων θα επιτευχθεί υψηλό επίπεδο προστασίας της υγείας των καταναλωτών και αποκατάσταση και διατήρηση της εμπιστοσύνης τους. Η επιτυχία των μέτρων που προτείνονται στο Λευκό Βιβλίο συνδέεται άμεσα με την ενίσχυση του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου. Η εφαρμογή τους θα εξαρτηθεί από τη δέσμευση των κρατών – μελών και από την ενεργό συμμετοχή των παραγωγών και των προμηθευτών που φέρουν την κύρια ευθύνη για την καθημερινή εφαρμογή των προδιαγραφών για την ασφάλεια των τροφίμων. Τέλος, το ζητούμενο σε όλο το βιβλίο είναι η μεγαλύτερη διαφάνεια σε όλα τα επίπεδα της πολιτικής για την ασφάλεια των τροφίμων, γεγονός που θα συνεισφέρει ουσιαστικά στην αύξηση της εμπιστοσύνης των καταναλωτών (R. Pendrous, 2003).

5. Οφέλη και Κίνδυνοι / Βιοηθική

5.1 Πλεονεκτήματα / Οφέλη Γενετικά Τροποποιημένων Φυτών

Στον αναπτυσσόμενο κόσμο, 840 εκατομμύρια άνθρωποι είναι χρόνια στα όρια του υποσιτισμού, επιβιώνοντας σε λιγότερα από 8000 kJ / ημέρα (2000 Kcal / ημέρα) (FAO, 2001). Περίπου 1,3 δισεκατομμύρια άνθρωποι ζουν με λιγότερο από US \$ 1 ημερησίως και δεν έχουν ασφαλή πρόσβαση στο φαγητό (Smith LC et al., 2000). Πολλοί από αυτούς είναι αγρότες στις αναπτυσσόμενες χώρες, οι οποίοι εξαρτώνται εξ ολοκλήρου από τη γεωργία μικρής κλίμακας για τη δική τους επιβίωση. (Christou P. and Twyman RM., 2004). Γενικά, δεν έχουν την οικονομική δυνατότητα να ποτίζουν τις καλλιέργειές τους ή να αγοράζουν ζιζανιοκτόνα ή φυτοφάρμακα, οδηγώντας σε έναν φαύλο κύκλο φτώχειας ανάπτυξης των καλλιεργειών, μειώνοντας τις αποδόσεις και την ευαισθησία των παρασίτων. Επιπλέον, ο παγκόσμιος πληθυσμός προβλέπεται να διπλασιαστεί μέσα στα επόμενα 40 χρόνια, με πάνω από 95% άτομα να γεννιούνται στις αναπτυσσόμενες χώρες (Byrnes BH, Bumb BL, 1998). Εκτιμάται ότι για την κάλυψη αυτών των αυξημένων απαιτήσεων, η παραγωγή τροφίμων πρέπει να αυξηθεί κατά το τουλάχιστον 40% εν όψει της μείωσης των γόνιμων εδαφών και των υδάτινων πόρων. Οι γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες είναι μία από τις διάφορες προσεγγίσεις που αναπτύσσονται για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων. Συγκεκριμένα, διεξάγονται μελέτες για τα γενετικά τροποποιημένα φυτά για την αύξηση των αποδόσεων των καλλιεργειών ή για την άμεση βελτίωση του περιεχομένου διατροφής (Byerlee D. et al., 2000 and Rosegrant MW. et al., 2001).

5.1.1 Διαγονιδιακά Φυτά και Διατροφή

Με τη βοήθεια της βιοτεχνολογίας μπορούν να επιτευχθούν πολλά οφέλη στα προϊόντα φυτικής προέλευσης όσον αφορά την γεύση, την ποιότητα και τα θρεπτικά συστατικά. Παράλληλα με τις μεταβολές των τροφών όσον αφορά την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, έχουν γίνει κι άλλες μετατροπές σε διάφορα φυτά όπως για παράδειγμα η παραγωγή του «χρυσού ρυζιού» (golden rice). Το Χρυσό Ρύζι, το οποίο αναπτύχθηκε από το Διεθνές Ινστιτούτο Ερευνών Ρυζιού και έχει προταθεί ως πιθανή λύση-θεραπεία για την ανεπάρκεια σε βιταμίνη Α, κυρίως σε παιδιά των χωρών του τρίτου κόσμου (International Rice Research Institute). Η ανεπάρκεια της βιταμίνης Α αντιστοιχεί σε περίπου 2 εκατομμύρια θανάτους παιδιών ανά έτος σε αυτές τις χώρες (Christou P. and Twyman RM., 2004). Αυτή η τροποποιημένη ποικιλία ρυζιού έχει αυξημένη περιεκτικότητα στη β-καροτίνη μια πηγή βιταμίνης Α και σιδήρου. Αυτό το τροποποιημένο προϊόν είναι μεγάλης αξίας, γιατί μπορεί να συμβάλει στην καταπολέμηση της παιδικής τύφλωσης που οφείλεται στην έλλειψη βιταμίνης Α, πρόβλημα που είναι σύνθητες σε πολλές χώρες του τρίτου κόσμου (Τ.Κ. Βιδάλης, Κ. Μανωλάκου, Γ. Μπάλιας, 2004).

Θα πρέπει, βέβαια να αναφερθεί, ότι βασική προϋπόθεση για την επιτυχία του «χρυσού ρυζιού» είναι η επιβεβαίωση της βελτιωμένης θρεπτικής του αξίας (International Rice Research Institute). Ανεξαρτήτως, αν το «χρυσό ρύζι» θα λύσει το πρόβλημα της αβιταμίνωσης Α στον τρίτο κόσμο, τα στοιχεία δείχνουν πως παρουσιάζει οριακά μεν, βελτιωμένα δε χαρακτηριστικά (Τ.Κ. Βιδάλης, Κ.

Μανωλάκου, Γ. Μπάλιας, 2004). Μέχρι σήμερα έχουν δημιουργηθεί αρκετοί συνδυασμοί γονιδίων ώστε να παραχθεί το χρυσό ρύζι αλλά το πρωτότυπο χρυσό ρύζι περιείχε 1,5μg καροτενίων ανά γραμμάριο. Αυτό το υψηλό ποσοστό είχε κριτικαριστεί αρκετά από την επιστημονική κοινότητα και κυρίως από πολέμιους της βιοτεχνολογίας. Παρόλα αυτά μελέτες που έγιναν έδειξαν πως πιθανόν να χρειάζεται ακόμα περισσότερη περιεκτικότητα σε προβιταμίνη Α (Paine JA et al., 2005). Για να αξιολογηθεί η απορρόφηση από τον ανθρώπινο οργανισμό και η βιοδιαθεσιμότητα, το US National Academy of Sciences Institute of Medicine εξέλιξε ένα σύστημα για τη δυνατή αξιολόγηση της απορρόφησης. Μετά από αυτή την διαδικασία, υπολογίστηκε πως 24 μg/g προβιταμίνης Α, δηλαδή 72g χρυσού ρυζιού (ωμού) μπορεί να προσδώσει το 50% του RDI (Recommended Daily Intake) σε παιδιά. Παρόλα αυτά, περισσότερες μελέτες πρέπει να διεξαχθούν ώστε να διαπιστωθεί εάν πραγματικά το χρυσό ρύζι είναι δυνατόν να βοηθήσει στην μετρίαση του προβλήματος της μη επαρκούς πρόσληψης βιταμίνης Α και στις συνέπειες που αυτή συνεπάγεται (Al-Babili S, Beyer P, 2005).



Εικόνα 16: Το γενετικά τροποποιημένο «χρυσό ρύζι»

Πηγή: <https://www.yraithros.gr/>

Μια ακόμη αποδοτική καλλιέργεια που ευδοκίμει στα εύκρατα κλίματα είναι η καλλιέργεια των τεύτλων και η παραγωγή σακχαρόζης. Το προϊόν έχει αρκετά υψηλή τιμή θερμίδων και τα τελευταία χρόνια οι καταναλωτές δεν προτιμούν γλυκαντικά με υψηλές θερμίδες. Ένα από τα γλυκαντικά χαμηλού μοριακού βάρους είναι οι φρουκτάνες, το πλεονέκτημα τους έναντι της σακχαρόζης είναι ότι οι φρουκτάνες δεν μπορούν να αποδομηθούν από πεπτικά ένζυμα ανθρώπου και έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν συστατικά τροφών με χαμηλές θερμίδες (Χατζόπουλος Π., 2001). Σήμερα, χαμηλού μοριακού βάρους φρουκτάνες παράγονται ενζυμικά από σακχαρόζη που προέρχεται από τεύτλα και ζαχαροκάλαμο με τη χρήση του ενζύμου τρανσφεράση του φρουκτοζυλίου από ένα στέλεχος του *Aspergillus niger*. Επειδή, όμως, η διαδικασία της παραγωγής της είναι αρκετά δαπανηρή οι φρουκτάνες δεν χρησιμοποιούνται τόσο πολύ σαν γλυκαντικά. Μια όμως διαγονιδιακή καλλιέργεια ζαχαροκάλαμου ή τεύτλου θα μπορούσε να συνθέτει χαμηλού μοριακού βάρους φυσικά προϊόντα, φρουκτάνες. Από αγρονομική καθώς και από βιοχημική πλευρά, τα τεύτλα θεωρούνται

ιδιαίτερα κατάλληλα για την παραγωγή φρουκτανών. Τα ζαχαρότευτλα αποθηκεύουν τη σακχαρόζη στα χυμοτόπια των κυττάρων της ρίζας, έτσι μπορεί να τροποποιηθεί με τη σύνθεση φρουκτανών μέσω ενζύμων που θα εντοπίζονται στα χυμοτόπια και η φρουκτόζη μετατρέπεται σε χαμηλού μοριακού βάρους φρουκτάνες. Τέτοιου είδους τροποποιήσεις στην παραγωγή υδρογονανθράκων από τα φυτά μπορεί να δημιουργήσουν καλλιέργειες με υψηλή προστιθέμενη αξία (Χατζόπουλος Π., 2001).

Η γεύση αποτελεί έναν ακόμη σημαντικό παράγοντα για τους καταναλωτές ακόμη και αν τα προϊόντα έχουν υψηλή διατροφική αξία. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την προσθήκη ζάχαρης ή άλλων καρυκευμάτων κατά την προπαρασκευή. Όμως, για την βιομηχανία τροφίμων θα ήταν πιο ωφέλιμο εάν κάποιες τροφές μπορούν να παρασκευαστούν εγγενώς πιο γευστικές. Η πρωτεΐνη μονελλίνη η οποία βρίσκεται στον καρπό του Αφρικανικού φυτού (*Dioscorephyllum cumminsii*), είναι πολύ πιο γλυκιά απ' ό τι η σακχαρόζη. Το χαρακτηριστικό αυτό γνώρισμα κάνει τη μονελλίνη υποψήφιο υποκαταστάτη της ζάχαρης με το πλεονέκτημα ότι επειδή είναι πρωτεΐνη δεν έχει την ίδια μεταβολική επίπτωση με της ζάχαρης (Χατζόπουλος Π., 2001). Το μειονέκτημα είναι ότι η μονελλίνη αποτελείται από δυο ξεχωριστές πολυπεπτιδικές αλυσίδες και αυτό περιορίζει τη χρησιμότητά της σαν γλυκαντικό. Για τη λύση του προβλήματος αυτού έχουν δημιουργηθεί διαγονιδιακά φυτά τα οποία περιέχουν ένα συνθετικό γονίδιο μονελλίνης που αποτελείται και από τις δυο πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Το γονίδιο αυτό εισήχθη σε πειράματα ντομάτας και μαρουλιού (Χατζόπουλος Π., 2001).

Ένα σοβαρό διατροφικό πρόβλημα που αντιμετωπίζει περίπου το 30% του παγκόσμιου πληθυσμού, είναι η έλλειψη σιδήρου. Το σπανάκι και τα όσπρια αποτελούν πηγή σιδήρου όμως περιέχουν και άλλα συστατικά που μειώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα. Η φεριτίνη είναι μια σιδηροαποθηκευτική πρωτεΐνη που βρίσκεται στα φυτά, στα ζώα και στα βακτήρια. Έτσι κατασκευάστηκε διαγονιδιακό ρύζι, με μεταφορά γονιδίου φεριτίνης από τη σόγια, με αυξημένο ποσοστό σιδήρου (Χατζόπουλος Π., 2001).

5.1.2 Διαγονιδιακά φυτά και Επιστήμη

Με τους γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς υπάρχουν ευκαιρίες και για την επιστήμη. Με την βιοτεχνολογία μπορούν να παραχθούν σε υψηλά επίπεδα φαρμακευτικά και βιομηχανικά προϊόντα από τα ίδια τα φυτά. Αυτή η δυνατότητα θα οδηγήσει στην ανάγκη ανάπτυξης εντελώς νέων επιχειρηματικών συστημάτων. Παραδείγματα αποτελούν τα γενετικά τροποποιημένα φυτά με πρωτεΐνες που δρουν σαν εμβόλια και φυτά με την ικανότητα να παράγουν βιομηχανικά έλαια και πλαστικά. Φυτικά κύτταρα έχουν τροποποιηθεί γενετικά για την παραγωγή βιοφαρμακευτικών προϊόντων σε βιοαντιδραστήρες, σε αντίθεση με την καλλιέργεια φυτών σε αγρούς. Οι μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με το είδος *Lemna minor* (Gasdaska et al., 2003), τα φύκια *Chlamydomonas reinhardtii* (PhysOrg 2013) και τα βρύα *Physcomitrella patens* (Büttner-Malnik et al., 2011, Baur et al., 2005). Μια ισραηλινή εταιρεία, η Protalix, έχει αναπτύξει μια μέθοδο για την παραγωγή θεραπευτικών προϊόντων σε καλλιέργειες διαγονιδιακών κυττάρων καρότου και καπνού. Η Protalix και ο εταίρος της, Pfizer, έλαβαν, το 2012, την έγκριση από την η αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) για την πώληση του φαρμάκου Elelyso, για την θεραπεία της νόσου του Gaueher. Επίσης, γίνονται έρευνες για την πιθανότητα τροποποιημένων φυτών να φτιάχνουν ακόμα και τις πρώτες ύλες που είναι αναγκαίες στην παραγωγή βιομηχανικών χημικών και πολυμερών, όπως είναι τα πλαστικά, με αποτέλεσμα να προσφέρεται με αυτόν τον τρόπο μια εναλλακτική λύση στα πετροχημικά έλαια. Τα φυτά ενδεχομένως θα μπορούσαν ακόμα και να παρέχουν τα συστατικά για την παραγωγή απορρυπαντικών, νάιλον, κόλλας, χρωμάτων και λιπαντικών (J. M. Dunwell, 2002).

Τέλος, τα τροποποιημένα φυτά θα μπορούσαν να παράγουν εμβόλια που λαμβάνονται από το στόμα. Ήδη πραγματοποιούνται κλινικές δοκιμές για ένα εμβόλιο κατά των παθογόνων εντερικών προβλημάτων (*enterotoxigenic Escherichia coli*). Επίσης, θα μπορούσαν να παραχθούν και εμβόλια κατά της ιλαράς και της χολέρας (Χατζόπουλος Π., 2001).

5.1.3 Διαγονιδιακά φυτά και Περιβάλλον

➤ Απορρύπανση

Τα διαγονιδιακά φυτά εξετάζονται για το πώς μπορούν να διαδραματίσουν θετικό ρόλο στο περιβάλλον μέσω της επιλεκτικής απομάκρυνσης των ρύπων. Για παράδειγμα, τα φυτά έχουν τροποποιηθεί γενετικά ώστε να συσσωρεύουν από το έδαφος ρύπους και βαρέα μέταλλα όπως ο υδράργυρος και το σελήνιο σε υψηλότερα επίπεδα από ότι θα ήταν εφικτό για τα μη γενετικά τροποποιημένα φυτά. Έτσι όχι μόνο μπορούν να αναπτυχθούν σε μολυσμένες περιοχές αλλά μπορούν να αποκαταστήσουν την μόλυνση. Τα φυτά αυτά μπορούν να συλλεχθούν και να καταστραφούν, τα βαρέα μέταλλα διατίθενται ή ανακυκλώνονται και το απολυμασμένο πεδίο επαναχρησιμοποιείται (Sasaki Y. et al., 2006 and Banuelos G. et al., 2007).

➤ Φυτοπροστατευτικά

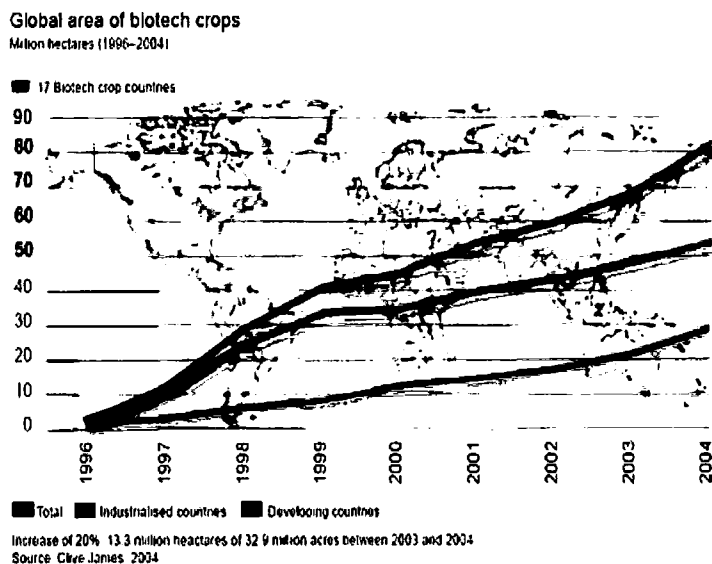
Με τα γενετικά τροποποιημένα φυτά μπορούν να πραγματοποιηθούν σημαντικά οφέλη και για το περιβάλλον. Αρχικά, μπορεί να επιτευχθεί μικρότερη χρήση εντομοκτόνων, ζιζανιοκτόνων, λιπασμάτων κ.τ.λ. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την καλύτερη διατήρηση του εδάφους και των υδάτων, όπως επίσης και την εξοικονόμηση ενέργειας. Ήδη τέτοιες τροποποιήσεις έχουν πραγματοποιηθεί σε καλλιέργειες καλαμποκιού, βαμβακιού, πατάτας, σε καλλιέργειες σόγιας, σιταριού και ντομάτας (D. G. Lindsay, 2002).

➤ Ανθεκτικότητα & Βελτίωση

Με τις καλλιέργειες που είναι ανθεκτικές σε ορισμένα ζιζάνια, οι καλλιεργητές μπορούν να χρησιμοποιήσουν ορισμένα από αυτά για να αντιμετωπίσουν τα διάφορα ζιζάνια χωρίς να κινδυνεύει παράλληλα η ίδια η καλλιέργεια από αυτά. Επίσης, υπάρχουν καλλιέργειες που έχουν σπλιστεί με γονίδια τα οποία είναι ανθεκτικά σε ιογενείς ασθένειες που καταστρέφουν τα φυτά. Παράλληλα, έχουν δημιουργηθεί καλλιέργειες με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά (D. G. Lindsay, 2002). Για παράδειγμα, από τροποποιημένα φιστίκια ή σόγια παράγονται σπορέλαια με υψηλή απόδοση κατά το μαγείρεμα, έτσι ώστε να φτιάχνονται πιο υγιεινά τρόφιμα. Υπάρχουν, ακόμα, τροποποιημένα φρούτα και λαχανικά με το χαρακτηριστικό της αργής ωρίμανσης, της καλύτερης γεύσης και χρώματος και της βελτιωμένης συνολικής σύστασης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν προς το παρόν οι τροποποιημένες ντομάτες και μελλοντικά τα βατόμουρα, φράουλες, κεράσια, μπανάνες και ο ανανάς. Παράλληλα, εμπλουτισμένα με θρεπτικά συστατικά τρόφιμα που προσφέρουν υψηλότερα επίπεδα βιταμινών και άλλων χρήσιμων για τον ανθρώπινο οργανισμό φυτικών συστατικών αποτελούν οι γλυκοπατάτες, το ρύζι, διάφορα φρούτα και λαχανικά (P.A. Goy, 2001).

5.1.4 Οικονομία – Διαγονιδιακές καλλιέργειες

5.1.4.1 Εξάπλωση καλλιεργειών GM σε παγκόσμια κλίμακα



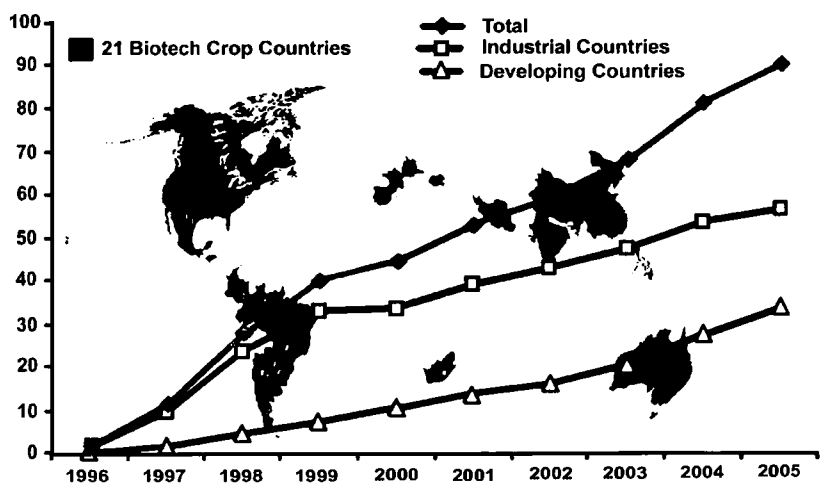
Εικόνα 17: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια από το 1996 έως 2004

Πηγή: Clive James, 2004

Σχετικά με την ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων (GM) καλλιεργειών στο παρελθόν, το 2004 αναπτύχθηκαν 81 εκατομμύρια εκτάρια γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών σε όλο τον κόσμο, ποσοστό που αυξήθηκε κατά 20% από τα 67,7 εκατομμύρια εκτάρια που καλλιεργήθηκαν το 2003 και αυξήθηκαν κατά 8,25 εκατομμύρια αγρότες σε 17 χώρες. Αυτό αντιπροσωπεύει 47 φορές αύξηση από την εισαγωγή των ΓΤ καλλιεργειών το 1996, όπως φαίνεται στο γράφημα 16 (Clive James, 2004).

Οι χώρες που αντιπροσωπεύουν την πλειοψηφία της παγκόσμιας καλλιεργητικής περιοχής είναι οι ΗΠΑ (59%), η Αργεντινή (20%), ο Καναδάς (6%), η Βραζιλία (6%) και η Κίνα (5%). Άλλες χώρες που καλλιεργούν περισσότερα από 50.000 εκτάρια γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών περιλαμβάνουν την Παραγουάη, την Ινδία, τη Νότια Αφρική, το Μεξικό, την Ισπανία, τις Φιλιππίνες, την Ουρουγουάη, την Αυστραλία και τη Ρουμανία. Η Γερμανία, η Ονδούρα και η Κολομβία έχουν επίσης αναπτύξει μικρές εκτάσεις γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών. Η Αυστραλία παράγει ανθεκτικό στα έντομα και ανθεκτικό στα ζιζανιοκτόνα βαμβάκι GM. Οι κυρίαρχες καλλιέργειες συνεχίζουν να είναι η σόγια (που αντιπροσωπεύει το 60% της παγκόσμιας καλλιεργούμενης έκτασης), το καλαμπόκι (23%), το βαμβάκι (11%) και το κραμβέλαιο (6%). Οι καλλιέργειες εκφράζουν ανοχή στα ζιζανιοκτόνα, ανθεκτικότητα σε έντομα ή συνδυασμό των δύο. Οι μελλοντικές προβλέψεις είναι ότι η Κίνα ενδέχεται σύντομα να εγκρίνει το πρώτο εμπορικό ρύζι ΓΤΟ και μέχρι 15 εκατομμύρια αγρότες θα καλλιεργούν γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε 30 χώρες μέχρι το τέλος της δεκαετίας, σύμφωνα με τη Διεθνή Υπηρεσία για την Απόκτηση Αγρο-Βιοτεχνολογικών Εφαρμογών, (ISAAA, 2005).

Global Area of Biotech Crops Million Hectares (1996 to 2005)



Increase of 11%, 9.0 million hectares or 22 million acres between 2004 and 2005.

Source: Clive James, 2005

Εικόνα 18: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια από το 1996 έως 2005
Πηγή: Clive James, 2005

Το 2005 σηματοδοτήθηκε η δέκατη επέτειος της εμπορευματοποίησης γενετικά τροποποιημένων (GM) καλλιεργειών, η παγκόσμια καλλιέργεια GM καλλιεργειών συνεχίζει να αυξάνεται καθώς το δισεκατομμυριοστό στρέμμα, ισοδύναμο με 400 εκατομμύρια εκτάρια καλλιεργειών GM, φυτεύτηκε από έναν από τους 8,5 εκατομμύρια αγρότες σε μια από τις 21 χώρες. Αυτό το πρωτοφανές υψηλό ποσοστό υιοθεσίας αντανακλά την εμπιστοσύνη εκατομμυρίων γεωργών στη βιοτεχνολογία των καλλιεργειών (Clive James, 2005).

Κατά την τελευταία δεκαετία, οι αγρότες έχουν αυξήσει σταθερά τις φυτεύσεις βιοτεχνολογικών καλλιεργειών με διψήφιους ρυθμούς ανάπτυξης κάθε έτος από την πρώτη εμπορία των βιοτεχνολογικών καλλιεργειών το 1996. Είναι αξιοσημείωτο ότι η παγκόσμια καλλιέργεια βιοτεχνολογικών καλλιεργειών αυξήθηκε περισσότερο από πενήντα φορές κατά την πρώτη δεκαετία εμπορίας. Η συνολική έκταση των εγκεκριμένων GM καλλιεργειών το 2005 ήταν 90 εκατομμύρια εκτάρια, που αντιστοιχούσε σε 222 εκατομμύρια στρέμματα, από 81 εκατομμύρια εκτάρια ή 200 εκατομμύρια στρέμματα το 2004. Η αύξηση ήταν 9 εκατομμύρια εκτάρια ή 22 εκατομμύρια στρέμματα, που ισοδυναμούν με ένα ετήσιο ποσοστό αύξησης 11% το 2005 (Clive James, 2005). Ένα ιστορικό ορόσημο επετεύχθη το 2005, όταν 21 χώρες αύξησαν τις καλλιέργειες GM, σημειώνοντας σημαντική αύξηση από 17 χώρες το 2004. Ειδικότερα, από τις τέσσερις νέες χώρες που αύξησαν τις GM καλλιέργειες το 2005, σε σύγκριση με το 2004, τρεις ήταν χώρες της Ε.Ε., η Πορτογαλία, η Γαλλία και η Τσεχική Δημοκρατία, ενώ η τέταρτη ήταν το Ιράν. Η Πορτογαλία και η Γαλλία επανέλαβαν τη φύτευση του Βt αραβοσίτου το 2005 μετά από κενό 5 και 4 ετών αντίστοιχα, ενώ στην Δημοκρατία της Τσεχίας φυτεύτηκε για πρώτη φορά ο αραβόσιτος Βt το 2005, οπότε ο συνολικός αριθμός των χωρών της Ε.Ε. εμπορευματοποιεί τώρα τις μικρές περιοχές του αραβοσίτου Βt σε πέντε, δηλαδή στην Ισπανία, τη Γερμανία, την Πορτογαλία, τη Γαλλία και την Τσεχική Δημοκρατία. Το 2005, οι 21 χώρες που καλλιεργούσαν καλλιέργειες GM περιλάμβαναν 11 αναπτυσσόμενες χώρες και 10 βιομηχανικές χώρες οι οποίες ήταν, κατά σειρά εκταρίων, ΗΠΑ, Αργεντινή, Βραζιλία, Καναδάς, Κίνα, Παραγουάη, Ινδία, Νότια Αφρική, Ουρουγουάη, Αυστραλία, Μεξικό, Ρουμανία, Φιλιππίνες,

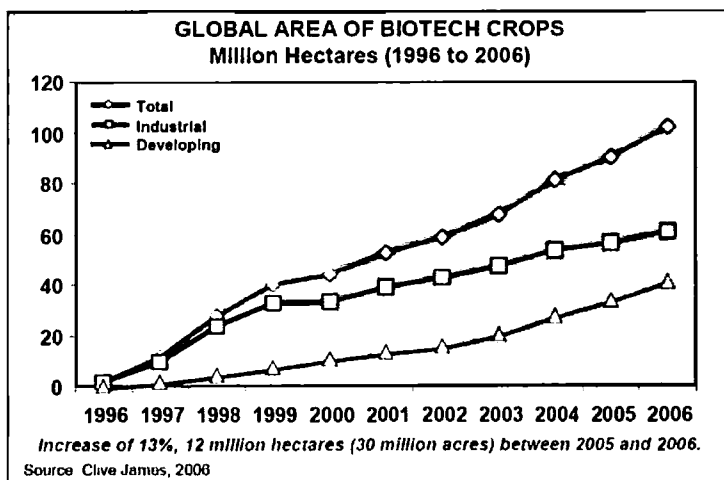
Ισπανία, Κολομβία, Ιράν, Ονδούρα, Πορτογαλία, Γερμανία, Γαλλία και Τσεχική Δημοκρατία (Clive James, 2005).

Το 2005, οι ΗΠΑ, ακολουθούμενες από την Αργεντινή, τη Βραζιλία, τον Καναδά και την Κίνα, συνέχισαν να είναι οι κύριοι υιοθετούντες καλλιέργειες GM παγκοσμίως, με 49,8 εκατομμύρια εκτάρια στις ΗΠΑ (55% της παγκόσμιας βιοτεχνολογικής περιοχής), εκ των οποίων το 20% περίπου τα στοιβαζόμενα προϊόντα που περιέχουν δύο ή τρία γονίδια, με το πρώτο τριπλό γονιδιακό προϊόν να κάνει το ντεμπούτο του στον αραβόσιτο στις ΗΠΑ το 2005. Ο αριθμός των χαρακτηριστικών εκταρίων στις ΗΠΑ το 2005 ήταν 59,4 εκατομμύρια εκτάρια σε σύγκριση με 49,8 εκατομμύρια εκτάρια GM καλλιεργειών, με διακύμανση 19% και συνολικά 100 εκατομμύρια "εκτάρια χαρακτηριστικών" έναντι 90 εκατομμυρίων εκταρίων, με διακύμανση 10% (Clive James, 2005).

Η γενετικά τροποποιημένη σόγια συνέχιζε να είναι η κύρια καλλιέργεια το 2005, καταλαμβάνοντας 54,4 εκατομμύρια εκτάρια (60% της παγκόσμιας βιοτεχνολογικής περιοχής), ακολουθεί ο αραβόσιτος (21,2 εκατ. εκτάρια σε 24%), βαμβάκι (9,8 εκατ. εκτάρια στο 11%) και κανόλα (4,6 εκατ. εκτάρια στο 5% της παγκόσμιας περιοχής GM καλλιεργειών). Το 2005, η αντοχή στα ζιζανιοκτόνα, που αναπτύχθηκε στη σόγια, αραβόσιτο, ελαιοκράμβη και βαμβάκι, συνέχιζε να είναι το κυρίαρχο χαρακτηριστικό καταλαμβάνοντας 71% ή 63,7 εκατομμύρια εκτάρια, ακολουθούμενη η αντοχή στα έντομα σε 16,2 εκατομμύρια εκτάρια (18%). Η συμβολή των GM καλλιεργειών στον αναπτυξιακό στόχο της χιλιετίας για τη μείωση της φτώχειας κατά 50% μέχρι το 2015 είναι σημαντική (Clive James, 2005).

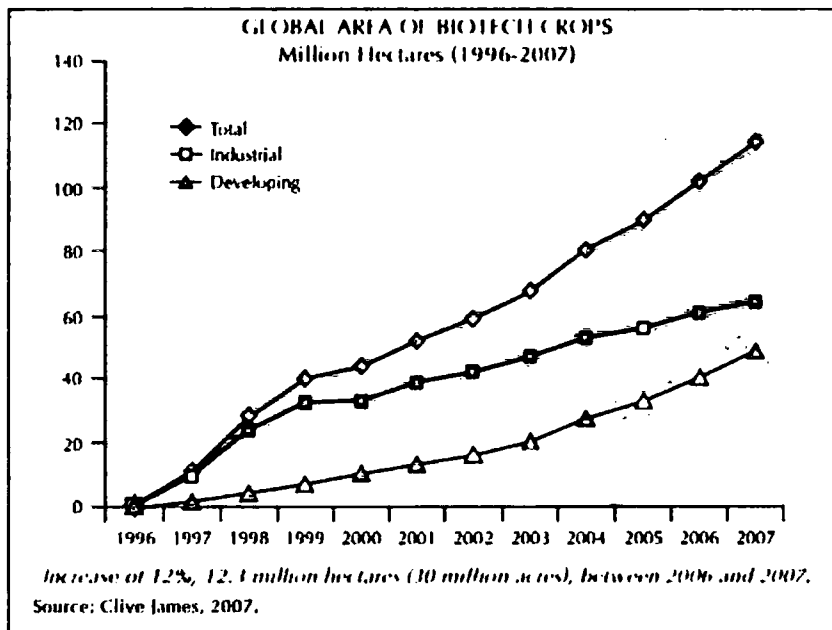
Κατά την περίοδο 1996-2005, το ποσοστό της παγκόσμιας έκτασης των GM καλλιεργειών που καλλιεργούνται από τις αναπτυσσόμενες χώρες αυξάνεται κάθε χρόνο. Περισσότερο από το ένα τρίτο της παγκόσμιας έκτασης καλλιεργειών βιοτεχνολογίας το 2005, που ισοδυναμεί με 33,9 εκατομμύρια εκτάρια, σε αναπτυσσόμενες χώρες όπου η ανάπτυξη μεταξύ 2004 και 2005 ήταν σημαντικά υψηλότερη (6,3 εκατομμύρια εκτάρια ή 23% αύξηση) από τις βιομηχανικές χώρες (2,7 εκατομμύρια εκτάρια ή αύξηση 5%). Η αυξανόμενη συλλογική επίδραση των πέντε αναπτυσσόμενων χωρών (Κίνα, Ινδία, Αργεντινή, Βραζιλία και Νότια Αφρική) είναι μια σημαντική συνεχιζόμενη τάση με συνέπειες για την μελλοντική υιοθέτηση και αποδοχή βιοτεχνολογικών καλλιεργειών παγκοσμίως (Clive James, 2005).

Υπάρχει μια επιφυλακτική αισιοδοξία ότι η αστρική ανάπτυξη των βιοτεχνολογικών καλλιεργειών, που παρατηρήθηκε κατά την πρώτη δεκαετία εμπορίας, από το 1996 έως το 2005, θα συνεχιστεί και πιθανώς θα ξεπεραστεί κατά τη δεύτερη δεκαετία 2006-2015. Η τήρηση της ορθής πρακτικής της γεωργίας με GM καλλιέργειες θα παραμείνουν κρίσιμες, όπως συνέβη κατά την πρώτη δεκαετία, ιδίως από τις χώρες του Νότου, οι οποίες θα είναι οι κύριοι μεταφορείς GM καλλιεργειών την επόμενη δεκαετία (Clive James, 2005).



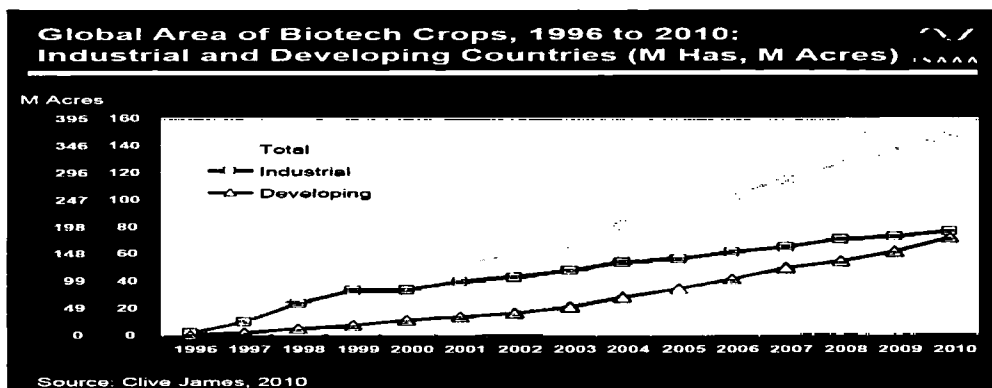
*Εικόνα 19: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια από το 1996 έως 2006
Πηγή: Clive James, 2006*

Οι GM καλλιέργειες πέτυχαν αρκετά ορόσημα το 2006: το ετήσιο εκτάριο GM καλλιεργειών υπερέβη τα 100 εκατομμύρια εκτάρια (250 εκατομμύρια στρέμματα). Για πρώτη φορά, ο αριθμός των αγροτών που καλλιεργούν βιοτεχνολογικές καλλιέργειες (10,3 εκατομμύρια) υπερέβαινε τα 10 εκατομμύρια. Το συνολικό εκτάριο από το 1996 έως το 2006 υπερέβη τα μισά δισεκατομμύρια εκτάρια σε 577 εκατομμύρια εκτάρια, με μια πρωτοφανή 60-πλάσια αύξηση μεταξύ του έτους 1996 και 2006. Είναι αξιοσημείωτο ότι η ετήσια αύξηση κατά 12 εκατομμύρια εκτάρια το 2006 είναι η δεύτερη υψηλότερη τα τελευταία 5 χρόνια, παρά το γεγονός ότι τα ποσοστά υιοθεσίας στις ΗΠΑ, ως ο κύριος καλλιεργητής GM καλλιεργειών, είναι ήδη πάνω από 80% για τη σόγια και το βαμβάκι. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι το 2006, η Ινδία, η μεγαλύτερη χώρα καλλιέργειας βαμβακιού στον κόσμο, σημείωσε την υψηλότερη αναλογική αύξηση με ένα εντυπωσιακό κέρδος που σχεδόν τριπλασίασε την περιοχή του βαμβακιού Bt σε 3,8 εκατομμύρια εκτάρια (Clive James, 2006). Από 22 χώρες, 10,3 εκατομμύρια αγρότες καλλιεργήσαν GM καλλιέργειες το 2006 και 8,5 εκατομμύρια αγρότες το 2005. Από τα 10,3 εκατομμύρια, το 90% ή 9,3 εκατομμύρια (σημαντικά από 7,7 εκατομμύρια το 2005) ήταν μικροί αγρότες από αναπτυσσόμενες χώρες, τα αυξημένα έσοδα από τις GM καλλιέργειες συνέβαλαν στην ανακούφιση της φτώχειας. Αυτή η αρχική μικρή συμβολή των GM καλλιεργειών στον αναπτυξιακό στόχο της χιλιετίας για τη μείωση της φτώχειας κατά 50% έως το 2015 είναι μια σημαντική εξέλιξη που έχει τεράστιο δυναμικό στη δεύτερη δεκαετία εμπορίας από το 2006 έως το 2015 (Clive James, 2006).



Εικόνα 20: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια από το 1996 έως 2007
 Πηγή: Clive James, 2007

Το 2007, για δωδέκατη συνεχόμενη χρονιά, η παγκόσμια έκταση GM καλλιεργειών συνέχισε να αυξάνεται. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανάπτυξη συνέχισε να διατηρείται σε σταθερό διψήφιο ρυθμό ανάπτυξης 12% ή 12,3 εκατομμύρια εκτάρια (30 εκατομμύρια στρέμματα), η δεύτερη μεγαλύτερη αύξηση στην παγκόσμια καλλιέργεια GM καλλιεργειών την τελευταία πενταετία φτάνοντας τα 114,3 εκατομμύρια εκτάρια (282,4 εκατομμύρια στρέμματα). Τα πρώτα δέκα χρόνια GM καλλιεργειών έχουν αποφέρει σημαντικά οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη στους αγρότες τόσο στις βιομηχανικές χώρες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου εκατομμύρια φτωχοί αγρότες επωφελήθηκαν επίσης από κοινωνικά και ανθρωπιστικά οφέλη που συνέβαλαν στην άμβλυνση της φτώχειας τους (Clive James, 2007).

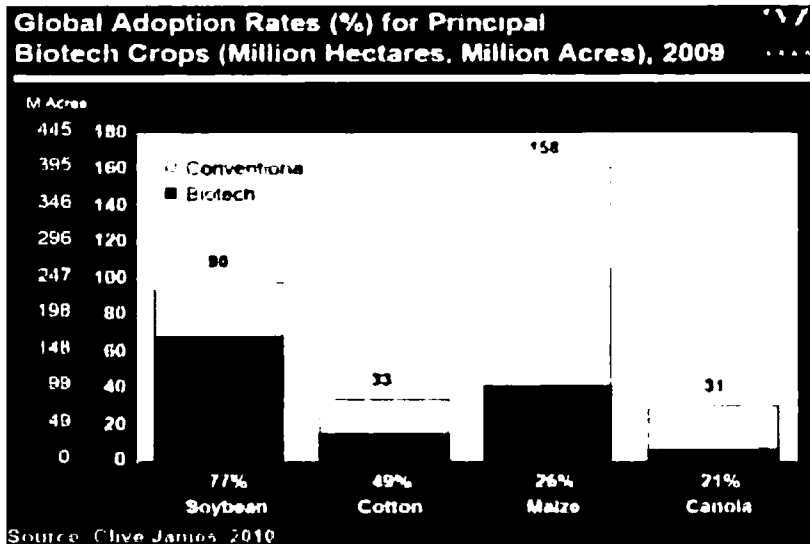


Εικόνα 21: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια από το 1996 έως 2010
 Πηγή: Clive James, 2010

Το 2010, η συνολική έκταση που καλλιεργήθηκε κατά τη διάρκεια των 15 ετών 1996 έως 2010, ξεπέρασε για πρώτη φορά το 1 δισεκατομμύριο εκτάρια, ποσό που ισοδυναμεί με περισσότερο από το 10% της τεράστιας συνολικής έκτασης των ΗΠΑ (937 εκατομμύρια εκτάρια) ή την Κίνα (956 εκατομμύρια εκτάρια). Χρειάστηκαν 10 χρόνια για να φθάσουν τα πρώτα 500 εκατομμύρια εκτάρια

το 2005, αλλά μόνο το ήμισυ εκείνο το χρονικό διάστημα των 5 χρόνων, για να καλλιεργηθούν τα δεύτερα 500 εκατομμύρια εκτάρια για να φθάσουν συνολικά 1 δισεκατομμύριο εκτάρια το 2010 (Clive James, 2010).

Η ανάπτυξη από 1,7 εκατομμύρια εκτάρια καλλιεργειών GM το 1996 σε 148 εκατομμύρια εκτάρια το 2010 είναι μια άνευ προηγουμένου αύξηση 87 φορές, καθιστώντας τις GM καλλιέργειες την ταχύτερα υιοθετημένη τεχνολογία καλλιέργειας στην ιστορία της σύγχρονης γεωργίας (Clive James, 2010).



Εικόνα 22: Παγκόσμια ποσοστά γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών σόγιας, βαμβακιού, αραβόσιτου και κανόλα το 2009 σε εκατομμύρια εκτάρια.

Πηγή: Clive James, 2010

Είναι προφανές ότι ο παγκόσμιος οικονομικός άξονας μετατοπίζεται προς όφελος των αναδυόμενων χωρών του κόσμου και αυτό έχει επιπτώσεις στην ανάπτυξη όλων των προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων των GM καλλιεργειών. Η αυξημένη συμμετοχή σε καινοτόμες προσεγγίσεις στη βιοτεχνολογία φυτών είναι ήδη εμφανής στις κυριότερες αναπτυσσόμενες χώρες όπως στη Βραζιλία στη Λατινική Αμερική, στην Ινδία και στην Κίνα στην Ασία. Οι αναδυόμενες χώρες δεν ικανοποιούν πλέον το χαμηλό κόστος εργασίας ως το μοναδικό συγκριτικό τους πλεονέκτημα, αλλά λειτουργούν ως δυναμικά εκκολαπτήρια καινοτομίας, παράγουν νέα και ανταγωνιστικά προϊόντα και χρησιμοποιούν καινοτομία για να επανασχεδιάσουν προϊόντα για πελάτες με σημαντικά χαμηλότερο κόστος, για να ανταποκριθούν στις ταχέως αναπτυσσόμενες εγχώριες και διεθνείς απαιτήσεις (Clive James, 2010).

Το 2009 τα ποσοστά έχουν αυξηθεί πολύ. Η γενετικά τροποποιημένη σόγια αποτελεί πλέον το 77% της παραγωγής, το βαμβάκι το 49% και ο αραβόσιτος το 26%. Οι προβλέψεις για το μέλλον παραμένουν αβέβαιες λόγω των μεγάλων κινητοποιήσεων του κοινού εναντίον των γενετικά τροποποιημένων τροφίμων (Clive James, 2010).

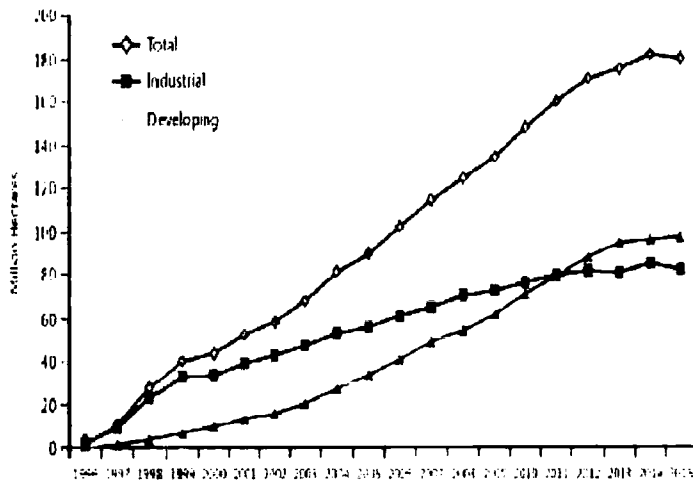


Figure 2. Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2015: Industrial and Developing Countries (Million Hectares)

Source: Clive James 2015.

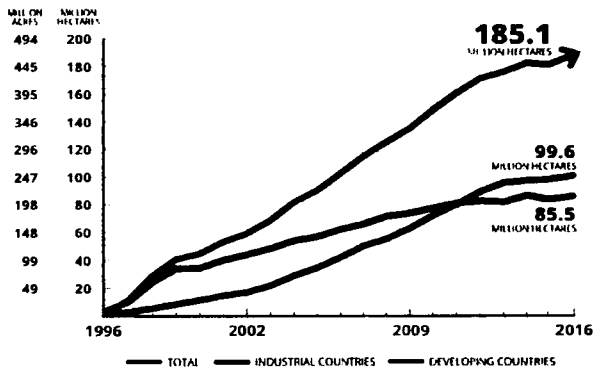
Εικόνα 23: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια από το 1996 έως 2015
Πηγή: Clive James, 2015

Η εικόνα 23 δείχνει τα εκτάρια GM καλλιεργειών στις βιομηχανικές και αναπτυσσόμενες χώρες κατά τη χρονική διάρκεια 1996 έως 2015. Εικονογραφεί ότι, από το 2012, στις αναπτυσσόμενες χώρες έχουν καλλιεργηθεί περισσότερα βιοτεχνολογικά προϊόντα καλλιεργειών από τις βιομηχανικές χώρες και το 2015 ήταν το τέταρτο έτος για τις αναπτυσσόμενες χώρες να καλλιεργούν περισσότερα από το ήμισυ των παγκόσμιων βιοτεχνολογικών καλλιεργειών που υπολογίζεται σε 179,7 εκατομμύρια εκτάρια. Το 2015, οι αναπτυσσόμενες χώρες, σε ποσοστό 54% (σε σύγκριση με 53% το 2014) ισοδυναμεί με 97,1 εκατ. εκτάρια. Στις βιομηχανικές χώρες καλλιεργούνται μόνο το 46% (έναντι 47% το 2014), που ισοδυναμεί με 82,6 εκατομμύρια εκτάρια. Πριν από το 2015, το ποσοστό των GM καλλιεργειών που καλλιεργούνται στις αναπτυσσόμενες χώρες είχε αυξηθεί σταθερά κάθε έτος από 14% το 1997 σε 16% το 1998, 18% το 1999, 24% το 2000, 26% το 2001, 27% το 2002, 30% το 2003, 34% το 2004, το 38% το 2005, το 40% το 2006, το 43% το 2007, το 44% το 2008, το 46% το 2009, το 48% το 2010, το 50% το 2011, το 52% το 2012, το 54% το 2013, το 53% το 2014 και το 54% το 2015 (Clive James, 2015).

Το 2015, η ετήσια ανάπτυξη ήταν υψηλότερη στις αναπτυσσόμενες χώρες σε 0,9 εκατομμύρια εκτάρια (1%) από ότι το 2004 στις βιομηχανικές χώρες που μειώθηκαν κατά 3% στα 2,7 εκατομμύρια εκτάρια. Αυτό οφείλονταν κυρίως στα υψηλότερα επίπεδα ανάπτυξης της Βραζιλίας και της Αργεντινής για καλλιέργεια σόγιας και βαμβάκοκαλλιέργειες στο Πακιστάν, το Μιανμάρ και το Σουδάν. Έτσι, η ετήσια ανάπτυξη ήταν σημαντικά ταχύτερη στις αναπτυσσόμενες χώρες το 2015 και διατηρήθηκε ένα μεγαλύτερο μερίδιο στις παγκόσμιες αυτές καλλιέργειες σε ποσοστό 54%, σε σύγκριση με το 46% για τις βιομηχανικές χώρες. Η τάση για ένα υψηλότερο ποσοστό παγκόσμιων GM καλλιεργειών στις αναπτυσσόμενες χώρες είναι πιθανό να συνεχιστεί και μακροπρόθεσμα (Clive James, 2015).



Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2016: Industrial and Developing Countries (Million Hectares, Million Acres)



- Resumes high adoption at 185.1 million hectares
- ~110-fold increase from 1996
- 2.1 billion accumulated hectareage

ISAAA, 2016

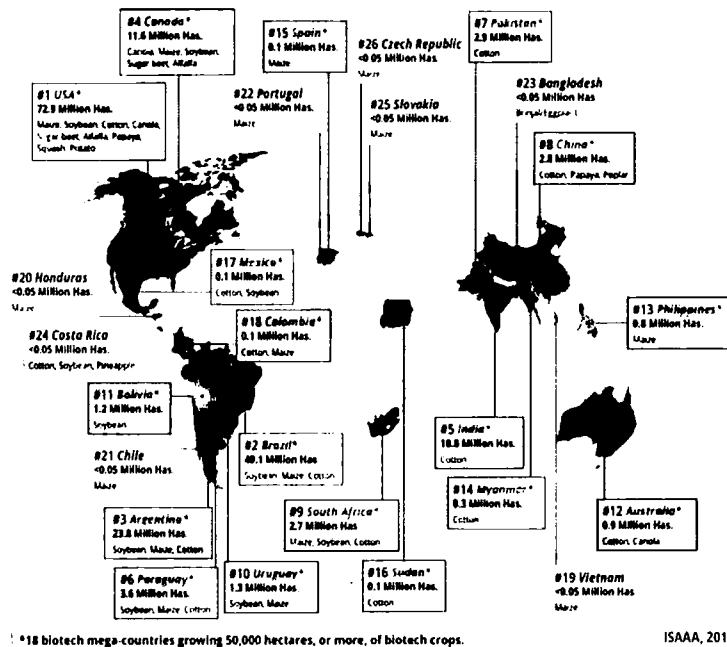
Εικόνα 24: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε εκτάρια του έτους 2016
Πηγή: ISAAA, 2016

Η καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών έχει «χτυπηθεί» από μια νέα παγκόσμια αιχμή, αυτό έχει σαν αποτέλεσμα σημαντικά οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη, σύμφωνα με την Διεθνή Υπηρεσία Απόκτησης Βιοτεχνολογικών Εφαρμογών (ISAAA). Οι αγρότες σε 26 χώρες καλλιεργήσαν 185,1 εκατομμύρια εκτάρια (457,4 εκατομμύρια στρέμματα) καλλιέργειες GM τη χρονική περίοδο 2014-2015. Αυτό αντιπροσωπεύει μια αύξηση 6 εκατομμυρίων εκταρίων από το προηγούμενο έτος και μια αναστροφή από το 2014-2015, όταν η παγκόσμια περιοχή καλλιέργειας GM μειώθηκε ελαφρά. Σχεδόν το 90% των καλλιεργειών καλλιεργούνται από μικροκαλλιεργητές. Περίπου το 56% των καλλιεργειών ΓΤΟ καλλιεργούνται σε 19 αναπτυσσόμενες χώρες, όπου η βιοτεχνολογία έχει συμβάλει στην ανακούφιση της πείνας αυξάνοντας τα εισοδήματα για 18 εκατομμύρια αγροτικές οικογένειες μικρών ιδιοκτητών, βελτιώνοντας τα οικονομικά των περισσότερων από 65 εκατομμυρίων ανθρώπων (ISAAA, 2016).

Οι ΓΤ καλλιέργειες έχουν επίσης επιτύχει σημαντικά περιβαλλοντικά οφέλη όπως μείωση της χρήσης ζιζανιοκτόνων και εντομοκτόνων κατά 19%. Ενώ η ISAAA προανήγγειλε τις αυξήσεις παραγωγής και τα οφέλη, προειδοποίησε επίσης ότι οι καλλιέργειες GM δεν είναι πανάκεια. Η γεωργία πρέπει να χρησιμοποιήσει τις καλύτερες τεχνολογίες τόσο συμβατικών όσο και καλλιεργειών GM για να επιτύχει μια ασφαλή και βιώσιμη εντατικοποίηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών σε 1,5 δισεκατομμύρια εκτάρια καλλιεργούμενων εκτάσεων παγκοσμίως (ISAAA, 2016).



Biotech Crop Countries and Mega-Countries*, 2016



ISAAA, 2016

Εικόνα 25: Γενετικά Τροποποιημένες Καλλιέργειες σε παγκόσμια κλίμακα για το έτος 2016.

Πηγή: ISAAA, 2016

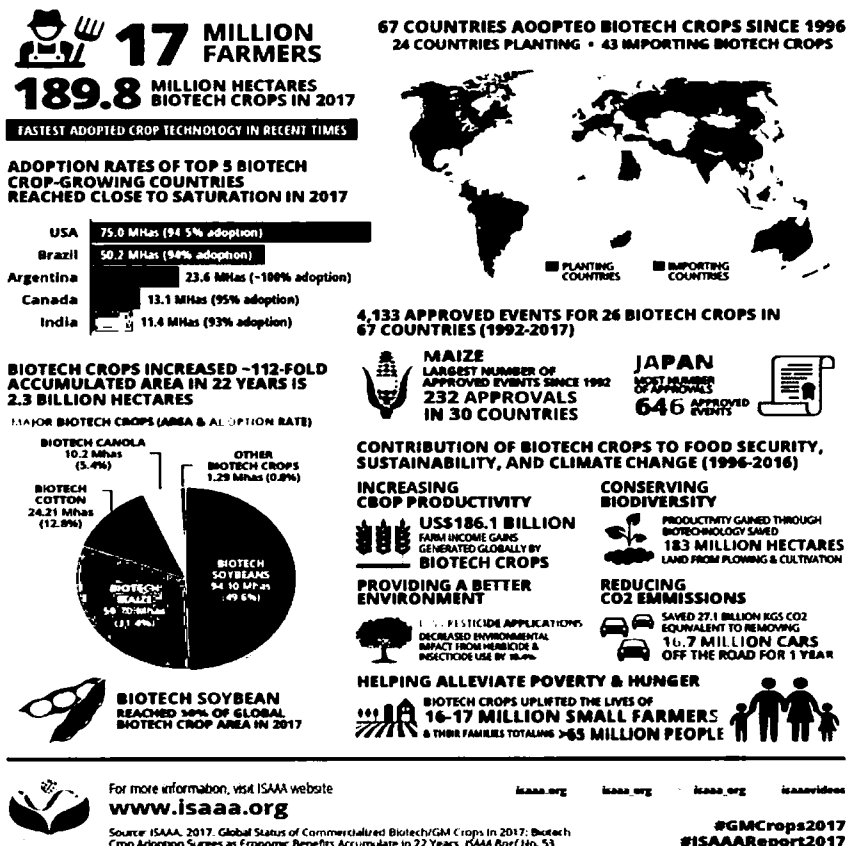
Σημαντικά εμπορεύματα όπως το καλαμπόκι, το βαμβάκι, η ελαιοκράμβη και η σόγια εξακολουθούν να αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των καλλιεργειών GM που καλλιεργούνται. Τα ζαχαρότευτλα και η μηδική είναι επίσης σημαντικές καλλιέργειες ΓΤ. Οι ειδικοί της ISAAA αναμένουν ότι η υιοθέτηση ΓΤ καλλιεργειών θα συνεχιστεί καθώς οι νέες ποικιλίες έρχονται στην αγορά και άλλες χώρες επιτρέπουν την καλλιέργεια (ISAAA, 2016).

Η Αφρική, ειδικότερα, είναι έτοιμη για επέκταση καλλιεργειών. Η καλλιέργεια του βιοτεχνολογικού αραβοσίτου, της σόγιας και του βαμβακιού αυξήθηκε το έτος 2015 στη Νότια Αφρική και το Σουδάν, ενώ αναδύεται ένα νέο κύμα αποδοχής, στην Κένυα, το Μαλάουι, τη Νιγηρία, την Αιθιοπία, την Γκάνα, τη Νιγηρία, τη Σουαζιλάνδη και την Ουγκάντα να σημειώσουν πρόοδο και στις εμπορικές εγκρίσεις για ποικιλία ΓΤ καλλιεργειών (ISAAA, 2016).

Οι ΗΠΑ, η Βραζιλία, η Αργεντινή, ο Καναδάς και η Ινδία αποτέλεσαν το 91% της παγκόσμιας ΓΤ καλλιέργειας το 2015. Τα ευρωπαϊκά έθνη της Ισπανίας, της Πορτογαλίας, της Τσεχικής Δημοκρατίας και της Σλοβακίας αύξησαν την καλλιέργεια Βt αραβοσίτου κατά 17% μεταξύ 2015 και 2016. Παγκοσμίως, η αντίσταση στα ζιζανιοκτόνα παραμένει το πιο δημοφιλές βιοτεχνολογικό χαρακτηριστικό, ακολουθούμενο από ανθεκτικότητα στα έντομα και αντοχή στην ξηρασία (ISAAA, 2016).

GLOBAL STATUS OF COMMERCIALIZED BIOTECH/GM CROPS IN 2017

Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years



Εικόνα 26: Γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε παγκόσμια κλίμακα για το έτος 2017

Πηγή: ISAAA, 2017

Στο 22^ο έτος εμπορίας γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών το 2017, 24 χώρες αυξήθηκαν κατά 189,8 εκατομμύρια εκτάρια ΓΤ καλλιεργειών, αύξηση 4,7 εκατομμυρίων εκταρίων (11,6 εκατομμύρια στρέμματα) ή 3% από 185,1 εκατομμύρια εκτάρια το 2016. Εκτός από την υιοθέτηση του 2015, αυτή είναι η 21^η σειρά αυξήσεων κάθε έτος και κυρίως 12 από τα 18 έτη ήταν διψήφια τα ποσοστά αύξησης (ISAAA, 2017). Ο μέσος ρυθμός υιοθέτησης των ΓΤ καλλιεργειών στις πέντε πρώτες βιοτεχνολογικές καλλιεργητικές χώρες αυξήθηκε το 2017 για να φτάσει κοντά στον κορεσμό, με τις ΗΠΑ να φτάνουν το 94,5% (μέση κατανάλωση σόγιας, καλαμπόκι και κανόλα), Βραζιλία (94%), Αργεντινή (%), Τον Καναδά (95%) και την Ινδία (93%). Η επέκταση των ΓΤ καλλιεργειών σε αυτές τις χώρες θα πραγματοποιηθεί με άμεση έγκριση και εμπορευματοποίηση νέων βιοτεχνολογικών καλλιεργειών και χαρακτηριστικών για την αντιμετώπιση των προβλημάτων που σχετίζονται με την κλιματική αλλαγή και την εμφάνιση νέων παρασίτων και ασθενειών (ISAAA, 2017).

Οι τέσσερις κύριες ΓΤ καλλιέργειες όπως η σόγια, ο αραβόσιτος, το βαμβάκι και η ελαιοκράμβη, ήταν οι πλέον υιοθετημένες ΓΤ καλλιέργειες από 24 χώρες. Οι σπόροι σόγιας ανέρχονται σε 94,1 εκατομμύρια εκτάρια με υιοθέτηση 50% παγκόσμιου ΓΤ καλλιεργειών, αύξηση 3% από το 2016. Ακολουθούν ο αραβόσιτος (59,7 εκατομμύρια εκτάρια), το βαμβάκι (24,21 εκατομμύρια εκτάρια) και η ελαιοκράμβη (10,2 εκατομμύρια εκτάρια). Με βάση τη συνολική καλλιεργούμενη έκταση για μεμονωμένες καλλιέργειες, το 2017 το 77% της σόγιας, το 80% από το

βαμβάκι, το 32% από το καλαμπόκι και το 30% από την ελαιοκράμβη ήταν ΓΤ καλλιέργειες. Ο τομέας των ΓΤ καλλιεργειών το 2017 στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής παρέμεινε ο υψηλότερος σε παγκόσμιο επίπεδο στα 75,04 εκατομμύρια εκτάρια, αποτελούμενος από 34,05 εκατομμύρια σόγια, 33,84 εκατομμύρια εκτάρια αραβόσιτου, 4,58 εκατομμύρια εκτάρια βαμβακιού, 1,22 εκατομμύρια εκτάρια μηδικής, 876,000 εκτάρια ελαιοκράμβη, 458.000 *Bt* ζαχαρότευτλα, 3.000 εκτάρια *Bt* πατάτας και περίπου 1.000 εκτάρια η κάθε μία από *Bt* μήλα, σκουός και παπάγια (ISAAA, 2017).

Συνολικά, 67 χώρες (39 + Ε.Ε. 28) έχουν εκδώσει κανονιστικές εγκρίσεις για ΓΤ καλλιέργειες για κατανάλωση είτε ως ανθρώπινη τροφή, είτε ως ζωοτροφή είτε ως εμπορική καλλιέργεια. Από το 1992, χορηγήθηκαν 4.133 εγκρίσεις από τις ρυθμιστικές αρχές των 67 αυτών χωρών. Αυτά χορηγήθηκαν σε 476 εκδηλώσεις GM από 26 γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες. Ο αραβόσιτος εξακολουθεί να έχει τον μεγαλύτερο αριθμό εγκεκριμένων εκδηλώσεων (232 σε 30 χώρες), ακολουθούμενη από βαμβάκι (59 εκδηλώσεις σε 24 χώρες), πατάτα (48 εκδηλώσεις σε 10 χώρες), κανόλα (41 εκδηλώσεις σε 15 χώρες) και σόγια σε (37 εκδηλώσεις σε 29 χώρες) (ISAAA, 2017).

Οι ΓΤ καλλιέργειες υιοθετούνται σε παγκόσμια κλίμακα λόγω των τεράστιων οφελών για το περιβάλλον, την υγεία των ανθρώπων και των ζώων και τη συμβολή στη βελτίωση των κοινωνικοοικονομικών συνθηκών των αγροτών και του ευρύτερου κοινού. Τα παγκόσμια οικονομικά οφέλη που συνέβαλαν οι ΓΤ καλλιέργειες τα τελευταία 21 χρόνια (1996-2016) ανήλθαν σε 186,1 δισεκατομμύρια δολάρια οικονομικά οφέλη για πάνω από 16 έως 17 εκατομμύρια αγρότες, το 95% των οποίων προέρχεται από αναπτυσσόμενες χώρες. Οι ΓΤ καλλιέργειες συνέβαλαν στην ασφάλεια τροφίμων, τη βιωσιμότητα και την αλλαγή του κλίματος με:

- ✓ αύξηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών κατά 657,6 εκατ. τόνους, αξίας 186,1 δισ. δολαρίων το 1996-2016 και 82,2 εκατ. τόνους αξίας 18,2 δισ. δολαρίων μόνο το 2016.
- ✓ τη διατήρηση της βιοποικιλότητας από το 1996 έως το 2016, εξοικονομώντας 183 εκατομμύρια εκτάρια γης και 22,5 εκατομμύρια εκτάρια γης μόνο το 2016.
- ✓ παρέχοντας ένα καλύτερο περιβάλλον με την εξοικονόμηση 671 εκατομμυρίων κιλών συμπεριλαμβανομένων και των φυτοφαρμάκων κατά την περίοδο 1996-2016 και κατά 48,5 εκατομμύρια κιλά μόνο το 2016 από την απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον.
- ✓ εξοικονόμηση στη χρήση φυτοφαρμάκων κατά 8,2% το 1996-2016 και κατά 8,1% μόνο το 2016.
- ✓ μειώνοντας το EIQ (Ποσοστό περιβαλλοντικών επιπτώσεων) κατά 18,4% το 1996-2016 και κατά 18,3% μόνο το 2016.
- ✓ μείωση των εκπομπών CO₂ το 2016 κατά 27,1 δισεκατομμύρια κιλά, που ισοδυναμεί με την αναχώρηση 16,7 εκατομμυρίων αυτοκινήτων από το δρόμο για ένα έτος.
- ✓ συμβάλλει στην άμβλυνση της φτώχειας μέσω της ανόδου της οικονομικής κατάστασης των 16-17 εκατομμυρίων αγροτών και των οικογενειών τους που ανέρχονται σε > 65 εκατομμύρια ανθρώπους, οι οποίοι είναι μερικοί από τους φτωχότερους ανθρώπους στον κόσμο.

(ISAAA, 2017).

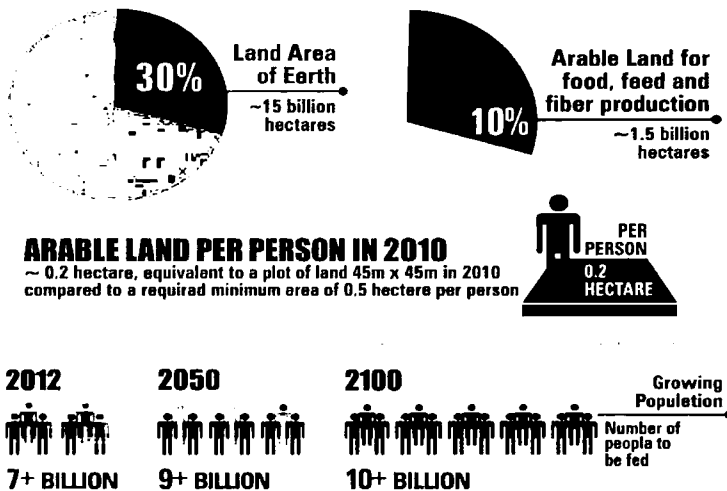
Ο παγκόσμιος τομέας των ΓΤ καλλιεργειών αυξήθηκε κατά 112 φορές από 1,7 εκατομμύρια εκτάρια το 1996 σε 189,8 εκατομμύρια εκτάρια το 2017, γεγονός που καθιστά τις ΓΤ καλλιέργειες την ταχύτερα υιοθετημένη τεχνολογία καλλιέργειας τα τελευταία χρόνια. Συνολικά 2,3 δισ εκτάρια ή 5,9 δισεκατομμύρια στρέμματα επιτεύχθηκαν σε 22 χρόνια (1996-2017) της εμπορίας βιοτεχνολογικών καλλιεργειών (ISAAA, 2017).

Οι ΓΤ καλλιέργειες τα τελευταία 22 χρόνια εμπορίας έχουν φέρει τεράστια οικονομικά οφέλη, βελτίωση της υγείας και κοινωνικά κέρδη που πρέπει να μοιραστούν με την παγκόσμια κοινότητα.

Ακριβείς πληροφορίες σχετικά με τα οφέλη και τις δυνατότητες των ΓΤ καλλιεργειών θα επιτρέψουν στους αγρότες και τους καταναλωτές να κάνουν ενημερωμένες επιλογές σχετικά με τις καλλιέργειες που καλλιεργούν και καταναλώνουν, οι υπεύθυνοι για τη χάραξη πολιτικής και οι ρυθμιστικές αρχές να δημιουργήσουν κατευθυντήριες γραμμές για τη βιοασφάλεια, για την εμπορία και την υιοθέτηση ΓΤ καλλιεργειών, καθώς επίσης, οι επιστήμονες και τα μέσα μαζικής ενημέρωσης να συμβάλλουν στη διάδοση των πλεονεκτημάτων και των δυνατοτήτων της τεχνολογίας (ISAAA, 2017).

Ο Δρ. Clive James, ιδρυτής και ομιλητής της ISAAA, έχει γράψει προσεκτικά τις πρώτες 20 ετήσιες εκθέσεις που καθιστούν την ISAAA Brief την πιο αξιόπιστη πηγή πληροφοριών για τις GM καλλιέργειες τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Υπήρξε υπέρμαχος της τεχνολογίας και των βιοτεχνολογικών προϊόντων, ακολουθώντας τα βήματα του μεγάλου μέντορα και συνάδελφού του, του βραβευμένου Νόμπελ Νόμπεργκ Μπόρλαουγκ, ο οποίος ήταν επίσης ιδρυτής της ISAAA. Από το 2016, το ISAAA Brief συνεχίζει την παράδοση της παροχής μιας ενημερωμένης έκθεσης για τα προϊόντα βιοτεχνολογίας από πληροφορίες που συλλέγονται μέσω ενός παγκόσμιου δικτύου (ISAAA, 2017).

Can Mother Earth Feed 9+ Billion by 2050?



Can we produce sufficient food from 0.2 hectare?

Food security is a formidable challenge

The citizens of the world must work together for a hunger-free and more peaceful world using the best conventional crop technology and the best of biotechnology in a policy framework conducive to crop production.

For more information, please visit - www.isaaa.org

Εικόνα 27: Προβλέψεις για τα επόμενα 50 χρόνια

Πηγή: <http://www.biotech-now.org/food-and-agriculture/2017/05/our-worlds-farmers-favor-biotech-crops>

Τα Ηνωμένα Έθνη προειδοποιούν ότι ο εφοδιασμός μας με τρόφιμα πρέπει να διπλασιαστεί μέχρι το 2050 για να καλύψει την παγκόσμια αύξηση του πληθυσμού σε 9 δισεκατομμύρια ανθρώπους, δήλωσε ο Πρόεδρος και Διευθύνων Σύμβουλος της BIO Jim Greenwood σε δήλωση. Οι γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες παράγουν μεγαλύτερες αποδόσεις σε λιγότερες εκτάσεις και βοηθούν τους αγρότες και τους καλλιεργητές να μετριάσουν τις περιβαλλοντικές προκλήσεις της κλιματικής αλλαγής.



Εικόνα 28: Προβλέψεις και ανησυχίες για τα επόμενα 50 χρόνια

Πηγή: <http://www.citethisforme.com/topic-ideas/life-sciences/GMO%20crops%20in%20south%20africa-20521341>

20521341

Η βιοτεχνολογία παρέχει επίσης κοινωνικά οφέλη στους 18 εκατομμύρια αγρότες που καλλιεργούν ΓΤ καλλιέργειες, ειδικά στο 90% που εκμεταλλεύονται στις αναπτυσσόμενες χώρες, δήλωσε ο Greenwood. Η βιοτεχνολογία έχει βοηθήσει στην ανακούφιση της πείνας αυξάνοντας τα εισοδήματα για τους μικρούς αγρότες και τις οικογένειές τους, βελτιώνοντας τη χρηματοπιστωτική σταθερότητα σε περισσότερα από 65 εκατομμύρια ανθρώπους (ISAAA, 2017).

5.1.4.2 Εταιρείες φυτοπροστατευτικών προϊόντων

Τα πρώτα εμπορικά προϊόντα της αγροτικής βιοτεχνολογίας (GM προϊόντα) εμφανίστηκαν στην αγορά το 1996 και οδήγησαν σε μια σειρά από πολλαπλές συγχωνεύσεις, εξαγορές και συμμαχίες μεταξύ μικρών εταιρειών γενετικής τεχνολογίας, εταιρειών παραγωγής σπόρων και μεγάλων αγροχημικών εταιρειών (Kahn J., 1996).

Οι 10 εταιρείες που παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα, αποτέλεσαν το 80-90% της παγκόσμιας αγοράς αγροχημικών προϊόντων κατά την περίοδο 1997-1998.

ΕΤΑΙΡΕΙΑ	(US \$ mill)	ΕΔΡΑ ΜΗΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ
1. Novartis	4124	Ελβετία
2. Monsanto	4032	ΗΠΑ
3. Du Pont	3156	ΗΠΑ
4. Zeneca	2895	Μ. Βρετανία
5. AgrEvo	2384	Γερμανία
6. Rhone- Poulenc	2286	Γαλλία
7. Bayer	2248	Γερμανία
8. American Cyanamid	2194	ΗΠΑ
9. Dow Agrosiences	2132	ΗΠΑ
10. BASF	1932	Γερμανία

Πίνακας 1: Οι 10 μεγαλύτερες αγροβιοτεχνολογικές εταιρείες (βάσει των πωλήσεων τους σε προϊόντα προστασίας καλλιέργειών)

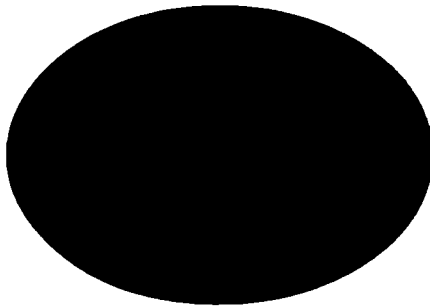
Πηγή: (<http://europa.eu.int.comm/food/food/biotechnology/publiccomments.en.htm>)

Η Monsanto είναι η πρώτη εταιρεία αγροτικής βιοτεχνολογίας στην Αμερική, με τις περισσότερες εγκεκριμένες πατέντες και τις περισσότερες εγκρίσεις για πειραματικές καλλιέργειες γενετικά τροποποιημένων φυτών (1318 εγκρίσεις από το 1993 ως το 1999).

Οι πωλήσεις του γεωργικού τμήματος της ανήλθαν στα 4,02 δις. δολάρια κατά το πρώτο εννεάμηνο του 1990 και τα καθαρά κέρδη σε 780 εκατ. δολάρια (το 1998 ήταν 3,44 δις. δολάρια και 920 εκατ. δολάρια αντίστοιχα)(Kahn J., 1996). Τα κυριότερα GM προϊόντα της Monsanto είναι η Roundup Ready σόγια (σόγια ανθεκτική στο ζιζανιοκτόνο Roundup Ready), το Bollgard βαμβάκι (βαμβάκι Bt, εντομοανθεκτικό), το YieldGard καλαμπόκι (καλαμπόκι Bt, εντομοανθεκτικό)(Kahn J., 1996).

Τα έτη 1997-1999 εξαγόρασε τις εταιρείες Asgrow, Cargill, Delta & Pine Land. Κατέχει το σημαντικότερο τμήμα καλλιεργούμενων εκτάσεων γενετικά τροποποιημένων φυτών σε όλο τον κόσμο. Το κύμα των εντονότατων αντιδράσεων που έχουν προκαλέσει τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα και σπόροι στην Ευρώπη, έχει επηρεάσει και την Monsanto που δέχεται κριτική από όλους τους πολέμους της βιοτεχνολογίας. Η Monsanto είναι από τις πρώτες εταιρείες που έκαναν εξαγωγές γενετικά τροποποιημένων σπόρων στην Ευρωπαϊκή αγορά πιστεύοντας ότι ήταν μια συνέχεια της Αμερικάνικης αγοράς. Ο πρόεδρος της Monsanto, ομολόγησε όμως σε συνέντευξη του σε Αμερικανική εφημερίδα ότι “ νομίζω ότι προσεγγίσαμε με κάποια απλοϊκότητα την Ευρωπαϊκή αγορά” (Kahn J., 1996). Παράλληλα, η εξάρτηση των αγροτών εντείνεται και από το γεγονός ότι οι GM καλλιέργειες που προκύπτουν από τους σπόρους που αγοράζουν δεν είναι γόνιμες. Αυτό σημαίνει ότι οι αγρότες δεν μπορούν να παράγουν οι ίδιοι σπόρους από τις GM καλλιέργειες, αλλά πρέπει κάθε χρόνο να αγοράζουν νέους σπόρους για τις καλλιέργειες, γεγονός που σημαίνει αυξημένο κόστος (Kahn J., 1996). Οι λόγοι που οι βιοτεχνολογικές εταιρείες παράγουν άγονους GM σπόρους, είναι για να μειωθεί η επίδραση των GM καλλιεργειών στο περιβάλλον (μείωση μεταφοράς γονιδίων) αλλά και για να έχουν τον έλεγχο της διάθεσης των GM σπόρων στην αγορά. Όμως, η έντονη κριτική που ασκήθηκε στην πρακτική αυτή, οδήγησε ορισμένες εταιρείες όπως τη Monsanto, να ανακοινώσει ότι θα σταματήσει να εφαρμόζει την τεχνολογία τερματισμού στα GM προϊόντα.

BIOTECH COMPANIES MONOPOLIZE GLOBAL SEED MARKET



- top 6 giants
- Other companies

Global Seed Sales totalled US\$34,495 million in 2011

MONSANTO
Food • Health • Hope



DU PONT

syngenta



DOW

BASF
The Chemical Company

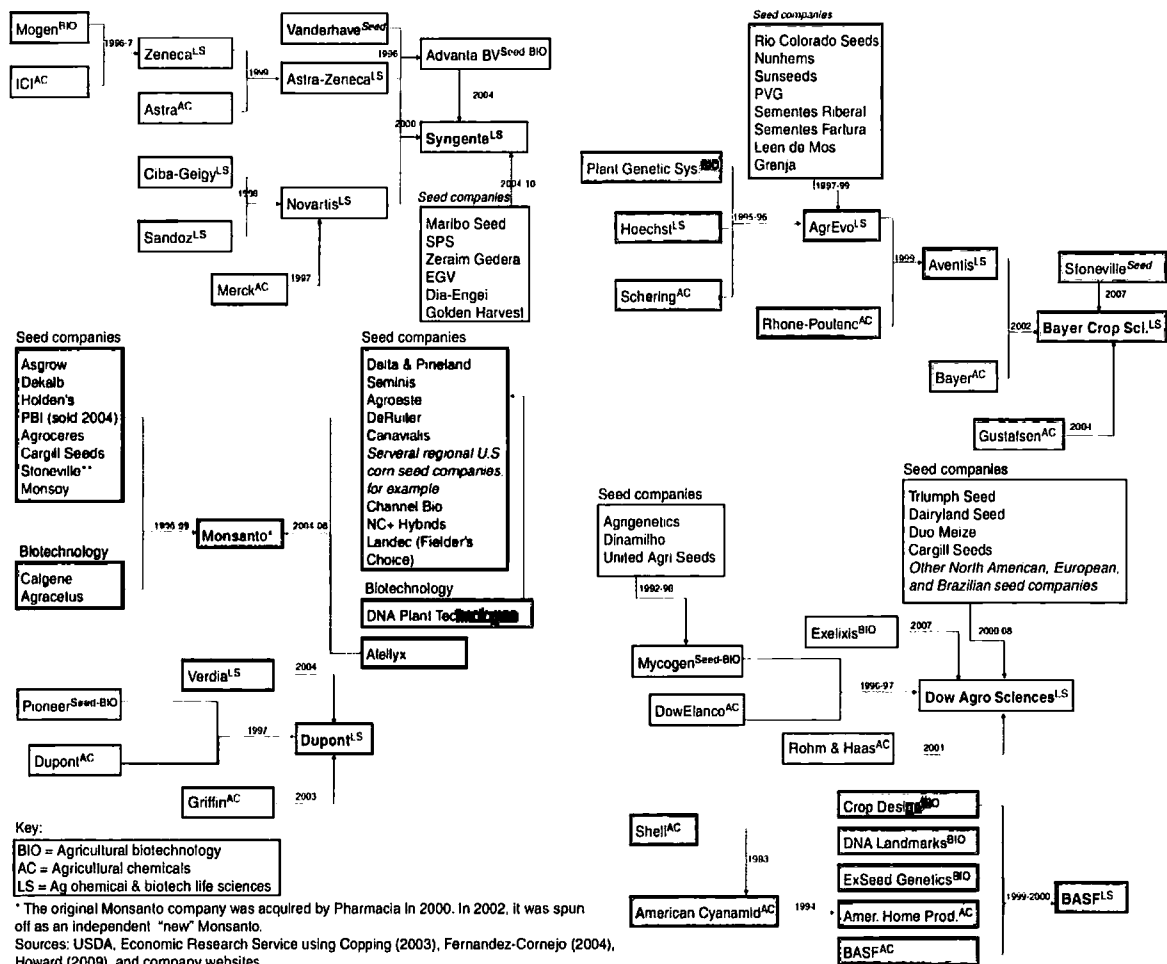
The same six multinational companies
— Monsanto, DuPont, Syngenta, Bayer, Dow, and BASF — control:

- 75% of all private sector plant breeding research
- 60% of the commercial seed market
- 100% of the GM seed market
- 76% of global agrochemical sales

Εικόνα 29: Παγκόσμιες βιοτεχνολογικές εταιρείες

Πηγή: <http://www.arc2020.eu/what-the-industry-does-not-tell-us-about-gm-crops-new-foe-report-who-benefits-from-genetically-modified-crops-report/>

Το επίκεντρο της συζήτησης για τους γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς και ο ρόλος τους στις αναπτυσσόμενες χώρες είναι οι μεγάλες εταιρείες. Η Bayer, η BASF, η Dow AgroScience, η DuPont Pioneer, η Monsanto και η Syngenta πωλούν όλους τους ΓΤ σπόρους και τα συναφή προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των ζιζανιοκτόνων, καθώς και μια σειρά σπόρων που δεν είναι ΓΤ και προϊόντα που υποστηρίζουν τη γεωργική παραγωγή. Εμπιστεύονται και συμβουλεύουν τις κυβερνήσεις σχετικά με τη ρύθμιση των ΓΤΟ και συνεργάζονται με τους αγρότες για την καλλιέργεια ΓΤΟ. Για δεκαετίες, αυτές οι εταιρείες και ο ρόλος τους στην ανάπτυξη και τη χρήση ΓΤΟ έχουν αντιμετωπίσει επικρίσεις, με εκστρατείες που τους επιτίθενται για τις επιπτώσεις τους στη δημόσια υγεία και το περιβάλλον, αλλά συνέχισαν να αναπτύσσονται και να επεκτείνονται και να συμβάλλουν την παρουσία τους στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ένας από τους σημαντικότερους στόχους αυτών των εταιρειών είναι η βελτίωση της κερδοφορίας των αγροτών στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπως η Bayer, η Monsanto και η Syngenta και η συνεργασία με κυβερνήσεις και αγρότες για τη βελτίωση των ευκαιριών σε αυτό το χώρο είναι το κλειδί για το έργο τους (Genetic Literacy Project, 2018).



Εικόνα 30: Εταιρείες ΓΤ σπόρων

Πηγή:<https://makanaka.wordpress.com/2012/02/05/formation-of-the-big-6-seed-biotech-crop-companies/>

Τα τελευταία 15 χρόνια, η παγκόσμια βιομηχανία σπόρων έχει εδραιωθεί μέσω συγχωνεύσεων και εξαγορών. Αυτό το γράφημα, που εξήχθη από την έκθεση του USDA του 2011, δείχνει πώς έφτασαν οι 6 μεγαλύτερες εταιρείες στις θέσεις που κατέχουν τώρα. Από τις σημερινές μεγάλες εταιρείες, μόνο μία, η Bayer, διαθέτει ως κύρια σειρά φαρμακευτικά προϊόντα. Όταν οι επιχειρήσεις χημικών και σπόρων της Novartis συγχωνεύθηκαν με την επιχείρηση της Zeneca το 2000 για να διαμορφώσουν τη Syngenta, η Novartis παρέμεινε άθικτη ως ξεχωριστή μεγάλη φαρμακευτική εταιρεία. Η BASF και η DuPont έληξαν τις σχετικά μικρότερες φαρμακευτικές τους επενδύσεις μετά το 2000. Το 2001 αντίστοιχα και η Dow είχε ήδη πωλήσει τη φαρμακευτική θυγατρική της Marion Merrell Dow στη Hoechst το 1996. Τα γεωργικά χημικά προϊόντα αποτελούν σημαντικό μέρος των πωλήσεων για όλες τις μεγάλες εταιρείες. Ωστόσο, οι θέσεις στις αγορές μη γεωργικών χημικών προϊόντων δεν παρέμειναν σταθερές, με ορισμένες εταιρείες να απομακρύνουν αυτά τα μη γεωργικά προϊόντα. Η Monsanto παραιτήθηκε από αυτό το τμήμα της δραστηριότητάς της στη Solutia το 1997. Όταν οι Ciba-Geigy και Sandoz συγχωνεύθηκαν για να σχηματίσουν το Novartis το 1996, οι μη γεωργικά χημικά προϊόντα αποσύρθηκαν στην Ciba Specialty Chemicals, η οποία τελικά αποκτήθηκε από την BASF. Η Bayer πώλησε στην BASF επιλεγμένα εντομοκτόνα και μυκητοκτόνα το 2003. Η DuPont πώλησε τις δραστηριότητές της στις αρχές της δεκαετίας του 2000 (USDA, 2011).

5.2 Κίνδυνοι από τη χρήση Γενετικά Τροποποιημένων Φυτών

5.2.1 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

➤ Πρόκληση αλλεργιών

Όλα τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα περιέχουν σημαντικές ποσότητες DNA και RNA, το φάσμα κατανάλωσης κυμαίνεται από 0,1-1,0 g/ημέρα (Doerfler W. et al., 1999). Η πιθανότητα ότι η πρωτεΐνη που παράγεται από το διαγονίδιο μπορεί να είναι τοξική έχει προκαλέσει ανησυχία. Αυτό θα συνέβαινε εάν το διαγονίδιο που κωδικοποιήθηκε για μια τοξίνη, η τοξίνη στη συνέχεια να είχε αφομοιωθεί από τον ξενιστή. Ωστόσο, η πιθανή τοξικότητα της πρωτεΐνης που εκφράζεται σε γενετικά τροποποιημένο τρόφιμο αποτελεί βασικό στοιχείο της εκτίμησης της ασφάλειας που πρέπει να εκτελεστεί. Η πιθανή αλλεργιογένεση στο νέο γονιδιακό προϊόν αποτελεί ακόμη μια ανησυχία. Η ανησυχία γύρω από αυτό το θέμα σχετίζεται με δύο παράγοντες: η πιθανότητα ότι τα γονίδια από γνωστά αλλεργιογόνα μπορούν να εισαχθούν σε καλλιέργειες που δεν συνδέονται τυπικά με αλλεργιογένεση και τη δυνατότητα δημιουργίας νέων άγνωστων αλλεργιογόνων είτε εισάγοντας νέα γονίδια στις καλλιέργειες είτε αλλάζοντας την έκφραση των ενδογενών πρωτεϊνών (Malarkey T., 2003).

Δύο παραδείγματα που σχετίζονται με την αλλεργιογένεση των γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών είναι: Α) Σε ένα πρόγραμμα σχετικά με την ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων μπιζελιών, προστέθηκε μια πρωτεΐνη που προσδίδει αντίσταση σε ένα είδος κολεόπτερον, τα μπιζέλια αποσύρθηκαν αφού αποδείχτηκε ότι προκαλούσαν σε ποντίκια αλλεργία στον πνεύμονα (Prescott VE. et al., 2005). Β) Σπόροι σόγιας που κατασκευάστηκαν για να εκφράσουν μια πρωτεΐνη στο καρύδι Βραζιλίας αποσύρθηκαν από την παραγωγή αφού βρέθηκε ότι όλα τα πειράματα ήταν αλλεργιογόνα (Nordlee JA. et al., 1996). Είναι πλέον κοινώς αποδεκτό ότι δεν υπάρχουν προϊόντα από γενετικές τροποποιήσεις τα οποία να έχουν άμεσα θετικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Η γενετικά μηχανική μελλοντικά υπόσχεται προϊόντα με αυξημένες ποσότητες βιταμινών όπως Α, Β και Ε, έλαια με λιγότερα κορεσμένα λιπαρά καθώς και απομάκρυνση βλαβερών ουσιών όπως τοξίνες και αλλεργιογόνα (Uzogara S., 2000). Οι αλλεργίες πλήττουν το 1-2% του ενήλικου πληθυσμού και το 6-8% του ανήλικου. Κατά ένα ποσοστό 90% προέρχονται από το αράπικο φιστίκι, τη σόγια, τα καρύδια, το γάλα, το ψάρι, το σιτάρι και τα οστρακόδερμα (Kaerpler. H., 2000).

5.2.2 Επιπτώσεις στο Περιβάλλον

Η καλλιέργεια των διαγονιδιακών φυτών στη φύση, ενέχει πολλούς κινδύνους εφόσον υπάρχουν ενδείξεις ότι τα διαγονιδιακά φυτά αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον τους και κανείς δεν μπορεί να εγγυηθεί ότι θα παραμείνουν γονιδιακά σταθερά με το πέρασμα του χρόνου (Klinger, 1998). Οποιοσδήποτε ανεπιθύμητες επιπτώσεις στο περιβάλλον μέσω της μεγάλης κλίμακας ανάπτυξης των διαγονιδιακών φυτών μπορεί να επηρεάσουν έμμεσα την ανθρώπινη υγεία. Οι ακόλουθες ανησυχίες εκφράστηκαν σχετικά με τα γενετικά τροποποιημένα φυτά και το περιβάλλον:

- Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά υβριδοποιούνται μέσω μεταφοράς γύρης με μη γενετικά τροποποιημένα
- Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά μπορούν να γίνουν επιθετικά ζιζάνια

- Οι προϋποθέσεις που απαιτούνται για την ανάπτυξη διαγονιδιακών φυτών επηρεάζουν τοπικούς πληθυσμούς άγριων ζώων

(Quist D., Chapela JH., 2001)

Ένα ενδιαφέρον παράδειγμα για μεταφορά χαρακτηριστικών από γενετικά τροποποιημένη καλλιέργεια σε γειτονική, συμβατική καλλιέργεια είναι αυτή του κόκκινου καλαμποκιού στην Ισπανία, που δημοσιεύτηκε σε στήλη της Wall Street Journal. Είναι η περίπτωση του κύριου Félix Ballarín που για 15 χρόνια καλλιεργούσε μια οργανική ποικιλία κόκκινου καλαμποκιού, επειδή πίστευε ότι θα έπανε διπλάσια τιμή. Δυστυχώς όμως εμφανίστηκε ο σπάδικας βρέθηκαν κίτρινοι καρποί ανάμεσα στους κόκκινους και επιστήμονες μετά από τεστ που έκαναν στο DNA διαγονιδιακής ποικιλίας (Milles and Kilman, 2005). Έτσι το συγκεκριμένο καλαμπόκι έπαψε να φέρει την ονομασία «οργανικό» και ο ιδιοκτήτης μαζί με τον κόπο τόσων χρόνων έχασε και την παραγωγή του (Milles and Kilman, 2005). Παρόλα αυτά, η Δρ. Nina Fedoroff, στη συγκεκριμένη εφημερίδα, εξηγεί ότι η εμφάνιση κίτρινων καρπών αποκλείεται να οφείλεται στην μεταφορά γύρης από γειτονική καλλιέργεια, διότι η χρωστική που δίνει το κόκκινο χρώμα στα καλαμπόκια φτιάχνεται στο περικάρπιο, το οποίο δημιουργείται από το φυτό που δίνει το σπάδικα και δεν επηρεάζεται από την γενετική σύσταση της γύρης (Fedoroff, 2005). Το 2001, υποβλήθηκαν στοιχεία από μια δημοσιευμένη μελέτη τα οποία έδειξαν ότι τα γενετικά τροποποιημένα γονίδια από τον διαγονιδιακό αραβόσιτο είχαν μολυνθεί με διασταυρωμένη γονιμοποίηση του άγριου αραβόσιτου στο Μεξικό, παγκόσμιο κέντρο βιοποικιλότητας αυτού του είδους. Η εγκυρότητα της συγκεκριμένης μελέτης αμφισβητήθηκε κατά τη δημοσίευση και οι μετέπειτα μελέτες απέτυχαν να ανιχνεύσουν οποιαδήποτε ένδειξη διαγονιδιακής εξάπλωσης στον Μεξικάνικο αραβόσιτο που αναπτύσσεται στην άγρια φύση (Metz M., Fulterer J., 2002). Ερευνητές υποστήριξαν ότι υπήρχε συνεχής μεταφορά γονιδίων από γενετικά τροποποιημένες ποικιλίες σε ιθαγενείς ποικιλίες. Σε έρευνες που έγιναν όμως στη συνέχεια δεν βρέθηκαν ξένα γονίδια στις ντόπιες ποικιλίες (Conko and Prakash, 2002).



Εικόνα 31: Σπάδικας κόκκινου καλαμποκιού

Πηγή: (Easy Bloom, 2013)

➤ Δημιουργία εντόμων ανθεκτικών στις Bt

Η φυσική επιλογή αποτελεί σε κάθε επέμβαση ένα σημαντικό παράγοντα, διότι σύμφωνα με αυτή δημιουργούνται έντομα ανθεκτικά σε κάθε είδους μέσο εξόντωσης τους, είτε αυτά είναι χημικά

ή βιολογικά εντομοκτόνα, είτε διαγονιδιακά φυτά που παράγουν τα ίδια τοξίνες Bt. Επομένως, ένας σημαντικός κίνδυνος που μπορεί να προκύψει από τη συνεχή χρήση των διαγονιδιακών φυτών είναι η φυσική επιλογή εντόμων ανθεκτικών στις τοξίνες (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Εργαστηριακές μελέτες από καλλιέργειες φυτών Bt έχουν δείξει ότι η εντατική καλλιέργεια φυτών Bt μπορεί να οδηγήσει στην επιλογή και επικράτηση στελεχών εντόμων ανθεκτικών στην τοξίνη Bt. Τα στελέχη των εντόμων αυτών υφίσταται μια τυχαία μετάλλαξη σε κάποιο γονίδιο το οποίο προσδίδει ανθεκτικότητα στην τοξίνη Bt (Shelton AM & Zhao JZ, 2000). Η δημιουργία ανθεκτικών εντόμων σε εντομοκτόνα είναι ένα φαινόμενο που συμβαίνει σε μεγάλη έκταση γης. Υπολογίζεται ότι πάνω από 500 είδη αρθροπόδων έχουν δημιουργήσει ανθεκτικότητα σε ένα ή περισσότερα εντομοκτόνα. Η δημιουργία εντόμων ανθεκτικών σε Bt σε μεγάλη κλίμακα μπορεί να οδηγήσει στην αχρήστευση του Bt ως εντομοκτόνο (το οποίο παράγεται από φυσική πηγή και θεωρείται ότι "σέβεται" το περιβάλλον) και στην αναπόφευκτη εφαρμογή πιο δραστικών και ίσως περισσότερο επιβλαβών χημικών εντομοκτόνων (Shelton AM & Zhao JZ, 2000).

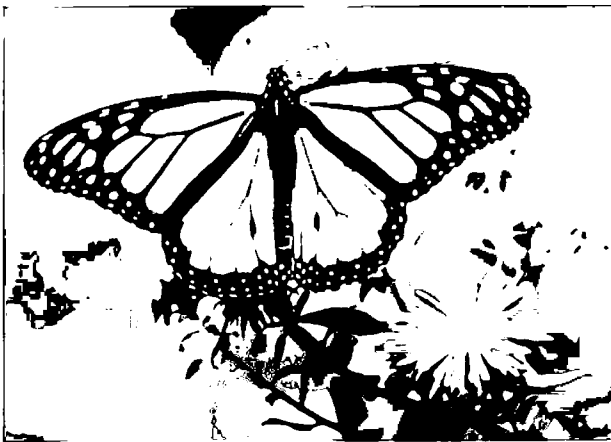
Ο στόχος είναι τα έντομα που φέρουν τα γονίδια της ανθεκτικότητας που πιθανόν να προκύψουν, να διασταυρωθούν με τα μη ανθεκτικά έντομα και έτσι τα γονίδια ανθεκτικότητας να «πνιγούν» σε μια μεγαλύτερη δεξαμενή γονιδίων μη -ανθεκτικότητας (Butler D., Reichhardt T., Abbot A., Dickson D. and Saegusa A., 1999). Μια ήπια αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος είναι η χρησιμοποίηση μη διαγονιδιακών φυτών σε συνδυασμό με διαγονιδιακά. Για το λόγο αυτό στις ΗΠΑ επιβάλλεται από την EPA (Environmental Protection Agency ή Υπηρεσία Περιβαλλοντικής Προστασίας) ειδικό πρόγραμμα «καταφυγίου» στις καλλιέργειες Bt για την αποφυγή δημιουργίας ανεπιθύμητης ανθεκτικότητας (resistance management plants). Αυτό μπορεί να γίνει είτε χρησιμοποιώντας και τα δύο είδη φυτών σε μια καλλιέργεια, είτε με τη διαδοχική εναλλαγή τους σε ετήσια βάση. Με τον τρόπο αυτό εννοείται η ανάπτυξη εντόμων χωρίς επιλεκτική πίεση, καθώς επίσης και των ωφέλιμων εντόμων που προσβάλλονται από τις τοξίνες Bt. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί σε καλλιέργειες βαμβακιού, πατάτας και καλαμποκιού (Χατζηλουκάς Ε., 2012). Το καταφύγιο θεωρείται ότι πρέπει να καταλαμβάνει ένα ποσοστό 20-40% της συνολικής Bt καλλιέργειας Bt. Η αποτελεσματικότητα του «καταφυγίου» βασίζεται στην αρχή ότι το γονίδιο της Bt ανθεκτικότητας είναι υπολειπόμενο και επομένως δεν θα εκφράζεται στα έντομα που έχουν προέλθει από την διασταύρωση Bt -ανθεκτικών και μη ανθεκτικών εντόμων. Τέλος, ενδεικτικό για τη σημασία που δίνεται στη λύση των καταφυγίων είναι το γεγονός ότι η εταιρεία Novartis ξόδεψε περίπου 250.000 δολάρια στην έρευνα "Bt ανθεκτικότητα" το 1997 (Wadman M., 1997).

Μια άλλη στρατηγική για την καταπολέμηση του προβλήματος της δημιουργίας Bt ανθεκτικότητας είναι η εισαγωγή γονιδίων διαφορετικών Bt τοξινών στα φυτά. Σε καλλιέργειες φυτών που παράγουν διαφορετικές Bt τοξίνες, είναι πολύ πιο δύσκολο να προκύψουν έντομα ανθεκτικά για όλες τις τοξίνες. Παρόλα αυτά, η αποτελεσματικότητα της μεθόδου αυτής δεν είναι εγγυημένη εφόσον μπορεί να παρατηρηθεί δημιουργία ανθεκτικότητας σε πολλαπλούς τύπους της Bt τοξίνης (Huang F, Buschman LL, Higgins RA, McGaughey WH, 1999). Παράλληλα, μελετάται η χρήση εναλλακτικών γονιδίων εντομοτοξινών από άλλες πηγές, όπως αναστολείς πρωτεασών, λεκτίνες, κ.α. (deMaagd, RA, Bosch D, Stiekema W., 1999).

➤ Ωφέλιμα έντομα

Το 1999 επιστημονική έρευνα υποστήριξε ότι ο αραβόσιτος που κατασκευάστηκε για να εκφράσει την εντομοκτόνο τοξίνη Bt ήταν επιβλαβής για τις προνύμφες της πεταλούδας Μονάρχης (*Danaus plexippus*). Η συγκεκριμένη τοξίνη προέρχεται από το βακτήριο εδάφους *Bacillus thuringiensis*. Υποστηρίχθηκε ότι οι προνύμφες που έχουν εκτραφεί από τον αραβόσιτο Bt έτρωγαν

λιγότερο, αυξάνονταν πιο αργά και εμφάνιζαν υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας (Losey JE., et al., 1999). Ύστερα όμως από μελέτες που έγιναν σε καλλιέργειες καλαμποκιών Bt και συμβατικό καλαμπόκι, βρέθηκε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στον πληθυσμό των πεταλούδων που τρέφονται από το γενετικά τροποποιημένο καλαμπόκι Bt (Schmidt, 2003). Αυτό συνέβη για δύο από τις τρεις γενετικές τροποποιήσεις που μελετήθηκαν ενώ με την τρίτη (*BT 176*) παρατηρήθηκε μετρήσιμη (αν και μικρή) μείωση του πληθυσμού της πεταλούδας Μονάρχη. Η ποικιλία αυτή στη συνέχεια αποσύρθηκε. Σημασία εδώ έχει το γεγονός ότι αν και το γονίδιο *Bt* που είχε ενσωματωθεί και στις τρεις ποικιλίες ήταν ακριβώς το ίδιο, η έκφραση του στην *BT 176* ρυθμιζόταν από ισχυρό υποκινητή που είναι ενεργός και στον γυρεόκοκκο, ενώ στις άλλες δύο είχε χρησιμοποιηθεί άλλος υποκινητής, με χαμηλότερο επίπεδο έκφρασης στους γυρεόκοκκους (Sears et al., 2001).

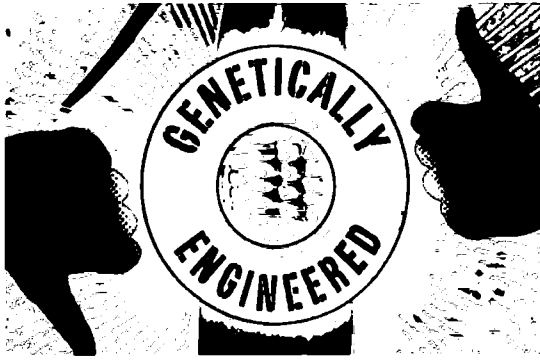


Εικόνα 31: Αεπιδόπτερο Μονάρχης (*Danaus plexippus*)

Πηγή: (<https://www.cepolina.com/gk/butterfly-monarch.htm>)

5.3 Ηθική υποχρέωση των επιστημόνων προς το κοινωνικό σύνολο

Η ηθική υποχρέωση των επιστημόνων είναι να πληροφορούν τους λαούς ή τους αντιπροσώπους τους, σε θέματα δυνατοτήτων της επιστημονικής γνώσης και στην καλή ή στην κακή χρήση. Όμως, οι επιστήμονες σαν μέλη της κοινωνίας πιστεύουν και πράττουν διαφορετικά. Έτσι, ο λόγος τους και οι αιτιολογήσεις τους ποικίλουν. Ο λαός ή οι αντιπρόσωποι του, έχουν κι αυτοί την ηθική υποχρέωση να κατανοήσουν λίγο περισσότερο τα επιστημονικά επιτεύγματα και αφού αποσαφηνίσουν τα επιστημονικά πιστεύω των ερευνητών, να πάρουν αποφάσεις ώστε να αποτραπεί η κακή χρήση της δυνατότητας της νέας αυτής σκέψης και τεχνολογίας. Όμως, κάτι τέτοιο είναι αφελές. Στην ουσία η προσέγγιση αυτή απαλλάσσει από οποιαδήποτε ευθύνη τους επιστήμονες. Τους ανεξαρτητοποιεί και στην ουσία τους απομακρύνει από την κοινωνία και την κοινωνική ηθική (Χατζόπουλος Π., 2001).



Εικόνα 32: Υπέρ και κατά

Πηγή: <https://geneticliteracyproject.org/2018/02/06/consumer-friendly-gmo-foods-change-minds-biotech-crops-animals/>

Υπάρχουν δύο απόψεις. Η μια θεωρεί ότι, η νέα τεχνολογία και η εφαρμογή της επιστήμης είναι πέρα για πέρα καταστροφική και ότι οι παραδοσιακοί τρόποι και οι αξίες θα συμβιβαστούν παντελώς και θα διαβρωθούν. Ο μόνος τρόπος να αποτραπεί κάτι τέτοιο είναι μόνο να εμποδιστεί η ανάπτυξη της επιστήμης αυτής και της τεχνολογίας. Η εκ διαμέτρου αντίθετη άποψη θεωρεί ότι η επιστήμη αυτή και η εφαρμογή της έχει μια αστείρευτη πηγή από ανείπωτα οφέλη και οποιοδήποτε εμπόδιο θα δημιουργήσει τρομερά προβλήματα στην εξέλιξη και στην ανάπτυξη. Ανάμεσα στις δύο αυτές ακραίες περιπτώσεις υπάρχουν αρκετές ενδιάμεσες απόψεις. Μια από αυτές θεωρεί ότι τίποτα και κατ' ουσία δεν είναι νέο, αλλά αποτελείται από επιστημονικά επιτεύγματα που συναθροίζονται με το χρόνο. Έτσι, το προϋπάρχον σύστημα κανονισμών είναι ικανοποιητικό για να αντιμετωπίσει τους δυνητικά προβλεπόμενους κινδύνους (Χατζόπουλος Π., 2001). Τα αναμενόμενα οφέλη θα συμβούν αναπόφευκτα καθώς η τεχνολογία αυτή ωριμάζει. Μια άλλη άποψη θεωρεί ότι κάθε περίπτωση είναι ανεξάρτητη και θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ανεξάρτητα. Νέοι κανονισμοί θα πρέπει να ισχύσουν όταν εμφανίζονται καινοφανή προϊόντα ή παντελώς τροποποιημένοι οργανισμοί. Η θεώρηση αυτή απαιτεί επιπρόσθετη γνώση της βασικής λειτουργίας των προϊόντων μέσα στον οργανισμό, της λειτουργίας του ίδιου του οργανισμού, της σχέσης του με το περιβάλλον και της σχέσης του προϊόντος με το περιβάλλον. Επίσης, μια άλλη άποψη θεωρεί ότι πρέπει να εξετάζεται και να εκτιμάται η πραγματική αναγκαιότητα της κοινωνίας, της οικονομίας και της ηθικής για το εκάστοτε νεοδομημένο προϊόν (Χατζόπουλος Π., 2001).

Υπάρχουν πεδία αντιπαράθεσης μεταξύ αντίθετων και υποστηρικτών της βιοτεχνολογίας για τους λόγους ηθικής και υποστηρίζεται ότι η μεταφορά γονιδίων μεταξύ οργανισμών δεν προέρχονται από το ίδιο είδος (και επομένως δεν διασταυρώνονται μεταξύ τους) είναι ανήθικη. Επομένως οι άνθρωποι δεν νομιμοποιούνται να μεταβάλλουν τη γονιδιακή σύσταση των οργανισμών με τέτοιες μεθόδους. Σύμφωνα με τους υποστηρικτές της βιοτεχνολογίας η αντίληψη αυτή αγνοεί το γεγονός ότι ο άνθρωπος έχει επιφέρει σημαντική επίδραση στην εξέλιξη πολλών ειδών, όπως με τη μεταφορά γονιδίων μεταξύ ειδών στα συμβατά προγράμματα βελτίωσης. Πρόσθετα, μεταφορά γονιδίων μεταξύ άσχετων μεταξύ τους οργανισμών συμβαίνει και στη φύση (Maarten J. Chrispeels and David E. Sadava, 1994).

Το ζήτημα των παρεμβάσεων του ανθρώπου στη φύση με τη γενετική μηχανική συνδέεται άμεσα με την ελευθερία του ανθρώπου. Έτσι ο άνθρωπος ενεπλάκη σε μια ιδιαίζουσα σχέση με τη φύση, όπου ο άνθρωπος εξουσιάζει τη φύση και κατ' αυτό τον τρόπο υφίσταται μια αμοιβαία αντιπαλότητα μεταξύ φύσεως και ανθρώπου. Το γεγονός αυτό οδήγησε τον άνθρωπο σε τέτοιες παρεμβάσεις στη φύση ώστε να φανερώσει ότι εξουσιάζει τη φύση και συγχρόνως υποδουλώνεται σ' αυτή. Μια έκφραση της σχέσεως αυτής μεταξύ ανθρώπου και φύσεως αποτελεί και το οικολογικό πρόβλημα ως αποτέλεσμα της νοοτροπίας ότι αφού ο άνθρωπος είναι κυρίαρχος της φύσεως, μπορεί να την κάνει ότι θέλει. Η ίδια νοοτροπία συνεπάγεται ότι η φύση εκδικείται τον άνθρωπο και αυτός

αποδεικνύεται αδύναμος μπροστά της (Ζηζιούλας Ιωάννης, 2001). Μέσα σ' αυτά τα πλαίσια τοποθετείται και το πρόβλημα της παρεμβάσεως του ανθρώπου στη δομή της ύλης αλλά και στη δομική μηχανή της βιολογικής ύλης των όντων. Αν και η προσπάθεια διείσδυσης στους μηχανισμούς αυτούς ξεκίνησε από καιρό, ωστόσο τα πρακτικά αποτελέσματα της φάνηκαν τελικά με το εντυπωσιακό επίτευγμα της κλωνοποίησης. Δηλαδή με την απτή παραγωγή ενός πανομοιότυπου βιολογικά αντιγράφου. Με αυτές τις προκλήσεις της βιοτεχνολογίας απομακρυνόμαστε πλέον από την εποχή προβλημάτων και προβληματισμών ηθικής κλασικού τύπου και εισερχόμαστε σ' ένα νέο είδος ηθικών προβλημάτων. Το ζήτημα δεν είναι βέβαια αν η φύση είναι καλή ή κακή αλλά αν θα επιβιώσει ή όχι (Ζηζιούλας Ιωάννης, 2001).

6. Συμπεράσματα

Η επέμβαση του ανθρώπου στο γενετικό υλικό προκειμένου να παράγει οργανισμούς με τα χαρακτηριστικά όπου ο ίδιος έχει επιλέξει είναι πλέον πραγματικότητα. Τα τελευταία χρόνια είναι ευρέως διαδεδομένη η τεχνολογία της γενετικής τροποποίησης με τη χρήση διάφορων μεθόδων της βιοτεχνολογίας. Σε πολλές περιπτώσεις η βιοτεχνολογία χρησιμοποιείται επειδή ίσως είναι και ο καλύτερος (ίσως και ο μοναδικός) τρόπος για να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα. Η γενετική τροποποίηση μπορεί να συμβάλει στην αειφορική γεωργία, καθώς και στη βελτίωση της αξίας της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων. Αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο, που έχει τεράστιες δυνατότητες όταν εφαρμόζεται κατάλληλα.

Τον τελευταίο αιώνα παρατηρήθηκε μια ραγδαία αύξηση του πληθυσμού η οποία συνεχίζεται με έντονους ρυθμούς μέχρι σήμερα. Αυτή η πληθυσμιακή έκρηξη συνεπάγεται συνεχώς για αυξανόμενες ανάγκες παραγωγής φυτικών και ζωικών τροφίμων, αλλά και ζωοτροφών, ενώ παράλληλα αυξάνεται το κόστος των φυτοφαρμάκων, των εντομοκτόνων και γενικότερα το κόστος παραγωγής αγροτικών προϊόντων. Ετέθη, λοιπόν, το αίτημα παραγωγής περισσότερων αγροτικών προϊόντων με καλύτερους οικονομικούς και περιβαλλοντικούς όρους. Στο αίτημα αυτό ήρθε να απαντήσει η βιοτεχνολογία, με αποτέλεσμα την εμφάνιση των διαγονιδιακών φυτών.

Έτσι, άρχισαν να δημιουργούνται φυτά που δεν απαιτούν εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα κ.τ.λ. , που είναι ανθεκτικά στις περιβαλλοντικές καταπονήσεις και στους ιούς. Ένα παράδειγμα που έχει αναφερθεί είναι το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* που παράγει βιοδιασπώμενη, μη τοξική, δραστική εντομοκτόνο ουσία. Το γονίδιο του βακτηρίου που κωδικοποιεί την παραγωγή αυτής της ουσίας μεταφέρθηκε με την τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA και τη βοήθεια ενός πλασμιδίου εντός του DNA διαφόρων φυτών, με αποτέλεσμα τα φυτά αυτά να παράγουν βιοεντομοκτόνο και να μην απαιτούν χημικά εντομοκτόνα. Μια άλλη περίπτωση είναι η δημιουργία φυτών που είναι ανθεκτικά στην ουσία glyphosate, ενός συστατικού πολλών ζιζανιοκτόνων, που καταστρέφει τη χλωροφύλλη. Η απώλεια της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής λόγω των ζιζανίων υπερβαίνει το 10%, παρ' όλο που το κόστος χρήσης των 100 περίπου διαφορετικών ζιζανιοκτόνων ανέρχεται σε δισεκατομμύρια ευρώ. Με την τεχνική της σταυροπροστασίας δημιουργούνται ανθεκτικά στελέχη φυτών σε προσβολή από ιούς. Όσον αφορά την ανθεκτικότητα στα βακτήρια και τους μύκητες δημιουργούνται διαγονιδιακά φυτά τα οποία κωδικοποιούν ένζυμα που αποδομούν τα βακτηριακά και μυκητιακά κυτταρικά τοιχώματα. Τέλος η γενετική μηχανική έχει συμβάλει στην αντιμετώπιση αβιοτικών καταπονήσεων των καλλιεργειών όπως οι ακραίες θερμοκρασίες (παγετός, ξηρασία), η αλατότητα και τα βαρέα μέταλλα.

Από τα γενετικά τροποποιημένα φυτά παράγονται τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα. Οι πολυεθνικές εταιρείες όπως η Bayer, BASF, Syngenta κ.α. επενδύουν μεγάλα χρηματικά ποσά στην έρευνα για παραγωγή γενετικά τροποποιημένων φυτών και συνάμα τροφίμων καθώς επίσης και γενετικά τροποποιημένους σπόρους, από τους οποίους προκύπτουν ανθεκτικά σε ζιζανιοκτόνα και εντομοκτόνα φυτά, καθώς και γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα.

Πολλοί επιστήμονες θεωρούν ότι αν και τα διαγονιδιακά φυτά σε κάποιες περιπτώσεις μειώνουν τη χρήση χημικών ουσιών, όπως στην περίπτωση των φυτών που παράγουν βιοεντομοκτόνο Bt, είναι πιθανόν να προκαλέσουν πληθώρα περιβαλλοντικών προβλημάτων. Αυτά μπορεί να σχετίζονται με τη διατάραξη της βιοποικιλότητας του οικοσυστήματος, όπως για παράδειγμα με τη μεταφορά γύρης από τις γενετικά τροποποιημένες καλλιέργειες σε μια βιολογική καλλιέργεια συγγενικών ειδών, περνώντας έτσι τις τροποποιημένες ιδιότητες στην καλλιέργεια.

Αναφορικά με τις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, τίποτα δεν είναι αποδεδειγμένο. Υπάρχουν, όμως επιστημονικά δεδομένα που αναφέρουν πιθανή, μακροπρόθεσμα, οριζόντια μεταφορά γονιδίου του γενετικά τροποποιημένου προϊόντος στον ανθρώπινο οργανισμό, με ουσίες που να έχουν τοξική δράση εντός του οργανισμού και να προκαλέσουν αλλεργίες. Επίσης ενδέχεται να προκαλούν μακροπρόθεσμα μεταλλάξεις γονιδίων και καρκινογενέσεις.

Θα μπορούσε να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι τα διαγονιδιακά φυτά φαίνεται να οδηγούν στην οικονομικότερη καλλιέργεια της γης και στη μειωμένη χρήση εντομοκτόνων, ενώ παράγονται τρόφιμα με βελτιωμένες ιδιότητες, όπως καλαμπόκι με μεγαλύτερη θρεπτική αξία, το «χρυσό» ρύζι εμπλουτισμένο με βιταμίνη Α, κ.α. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν επιστημονικές μελέτες που δείχνουν πιθανές αρνητικές επιπτώσεις των διαγονιδιακών φυτών στον άνθρωπο και στο περιβάλλον. Οι μελέτες αυτές δεν έχουν καταλήξει σε ασφαλή συμπεράσματα, διότι λόγω της πρόσφατης εμφάνισης των διαγονιδιακών φυτών και των γενετικά τροποποιημένων τροφίμων πιθανές αρνητικές επιπτώσεις τους θα φανούν σε εύρος χρόνου, που μπορεί να είναι κάποιες δεκαετίες.

Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά έχουν προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον από τα μέσα ενημέρωσης τα τελευταία χρόνια και συνεχίζουν να το κάνουν. Παρ' όλα αυτά, το ευρύ κοινό παραμένει σε μεγάλο βαθμό εν αγνοία του τι είναι στην πραγματικότητα μια γενετικά τροποποιημένη μονάδα ή ποια πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της τεχνολογίας έχει να προσφέρει, ιδίως όσον αφορά το φάσμα των εφαρμογών για τις οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Από την πρώτη γενεά γενετικά τροποποιημένων καλλιεργειών προέκυψαν δύο κύριοι τομείς ανησυχίας: ο κίνδυνος για το περιβάλλον και ο κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία. Καθώς τα ΓΤ φυτά εισάγονται σταδιακά στην Ευρωπαϊκή Ένωση, υπάρχει πιθανότητα να αυξηθούν δημόσια ανησυχία σχετικά με πιθανά προβλήματα υγείας. Παρότι είναι πλέον συνηθισμένο ο τύπος να υιοθετεί «εκστρατείες για την υγεία», οι πληροφορίες που δημοσιεύουν είναι συχνά αναξιόπιστες και μη αντιπροσωπευτικές των διαθέσιμων επιστημονικών στοιχείων. Είναι σημαντικό οι ειδικοί γνωρίζοντας την κατάσταση της τεχνολογίας να είναι σε θέση να παράσχουν μια ενημερωμένη γνώμη προς το κοινωνικό σύνολο.

Λόγω της υπάρχουσας αβεβαιότητας στο θέμα αυτό, επιβάλλεται προσεκτική μελέτη από τους αρμόδιους φορείς των χωρών κάθε νέας περίπτωσης γενετικά τροποποιημένου φυτού ή προϊόντος, ώστε να αποφασίζεται να επιτραπεί η καλλιέργεια του ή στην περίπτωση εισόδου του προϊόντος στην αγορά μόνο εάν αποδειχθεί ότι αυτό δεν εγκυμονεί κανένα κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. Για τα γενετικά τροποποιημένα προϊόντα που εισέρχονται στην αγορά επιβάλλεται η αναγραφή στην ετικέτα του συστατικού που φέρει την τροποποίηση και η πλήρης ενημέρωση των καταναλωτών για τέτοιου είδους τρόφιμα, ώστε να μπορούν να καταλήξουν στο εάν θα τα εμπιστευτούν ή θα τα απορρίψουν. Στην Ελλάδα δεν καλλιεργούνται γενετικά τροποποιημένα φυτά, όμως στην Ελληνική αγορά κυκλοφορούν κάποια τρόφιμα που έχουν υποστεί γενετική τροποποίηση και προέρχονται από το εξωτερικό. Στις ΗΠΑ και στον Καναδά τα γενετικά τροποποιημένα φυτά καλλιεργούνται ευρύτατα, ενώ τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα είναι σε μεγάλο ποσοστό αποδεκτά από τους καταναλωτές. Αντίθετα, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει ένα από τα πιο αυστηρά νομικά πλαίσια στον κόσμο όσον αφορά στην προστασία των πολιτών της. Παρατηρείται έντονη επιφύλαξη από τους καταναλωτές για τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα, ενώ οι αρμόδιες υπηρεσίες και οι κανονισμοί της Ε.Ε. επιβάλλουν πληθώρα διαδικασιών για να εγκριθεί η καλλιέργεια διαγονιδιακών φυτών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Akiyoshi D. E., Klee H., Amasino R., M., Nester E. W., Gordon M. P. 1984. T-DNA of *Agrobacterium tumefaciens* encodes an enzyme of cytokinin biosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 5994-5998.
- Al-Babili S, Beyer P, Golden Rice-five years on the road- five years to go? Trends in plant science. 2005, 10; 12
- Amizee, Firoz 1998. Καλαμπόκι ανθεκτικό στα έντομα: Ασφάλεια και οφέλη. Περιλήψεις συνεδρίου «Γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί στη γεωργία: παρόν και μέλλον» Αθήνα 8-9.12.1998, Υπουργείο Γεωργίας - Γ.Π.Α., Αθήνα. 35 σελ.
- Anzai H., Yoneyama K., and Yamaguchi I., 1989. Transgenic tobacco resistant to a bacterial disease by the detoxification of a pathogenic toxin. Mol. Gen. Genet. 219: 492-494.
- Banuelos G, Leduc DL, Pilon-Smits EAH, Terry N. Transgenic Indian mustard overexpressing selenocysteine lyase or selenocysteine methyltransferase exhibit enhanced potential for selenium phytoremediation under field conditions. Environ Sci Tech 2007;41:599-605
- Baur A, Reski R, Gorr G (2005) Enhanced recovery of a secreted recombinant human growth factor using stabilizing additives and by co-expression of human serum albumin in the moss *Physcomitrella patens*. Plant Biotech. J. 3: 331-340.
- Bechtold N. and Bouchez D. 1995. In planta *Agrobacterium* – mediated transformation of adult *Arabidopsis thaliana* plants by vacuum infiltration.
- Bomhof G., Klapwijk P.M., Kester H.C.M and Schilperoort R.A 1976. Octopine and nopaline synthesis and breakdown genetically controlled by a plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. Molec. Gen. Genet. 145:177-181.
- British Medical Association, 1998. Το γενετικό μας μέλλον: Η επιστήμη και η ηθική της γενετικής τεχνολογίας. 1η Έκδοση. Εκδόσεις Λέξημα, Αθήνα, σελ. 9-10/103/116-121/124/185/188/190-193/195.
- Butler, D, Reichhardt, T, Abbot, A, Dickson, D and Saegusa, A (1999). Long-term effects of GM crops serves up food for thought, Nature 398:651-656.
- Büttner-Malnik A et al. (2011). Production of biologically active recombinant human factor H in *Physcomitrella*. Plant Biotechnology Journal 9: 373-383.
- Byerlee D, Helsey P, Pingali PL. Realising yield gains for food staples in developing countries in the early 21st century: prospects and challenges. In: Chang BM, Colombo M, Soronolo M, (eds) Food Needs of the Developing World in the 21st Century. Vatican City: Political Academy of Sciences; 2000. p. 207-50

- Byrnes BH, Bumb BL. Population growth, food production and nutrient requirements. *J Crop Prod* 1998;1:1–27.
- Chrispeels, M.J. and D.E. Sadava 1994. *Plants, Genes and Agriculture*. Jones and Bartlett Publishers Inc, United States of America, pp. 381 - 382/410-414/430-431.
- Christou P, Twyman RM. The potential of genetically enhanced plants to address food insecurity. *Nut Research Rev* 2004;17:23–42.
- Christou P. 1994. Genetic engineering of crop legumes and cereals: current status and recent advances. *Agro- Food – Industry Hi – Tech*. 5:17 – 27.
- Christou P., McCabe D. E. 1992. Prediction of germline transformation events in climeric R0 transgenic soybean plantlets using tissue specific expression patems. *Plant J*. 2: 283-290.
- Christou P., Swain W. F., Yang N. S., and McCabe D. E. 1989. Inheritance and Expression of Foreign Genes in Transgenic Soybean Plants *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 86 (19): 7500-7504.
- Conco G. and Prakash C.S., 2002. «Report of transgenes in Mexican corn called into question». In : *Information Systems and Biotechnology (ISB)News Report*. pp 3-5.
- Cosbey Aaron, Burgiel Stas, ,2000. ‘‘ The Cartagena Protocol on Blosafety: An analysis of results’’. Csaba K., Martini N., Mayerhofer R., Koncz- Kalman Z., Korber H., Redei G. P. and Schell J. 1989. High frequency T-DNA mediated gene tagging in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 8467-8471.
- DeMaagd, RA, Bosch D, Stiekema W. (1999). *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants, *Trends in Plant Science*, 4:9-13.
- Doerfler W, Schubbert R, Fremde. DNA im Sciugersystem. *Deutsches Arzteblatt* 1997;94:51–2.
- Dunwell J.M., 2002. “Future prospects for transgenic crops”, Kluwer Academic Publisher.
- Fedoroff N.,2005. «Letter to the editor of Wall Street Journal».
- Foerster W., and Neumann E. 1989. Gene transfer by electroporation: A practical guide. In *Electroporation and Electrffusion in Cell iology*, edited by E. Neumann, A. E. Sowers and C. A. Jordon, pp. 299 – 318. New York: Plenum Press.
- Food and Agriculture Organisation. *The State of Food Insecurity in the World*. Rome: FAO; 2001.
- Gasdaska JR et al. (2003) Advantages of Therapeutic Protein Production in the Aquatic Plant Lemna. *BioProcessing Journal* Mar/Apr p.49–56.
- Goy P. (2001). The blosafety of antibiotic resistance markers in plant transformation and the dissemination of genes through horizontal gene flow, in: R. Clusters (Ed.), *Safety of Genetically Engineered Crops*. Zwijnaarde, Institute of Biotechnology, Belgium Flanders Interuniversity, 135-159.
- Genetically modified organisms (GMOs): ‘‘The significance of gene flow through pollen transfer’’, European Environment Agency, Environmental issue report No28, (2002).
- Gonzales A., Jimenez A., Vazquez D., Davies J., and Schindler D. 1978. Studies on the mode of action hydromycin-β an inhibitor of translocation in eukaryotes. *Acta Biochim. Biophys*. 521:459-469.

Grienson, Don (ed) 1991. Plant genetic engineering. Blackie Academic and Professional, London, Glasgow, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, pp. 84/87/89-90/119/125/131-132/136-138/160.

Guidance document of the genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. EFSA J 2004;99:1-94.

Horsch R. B., Fry J. E., Hoffmann N. L., Rogers S. G., Eichholtz D. and Fraley R. T. 1985. A simple and general method for transferring genes into plants. Science 22: 1229-1231.

Hatziloukas, E., and Panopoulos, N.J., 1992. Origin, structure and regulation of *argK*, encoding the phaseolotoxin – resistant ornithine carbamoyltransferase in *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola*, and functional expression in transgenic tobacco. J. Bacteriol., 174: 5898-5909.

Howard E., Zupan J., Citovsky V., and Zambryski P. 1992. The VirD2 protein of *Agrobacterium tumefaciens* contains a C-terminal bipartite nuclear localization signal: Implications for nuclear uptake of DNA in plant cells. Cell 68: 109-118.

Huang F, Buschman LL, Higgins RA, McGaughey WH (1999) Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dip01 ES) in the European corn borer, Science 284: 965-967.

Isaac G. E., Kerr W.A., 2003. “ Genetically Modified Organisms at the World Trade Organization: A Harvest of Trouble”, Kluwer Law International, No. 30.

James C. 2017. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2017. ISAAA Brief No. 53. ISAAA: Ithaca, NY.

James C. 2016. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016. ISAAA Briefs No. 52. Preview, ISAAA Ithaca. NY.

James C. 2015. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2015. ISAAA Briefs No. 51. Preview, ISAAA Ithaca. NY.

James C. 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. ISAAA Briefs No. 43. Preview, ISAAA Ithaca. NY.

James C. 2010. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010. ISAAA Brief No. 42. ISAAA: Ithaca, NY.

James C. 2007. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007. ISAAA Brief No. 37. ISAAA: Ithaca, NY.

James C. 2006. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2006. ISAAA Brief No. 35. ISAAA: Ithaca, NY.

James C. 2005. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2005. ISAAA Brief No. 34. ISAAA: Ithaca, NY.

James C. 2004. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2004 ISAAA Brief No. 32. ISAAA: Ithaca, NY.

Kahn J.,1996. “pests overwhelm Bt cotton”, science, σελ 273-291.

Khanna H.K., and Daggard G.E. 2003. *Agrobacterium tumefaciens*. Plant cell Reports 21: 429-436.

- Klinger, T. (1998). Biosafety assessment of genetically engineered organisms in the environment, *Trends in Ecology and Evolution* 13(1): 5-6.
- Konig A., Cockburn A., Crevel RW., Debruyne E., Grafstroem R., Hammerling U., et al. (2004). Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food Chem. Toxicol.* 42, pp. 1047-88.
- Krens F. A., Molendijk L., Wullems G. J., and Schilperoot R. A. 1982. In vitro transformation of plant protoplasts with Ti-plasmid DNA. *Nature* 296: 72-74.
- Latham JR, Wilson AK, Steinbrecher RA. The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed Biotech* 2006;:1-7. Article ID 25376
- Leduc N., Mathys-Rochon E., Rougier M., Mogensen L., Holm P., Magnard J.L. and Dumas C. 1992. Isolated maize zygotes mimic *in vivo* embryonic development and express microinjected genes when cultured *in vitro*. *Dev. Biol.* 177:190-203.
- Leroux B., Yanofsky M. F., Winans S. C., Ward J. E., Ziegler S. F., and Nester E. W. 1987. Characterization of the *virA* locus of a transcriptional regulator and host range determinant. *EMBO J.* 6: 849 – 856.
- Lindsay David G., “The challenges facing scientists in the development of foods in Europe using biotechnology”, Kluwer Academic Publisher, 2002.
- Losey JE, Rayor LS, Carter ME. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 1999;399:214
- Lowe K., Bowen B., Hoerster G., Ross M., Bond D., Pierce D., and Gordon-kamm B. 1995. Germline transformation of maize following manipulation of chimeric shoot meristems. *Bio/technology* 13: 677-682.
- Ma JKC, Drake PMW, Christou P. The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nature* 2003;4:794-805.
- Malarkey T. Human Health concerns with GM crops. *Mut Res* 2003;544:217-22.
- Malone – Schoneberg J., Scelonge C. J., Burrus M., and Bidney D. L. 1994. Stable transformation of sunflower using *Agrobacterium t.* and split embryonic axis explants. *Plant Science* 103: 199-207.
- McKeon TA. Genetically modified crops for industrial products and processes and their effects on human health. *Trends Food Sci Tech* 2003;14:229-41.
- Metz M, Fulterer J. Biodiversity (communications arising): suspect evidence of GM contamination. *Nature* 2002;416:600-1.
- Milles S. and Kilman S., 2005. Out of lab: «Biotech-Crop Battle Heats Up As Strains Mix With Others, article in Wall Street Journal». *AgBioWorld Newsletter*, 2005.
- Ming-Bo W. and Waterhouse P.M. 1997. A rapid and simple method of Assaying Plants transformed with Hygromycin or PPT resistance genes. *Plant Mol. Biol. Rep.* 15: 209-215.
- Neumann E. and Rosenheck K. 1972. Permeability changes induced by electric impulses in vesicular membranes. *Journal of membrane Biology* 10: 279 – 290.

- Newell-McGloughlin, M. (2004). "Improved nutrition through modern biotechnology. IFT Annual Meeting. Las Vegas, σελ 68-72.
- Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK. Identification of a brazil-nut allergen in GM soybeans. *NEJM* 1996;334:688–92
- Oksman - Caldentey KM., Barz W., "Plant Biotechnology and Transgenic Plants", Marcel Dekker Inc., 2002.
- Old RW., Primrose SB., "Principles of Gene Manipulation-An introduction to Genetic Engineering", 5th edition, Blackwell Science Ltd, 2000.
- Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, et al. Improving the nutritional content of Golden Rice through increased provitamin A content. *Nat Biotechnol* 2005;23:482–7.
- Pansegrau W. and Lanka E. 1996. Enzymology of DNA transfer by conjugative mechanisms. *Prog. Nuc. Acid Res. Mol. Biol.* 54: 197-251.
- Paszkowski J., Shilito R. D., Saul M., Mandak V., Hohn T., Hohn B., and Potrykus I. 1984. Direct gene transfer to plants. *EMBO J.* 3: 2717-2722.
- Pendrous R., "New Legislation...not waving, but drowning", *Food manufacture*, November 2003.
- Petit A., Delhaye S., Temple J. and Morel G. 1970. Recherches sur les quanidines des tissus de Crown Gall. Mise en evidence d'une relation biochimique specifique entre les souches d' *Agrobacterium tumefaciens* et les tumeurs qu'elles induisent. *Physiol. Veg.* 8: 205-213.
- PhysOrg website (2013) "Engineering algae to make complex anti-cancer 'designer' drug" Pipe SW (2008) Recombinant clotting factors. *Thromb. Haemost.* 99: 840–850. doi:10.1160/TH07-10-0593. PMID 18449413.
- Prescott VE, Campbell PM, Moore A, et al. Transgenic expression of bean α -amylase inhibitor in peas results in altered structure and immunogenicity. *J Agric Food Chem* 2005;53:9023–30.
- Quist D, Chapela JH. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 2001;414:541–3.
- Rosegrant MW, Paisner MS, Mejer S, Witcover J. 2020 Global Food Outlook Trends, Alternatives and Choices. A 2020 Vision for Food Agriculture and the Environment Initiative. Washington DC: IFPRI; 2001.
- Sanger F. 1977. Determination of nucleotide sequences in DNA. *Science* 214: 1205-1210.
- Sasaki Y, Hayakawa T, Inoue C, Miyazaki A, Silver S, Kusano T. Generation of mercury hyper-accumulating plants through GM expression of the bacterial mercury membrane transport protein MerC. *Transgenic Res* 2006;15:615–25
- Schiermeier Q., 1997. "Swiss researchers facing anti-transgenic vote", *Nature*, σελ. 315-338.
- Schmidt D., 2003. «Food Biotechnology. A communications guide to improving understanding» International food Information Couclin.

Schröder G., Waffenschmidt S., Weiler E. W., and Schröder J. 1984. The T-region of Ti plasmids codes for an enzyme synthesizing indole -3- acetic acid. *Eur. J. Biochem.* 138: 387-391.

Sears M., Hellmich R., Stanley-Horn D., Oberhauser K., Pleasants J., Mattila M., Siegfriedi B., and Dively G., (2001). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. Department of Environmental Biology, University of Guelph, Guelph, ON, Canada.

Shelton, A.M., Zhao, J.Z., and Roush, R.T. (2002). Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.* 47, pp.845-881.

Shou H, Bordallo P, Fan FB, et al. Expression of an active tobacco mitogen activated protein kinase kinase enhances freezing tolerance in GM maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:3298–303

Smith LC, El Obeid AE, Jensen HH. The geography and causes of food insecurity in developing countries. *Agriculture Economics* 2000;22:199–215.

Smith H.O and Wilcox K.W., 1970. A restriction enzyme from *Haemophilus influenza*. *Journal of Molecular Biology.* 51 379-391.

Sticklen M. Plant genetic engineering to improve biomass characteristics for biofuels. *Curr Opin Biotechnol* 2005;17:315–9.

Stilwell Matthew, Van Dyke Brennan, ‘‘An Activist’s Handbook On Genetically Modified Organisms and the WTO’’, Second Edition, July 1999.

Stachel S. E., Timmerman B., and Zamrsky P. 1986. Generation of single stranded T-DNA molecules during the initial stages of T-DNA transfer from *Agrobacterium tumefaciens* to plant cells. *Nature* 322: 706-712.

USDA, 2011. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. AGRICULTURAL STATISTICS 2011.

Uzogara S., (2000). The impact of genetic modification of human foods in the 21st century. *Biotechnology Advances*, 18:179-206.

Vinocur B, Altman A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Curr Op Biotech* 2005;16:123–32.

Wadman M., 1997. Journals joust over policy on authors' interests, *Nature* 386 (1997) (6626), p. 634.

Wadman, M.,1997a. Us farmers warm to bioengineered crops, *Nature* 387: 221.

Wadman, M.,1977B. Dispute over insect resistance to crops, *Nature* 388:817.

Winans S. C., Mantis N. J., Chen C.Y., Chang C. H., and Han D. C. 1994. Host recognition by the *VirA*, *VirG2*-component regulatory proteins of *Agrobacterium tumefaciens* Res. In *Microb.* 145 (5-6): 461-473.

Zambrsky P. C. 1992. Chronicles from the *Agrobacterium* plant cell DNA transfer story. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 465–490.

Zarrilli Simonetta, ‘‘ Intenational Trade in Genetically Modified Organisms and Multilateral Negotiations, A New Dilemma for Developing Countries’’, 5 July 2000.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βιδάλης Τ.Κ., Κ. Μανωλάκου, Γ. Μπαλιάς, 2004. «Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί και Βιώσιμη Ανάπτυξη» σελ. 76-78.

Γαλάνης Μ., 2003. «Γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί και γενετικά τροποποιημένα προϊόντα» Ε.Κ.Δ.Δ. Αθήνα.

Γιαννοπολίτης, Κ.Ν. 1999β. Γενετικά τροποποιημένα φυτά. ΙΙ. Ανάπτυξη και χρήση φυτών με ανθεκτικότητα σε έντομα. Γεωργία- Κτηνοτροφία 3: 21-24.

Ζηζιούλας, Ιωάννης 2001. Το πρόσωπο και οι γενετικές παρεμβάσεις. Τνδικτος 14: 63-66.

Κοϊός Ν. (2003). Ηθική θεώρηση των Τεχνικών Παρεμβάσεων στο Ανθρώπινο Γονιδίωμα , Αθήνα , εκδ. Σταμούλη

Κυριακίδης Σ., 2003. «Ιχθυλασιμότητα και επισήμανση ΓΤΟ» Ε.Κ.Δ.Δ., Αθήνα

Λουλακάκης Κ.Α., 1999. Βιοτεχνολογία. Εκδ. ΤΕΙ Κρήτης, Ηράκλειο

Μπατρίνου Μ., (2011). Σύγχρονη Βιοτεχνολογία Τροφίμων, Γενετικά τροποποιημένα Τρόφιμα. Αθήνα. Εκδόσεις Πασχαλίδης.

Ντονά ΑΑ·, Αρβανιτογιάννης, ΙΣ., «Γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα και οι επιπτώσεις τους στην υγεία». Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2009, 26(6):727-740.

Πανόπουλος Ν., 2003. «Βιοτεχνολογία στη Γεωργική παραγωγή» Ε.Κ.Δ.Δ., Αθήνα.

Στεφανίτση Δ., 2003. « Γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα και ζωοτροφές» Ε.Κ.Δ.Δ., Αθήνα.

Τσαυτάρης, ΑΘ. 1997. Γενετικά τροποποιημένα φυτά: Επιτεύγματα, προοπτικές, προβληματισμοί. Πρακτικά ημερίδας «Γεωργική Βιοτεχνολογία. Γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί. Νομικά, ηθικά και κοινωνικά ζητήματα» Αθήνα 20.12.1997, ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε., Αθήνα, σελ. 19- 20.

Τσαυτάρης, ΑΘ. 2001. Οι εξελίξεις στη βιοτεχνολογία και οι προοπτικές των εφαρμογών της. Τνδικτος 14: 174-176/178-180.

Χατζηλουκάς Ευστάθιος, 2012. Γενετική Μηχανική: Μέθοδοι και Βιοτεχνολογικές εφαρμογές της. Πανεπιστημιακές παραδόσεις και εργαστηριακές ασκήσεις. Σελ. 92, 98, 101, 123-126, 153-197.

Χατζόπουλος Πολυδεύκης, 2001. Βιοτεχνολογία φυτών. Εκδόσεις ΕΜΒΡΥΟ, Αθήνα

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ

<http://www.etcgroup.org/>

<https://www.mejorimagen.eu/agrobacterium-mediated-gene-transformation-in-plants-youtube.html>

<http://biotechwatch.gr>

<http://asopichos.gr>

<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/executivesummary/default.asp>.

<https://www.ypaithros.gr/apogohteyei-to-geneterika-tropoihmeno-xryso-rizi/>

<http://europa.eu.int.comm/food/food/biotechnology/publiccomments.en.htm>

<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/pptslides/Brief41Slides.pdf>

<http://Richardbrenneman.wordpress.com/2010/12/15/tracking-the-global-spread-of-gmcrops/>

<http://www.easybloom.com/plantlibrary/plant/corn-27>

<https://www.cepolina.com/gk/butterfly-monarch.htm>

Ελληνική Γεωργία, 2015. <https://www.ellinikigeorgia.gr/ellada-stathera-uper-tis-apagoreusis-kalliergeias-gmo/>

<https://grdc.com.au/resources-and-publications/groundcover/ground-cover-issue-55/global-gm-crop-area-keeps-growing>

http://www.isaaa.org/Resources/isaaa_press/press_main.htm

<https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/35/executivesummary/default.html>

<https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/37/executivesummary/default.html>

International Rice Research Institute “About Golden Rice”. (<https://business.inquirer.net/235924/field-trial-golden-rice-readied#ixzz4s0E5sGtI>)

<http://rogerpielkejr.blogspot.com/2011/02/biotech-crops-here-to-stay.html>

<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/51/>

<http://isaaablog.blogspot.com/2017/05/biotechgm-crops-surge-to-new-peak-of.html>

<http://www.isaaa.org/purchasepublications/itemdescription.asp?ItemType=BRIEFS&Control=IB052-2016>

<https://geneticliteracyproject.org/2018/02/06/consumer-friendly-gmo-foods-change-minds-biotech-crops-animals/>

<https://allianceforscience.cornell.edu/blog/2017/05/biotech-gmo-crop-cultivation-hits-new-peak/>

<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/53/executivesummary/default.asp>

<http://www.biotech-now.org/food-and-agriculture/2017/05/our-worlds-farmers-favor-biotech-crops>

<http://www.citethisforme.com/topic-ideas/life-sciences/GMO%20crops%20in%20south%20africa-20521341>

<http://www.arc2020.eu/what-the-industry-does-not-tell-us-about-gm-crops-new-foe-report-who-benefits-from-genetically-modified-crops-report/>

Genetic Literacy Project: <https://geneticliteracyproject.org/source/genetic-literacy-project/>

<https://www.quora.com/How-are-transgenic-plasmids-produced-using-Agrobacterium-tumefaciens>

https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Agrobacterium/Alyssa_Collins_profile.htm

<http://www.bios.net/daisy/AgroTran/g1/850.html>

https://www.researchgate.net/figure/Genetic-map-of-octopine-type-Ti-plasmid-Modified-from-Ream-2002-and-Oezean-et-al-2004_fig5_259477921