

HENRYK MALINOWSKI

Organizmy genetycznie zmodyfikowane w ochronie roślin przed owadami i możliwości ich wykorzystania w ochronie lasu*

Organisms modified genetically in plant protection against insects
and the possibility of their use in forest protection

Abstract. The paper reviews the basal knowledge on the genetically modified organisms such as bacteria, baculoviruses, entomopathogenic fungi, entomopathogenic nematodes, predatory mites, transgenic plants with enhanced resistance to insects and their use in plant protection against insects with a special reference to forest protection.

Key words: genetic engineering, genetically modified organisms, plant protection, trees resistance, forest protection

Wstęp

Zrównoważona gospodarka leśna wymaga nowego podejścia do ochrony lasu przed owadami i innymi czynnikami szkodliwymi. Las postrzega się bowiem jako biogeocenozę złożoną z ekosystemów, a nie jako zespół drzewostanów. W tym kontekście stosowanie proekologicznej, integrowanej metody, czy systemu kontroli owadów szkodliwych nabiera szczególnego znaczenia.

Rozwinięciem koncepcji integrowania metod ochrony roślin jest sterowanie populacjami szkodliwych organizmów za pomocą wszystkich dostępnych sposobów i metod w celu utrzymania ich liczebności na poziomie nie powodującym strat gospodarczych. Zagadnienia te były również przedstawiane w opracowaniu dotyczącym ograniczania liczebności owadów żerujących na korzeniach w szkółkach i uprawach leśnych (18). Należy podkreślić, że sterowanie populacjami szkodliwych organizmów ma na celu nie tyle unicestwienie, co niedopuszczenie do ich nadmiernego rozmnożenia. Przeniesiony jest więc punkt cięż-

* Referat wygłoszony na XXVII Sympozjum Sekcji Entomologii Leśnej PTE i Komisji Ochrony Zasobów Leśnych PTL, które odbyło się w Spale 25-28 września 2000 r.

kości z procesu niszczenia na procesy sterowania liczebnością populacji szkodliwych organizmów. Osiąga się to przez modyfikację środowiska w kierunku zmian niekorzystnych dla sprawców uszkodzeń (w tym przypadku szkodliwych owadów), a korzystnych dla ich wrogów naturalnych (patogenów, pasożytów, drapieżców). Poza tym wykorzystuje się wszystkie możliwe metody, w tym przyjazne dla środowiska insektycydy biologiczne, czyli środki kontroli owadów oparte na żywych organizmach – wrogach naturalnych szkodników, botaniczne – wytwarzane przez rośliny oraz chemiczne (regulatory wzrostu i rozwoju – analogi hormonów juwenilnych, inhibitory syntezy chityny) i inne, w tym feromony, kairomony, antyfidanty.

Ponieważ ekologiczny model gospodarki, w tym gospodarki leśnej, będzie obowiązywał w XXI wieku, a zasady integrowanej ochrony roślin zapewniają bardziej zrównoważony jej rozwój, wydaje się celowe przedstawienie w niniejszej pracy możliwości wykorzystania w ochronie roślin przed owadami, z uwzględnieniem ochrony lasu, zmodyfikowanych genetycznie organizmów – wrogów naturalnych szkodliwych owadów oraz roślin transgenicznych odpornych na owady. Wymienione metody kontroli owadów są szczególnie preferowane w integrowanych systemach ochrony roślin. Wprowadzając w te zagadnienia najpierw będą omówione podstawowe pojęcia dotyczące genetycznie zmodyfikowanych organizmów, a następnie – możliwości zastosowania genetycznie ulepszonych bioinsektycydów zawierających toksyny *Bacillus thuringiensis*, bakulowirusy, a także genetycznie ulepszonych entomofagów – pasożytów i drapieżców szkodników. Na końcu zostaną omówione możliwości zastosowania roślin transgenicznych odpornych na owady.

Organizmy genetycznie zmodyfikowane – podstawowe pojęcia

Organizmy genetycznie zmodyfikowane, lub ulepszone, w wyniku wprowadzenia do nich odpowiedniego genu lub genów odpowiedzialnych np. za wysokie plony lub inne cechy użytkowe, odporność na szkodniki, czy herbicydy w przypadku roślin zielnych i drzewiastych itp. nazywane również transgenicznymi, powstają na drodze inżynierii genetycznej. Genetycznie modyfikowany organizm jest definiowany jako taki, w którym genom został zmieniony (zmodyfikowany) z zastosowaniem technik rekombinowanego DNA (kwasu dezoksyrybonukleinowego) (28). Organizm, np. roślina zawierająca zmodyfikowany genom jest określana jako roślina transgeniczna.

Wymienione pojęcia mogą budzić różnorodne obawy. Wynika to jednak z nieświadomości takich pojęć, jak gen, genom, DNA, RNA (kwas rybonukleinowy) oraz stosowanych technik badawczych. Tutaj należy przypomnieć, że wszystkie organizmy żywe mają właściwe dla siebie genomy, czyli zespoły chromosomów składające się przeważnie z dużej liczby genów, które są fragmentami DNA zbudowanymi z różnie ułożonych czterech par nukleotydów (11). Liczba genów dla większości organizmów nie została poznana, natomiast dla wielu określono liczbę par nukleotydów, które charakteryzują dany organizm.

Od zarania dziejów hodowcy ulepszali gatunki roślin i zwierząt w kierunku pożądanym dla człowieka, lecz robili to na podstawie cech morfologicznych. Łączili rośliny lub zwierzęta w celu otrzymania pokolenia potomnego, które będzie miało te cechy wyraźniej zaznaczone i będzie zdolne do przekazania je następcom. Dzięki odpowiedniej selekcji i krzyżowaniu uzyskiwano w kolejnych generacjach wzmocnienie i stabilizację wybranych cech. Proces

ten trwał zawsze bardzo długo i obejmował wiele generacji. Zwłaszcza w przypadku drzew leśnych jest to proces niezwykle długotrwały. W leśnictwie nie jest np. możliwa selekcja drzew na odporność na szkodliwe owady według zasad stosowanych w hodowli roślin rolniczych. Jest możliwe natomiast stosowanie tzw. selekcji pośredniej, która polega na wykorzystaniu specyficznych drugorzędnych cech, takich jak obecność niektórych monoterpenu czy diterpenowych kwasów żywicznych jako biochemicznych wskaźników skorelowanych z odpornością drzew leśnych na niektóre owady (5, 9). Wykazano np. (6), że beta-fellandren, 3-karen i kamfen występujące w sośnie *Pinus nigra* mogą być powiązane z biochemicznym mechanizmem odporności na zwójkę *Rhyacionia buoliana* i mogą stanowić podstawę selekcji pośredniej. Jednakże ze względu na specyficzność ekosystemów leśnych, a zwłaszcza długowieczność drzew i genetycznej plastyczności owadów, wyhodowanie tą metodą drzew odpornych na owady wydaje się mało realne.

Stosując nakreśloną tutaj technikę hodowli roślin rolniczych otrzymano m. in. szlachetne odmiany drzew owocowych, czy wysokopienne odmiany roślin uprawnych. Wykonywano również krzyżówki międzygatunkowe, które zakończyły się sukcesem, jak wyhodowanie osłomułów, żubroni, pszenżyta itp. Wszyscy to znamy, akceptujemy i wykorzystujemy w życiu codziennym nie zdając sobie sprawy, że te nowe, ulepszone formy roślin i zwierząt powstały w wyniku manipulacji genetycznych. Zmiany w genomach polegające na dokonywanych – na przestrzeni długiego okresu – mutacjach genowych oraz selekcja i procesy hodowlane doprowadziły do wymienionych sukcesów. Cechą charakterystyczną tych procesów było stosowanie technik mendlowskich, polegających na krzyżowaniu i selekcji oraz uzyskiwanie efektu końcowego po długim czasie.

Inżynieria genetyczna, jako nowa metoda hodowli, daje ogromne przyspieszenie w osiągnięciu końcowych efektów. Genetycy i biolodzy molekularni robią dokładnie to samo, co hodowcy od wielu pokoleń: starają się uzyskać rośliny, czy zwierzęta o pożądanych dla człowieka cechach, np. rośliny odporne na szkodniki i choroby, czy entomopatogenne organizmy o zwiększonej aktywności owadobójczej. Osiągnięcia inżynierii genetycznej i biologii molekularnej pozwalają obecnie na identyfikację cech i właściwości organizmu na poziomie molekularnym, a nie tylko na poziomie cech morfologicznych. Oznacza to, że obecnie można identyfikować gen lub geny odpowiedzialne za różne cechy organizmu, jak odporność na szkodniki, szybkość wzrostu itp. Konkretny gen, jak gen odpowiedzialny za syntezę toksycznego dla owadów białka może być wydzielony, a następnie przeniesiony do innego organizmu roślinnego lub zwierzęcego, w którym będzie pełnił tę samą funkcję.

Stosowanie inżynierii genetycznej powoduje, że pożądany efekt uzyskuje się wielokrotnie szybciej, w ciągu zaledwie kilku lat. Jeśli zastanowimy się nad tym, co powiedziano, to fakt przenoszenia genów – fragmentów DNA z jednego organizmu do drugiego oraz takie pojęcia, jak zmodyfikowane genetycznie organizmy, czy transgeniczne rośliny (uzyskane w ciągu ostatniej dekady), nie wydają się groźne. Można powiedzieć, że inżynieria genetyczna dokonała swego rodzaju rewolucji w uzyskiwaniu ulepszonych gatunków roślin i zwierząt. W polskim piśmiennictwie niektóre możliwości inżynierii genetycznej w ochronie roślin zostały opisane (15, 22).

Organizmy genetycznie ulepszone – wrogowie naturalni szkodliwych owadów

Bioinsektycydy oparte na bakterii *Bacillus thuringiensis*

Spośród insektycydów biologicznych, największe zastosowanie w ochronie roślin przed owadami znalazły biopreparaty oparte na bakterii *Bacillus thuringiensis*. Stanowią one około 80% wszystkich znajdujących się na rynku światowym bioinsektycydów (20). W ciągu ostatniego ćwierćwiecza nastąpił wyraźny postęp w stosowaniu tych biopestycydów, zwłaszcza w ochronie lasu, gdzie zużywa się 60-70% światowej produkcji (32). Przewiduje się znaczący wzrost udziału tych środków na rynku światowym (16). Wynika to m.in. z wykrycia metodami tradycyjnymi wielu nowych szczepów *B. thuringiensis*, aktywnych wobec gatunków owadów i innych szkodliwych organizmów, które nie były dotychczas kontrolowane za ich pomocą. W ostatnich latach w USA i Japonii wykryto wiele nowych szczepów aktywnych wobec gatunków owadów z rzędów: *Hymenoptera*, *Orthoptera*, *Coleoptera*, a także nicieni pasożytujących na roślinach i zwierzętach, patogenicznych pierwotniaków i roztoczy (7).

Ważną cechą ograniczającą stosowanie bioinsektycydów *B. thuringiensis* jest wąski zakres ich działania. Ulepsza się więc stosowane obecnie szczepy rozszerzając zakres ich działania, czyli zakres gospodarzy, dla których są one toksyczne przez wprowadzanie do nich nowych, dodatkowych toksyn białkowych o innej specyfice działania. Osiąga się to przez koniugację plazmidów z innymi szczepami lub bezpośrednią transformację genów toksyn białkowych, klonowanych w replikonie (12). Stosując wymienione nierekombinacyjne techniki wytworzono nie istniejące w przyrodzie szczepy *B. thuringiensis*, kodujące toksyny białkowe, które są aktywne wobec różnych gatunków owadów. W ten sposób powstały niektóre bioinsektycydy stosowane w praktyce, takie jak Condor – zawierający toksycznie działające toksyny białkowe wobec wyłogówki *Choristoneura fumiferana* i brudnicy nieparki, Ecotech będący transkoniugantem *B. thuringiensis aizawai* x *B. thuringiensis kurstaki* i Foil – aktywny wobec gąsienic motyli i larw chrząszczy. Wymienione bioinsektycydy, chociaż ulepszone, nie są – według podanej wcześniej definicji – zmodyfikowane genetycznie, gdyż zostały wytworzone technikami nierekombinacyjnymi. W Polsce są zarejestrowane dwa biopreparaty z tej grupy o nazwie Ecotech, różniące się koncentracją toksyn białkowych.

Wykorzystując technologię rekombinacji DNA z zastosowaniem tzw. systemu kapsułkowania (Cell cap) opracowano i wprowadzono na rynek bioinsektycydy o większej trwałości działania (8). Na rynku znajdują się trzy biopreparaty tego typu: M – TRAK – przeciwko larwom chrząszczy, MVP – przeciwko gąsienicom motyli i M – PERIL – przeciwko omacnicy prosowiance, a wiele innych jest w fazie opracowywania. Nie jest wykluczone, że w niedalekiej przyszłości zostanie opracowany bioinsektycyd o zwiększonej trwałości działania do ochrony lasu przed owadami.

Bakulowirusy

Bakulowirusy są naturalnymi patogenami różnych gatunków szkodliwych owadów, zwłaszcza z rzędów *Lepidoptera* i *Hymenoptera* i są wykorzystywane w niektórych krajach jako bezpieczne dla środowiska bioinsektycydy. Odznaczają się bowiem wysoką selektywno-

ścią działania nie niszcząc gatunków pożytecznych. Niedostatecznie są poznane molekularne mechanizmy selektywnego działania bakulowirusów. Prawdopodobnie wynika ono z obecności lub braku odpowiednich receptorów umożliwiających wniknięcie wirusa do wnętrza komórki gospodarza; ponadto w komórce gospodarza może nie być czynników umożliwiających rozpoczęcie procesu transkrypcji wirusowego DNA przy wykorzystaniu aparatu syntetycznego komórki gospodarza (21). Wirusy jądrowej poliedrozy i granulozy były wykorzystywane w dziesięciu państwach europejskich do kontroli liczebności trzynastu gatunków szkodliwych owadów (26). Są one również stosowane w USA i Kanadzie. Bakulowirusy były stosowane m.in. do ograniczania liczebności borecznika rudego (biopreparat o nazwie Monisarmiovirus – Finlandia, Virox – Wielka Brytania), brudnicy nieparki (biopreparat o nazwie Gypchek – USA, Disparvirus – Kanada, Virin-Ensh – Wspólnota Niepodległych Państw).

Główną wadą bakulowirusów jako preparatów owadobójczych jest ich powolne działanie na owady; zwykle od momentu zainfekowania do śmierci owada potrzebny jest okres kilku do kilkunastu dni. Próbowano przyspieszać działanie bakulowirusów wprowadzając do ich genomu geny odpowiedzialne za produkcję hormonów lub enzymów, neuropeptydów albo selektywnie działających toksyn owadów i innych organizmów. Geny te, wbudowane do bakulowirusów metodami inżynierii genetycznej, są przez nich wprowadzane przez układ pokarmowy do tkanek owada. Następnie ulegają ekspresji w komórkach zainfekowanego szkodnika produkując w nich peptydowe toksyny, neurohormony lub hamujące rozwój owada enzymy (26). W ten sposób można uzyskać znaczne przyspieszenie działania tych bioinsektycydów.

Wprowadzenie obcych genów do genomu bakulowirusów budzi jednak zastrzeżenia związane z możliwością skonstruowania rekombinanta, który wprowadzony do środowiska może okazać się niebezpieczny i trudny do wyeliminowania (30, 21). Usuwa się więc bakulowirusom geny, których produkty nie są konieczne dla ich rozwoju. Chodzi tu głównie o gen poliedryny, z promotorem wykorzystywanym do syntezy produktów obcych genów, wprowadzanych metodami inżynierii genetycznej do genomu bakulowirusa. Taka postać wirusa bezotoczkowego jest mniej trwała, a przez to bardziej bezpieczna dla środowiska (21).

Entomopatogenne grzyby i nicienie

W ochronie roślin przed owadami, w tym w ochronie lasu, w niektórych krajach stosuje się entomopatogenne grzyby i nicienie. Podobnie jak przy innych czynnikach biologicznej kontroli owadów, nie zawsze uzyskuje się zadowalające efekty. Jest to związane w dużej mierze z uzależnieniem aktywności żywych organizmów od czynników atmosferycznych i ich zmienności. Te organizmy próbuje się ulepszać metodami inżynierii genetycznej w kierunku zwiększania ich aktywności owadobójczej i skrócenia czasu od momentu infekcji do redukcji szkodnika. W przypadku entomopatogennych grzybów badania prowadzi się również w celu uzyskania biotypów odpornych na fungicydy, które mogą być równocześnie stosowane do ograniczania chorób powodowanych przez grzyby. W tym zakresie uzyskano już pozytywne efekty. Udało się otrzymać biotyp grzyba owadobójczego *Metarhizum anisopliae* odpornego na benopmyl (3, 4), który stanowi składnik biologicznie aktywny wielu stosowanych obecnie fungicydów.

Prowadzi się również badania, m.in. w Polsce, nad genetycznym modyfikowaniem nicieni entomofilnych znajdujących zastosowanie w integrowanych programach ograniczania liczebności populacji owadów żyjących w glebie. Chociaż uzyskano obiecujące wyniki (27), to obecnie praktyczne ich wykorzystanie nie jest jeszcze możliwe.

Entomofagi

Obecnie wiele gatunków owadów i roztoczy, zwłaszcza w uprawach szklarniowych i pod folią, może być ograniczane za pomocą pasożytów i drapieżców. Najwięcej gatunków owadów, które są pasożytami szkodników można znaleźć w rzędach *Hymenoptera* i *Diptera*. Jako przykład można podać szeroko wykorzystywaną w praktycznym stosowaniu błonkówkę *Encarsia formosa* Gah. do ograniczania mszyc i mączlików. Szerokie zastosowanie do ograniczania populacji przędziorków mają drapieżne roztocze z rodziny dobroczynkowatych (*Acari: Phytoseiidae*). Podejmuje się próby ulepszania tych entomofagów z zastosowaniem inżynierii genetycznej. Chodzi tu zwłaszcza o to, by te entomofagi mogły być stosowane w systemie integrowanej metody, np. jako uzupełnienie zalecanych insektycydów. W związku z tym powinny one być odporne na środki chemiczne.

W ostatnich latach odnotowano pewne sukcesy w uzyskiwaniu transgenicznych entomofagów. W badaniach wykonywanych na Florydzie (13) otrzymano transgenicznego dobroczynka – drapieżnego roztocza *Metaseiulus occidentalis*, odpornego na insektycydy fosforoorganiczne. W 1996 roku otrzymano z Departamentu USA zezwolenie na rozprzestrzenianie tego drapieżcy do ograniczania liczebności przędziorków (31). Dalsze prace nad genetycznym ulepszaniem dobroczynkowatych – drapieżców przędziorków i szpecieli są w toku; mają one na celu uzyskanie (4):

- Phytoseiulus persimilis* – odpornego na insektycydy fosforoorganiczne oraz charakteryzującego się zwiększoną płodnością i tolerancją na temperaturę,
- Amblyseius fallacis* – odpornego jednocześnie na insektycydy z grupy pyretroidów, karbaminianów i fosforoorganicznych oraz
- Metaseiulus occidentalis* – biotypu nie diapauzującego.

Genetycznie zmodyfikowane, w wymienionym zakresie, entomofagi uwalniane w terenie niewątpliwie przyczynią się do znacznego wyeliminowania środków chemicznych. Oczywiście wymienione drapieżne roztocze mogą być uwalniane w lasach, o ile będzie zachodziła taka potrzeba.

Rośliny transgeniczne odporne na owady

Nowym, dynamicznie rozwijającym się, kierunkiem kontroli owadów jest wprowadzenie do uprawy roślin transgenicznych odpornych na owady. Roślinom tym, technikami inżynierii genetycznej, wprowadza się geny odpowiedzialne za produkcję owadobójczych toksyn białkowych, pochodzące od bakterii *Bacillus thuringiensis*. Transgeniczne rośliny wytwarzając owadobójcze białko wewnątrz własnych komórek nie wymagają ochrony przed owadami. Osiągnięcia inżynierii genetycznej pozwalają na wyhodowanie odmian roślin, mających jeden lub kilka genów odporności na jeden lub kilka gatunków owadów, należących do tego samego lub różnych rzędów, np. motyli i chrząszczy.

Geny owadobójczych toksyn białkowych *Bacillus thuringiensis* zostały wprowadzone do najważniejszych z gospodarczego punktu widzenia roślin uprawnych (ziemniak, soja, kukurydza, bawełna i in.), w tym również do roślin drzewiastych (np. topola). Zagadnienia te były referowane na II Konferencji Leśnej (19). Obserwuje się szybki wzrost powierzchni uprawy roślin transgenicznych, do których wprowadzono geny odpowiedzialne za odporność na owady, tolerancję na herbicydy, odporność na wirusy, jednoczesną odporność na owady i tolerancję na herbicydy oraz korzystne cechy użytkowe. W 1997 roku wynosiła ona 2,8 mln ha, w 1997 roku – 12,8 mln ha, a w 1998 roku już 30,5 mln ha (1). Ocenia się, że największy obszar uprawy zajmują rośliny odporne na herbicydy, na drugim miejscu są rośliny odporne na owady. W 1998 roku powierzchnia uprawy roślin transgenicznych w poszczególnych krajach była następująca: USA – 24 792 tys. ha, Argentyna – 4025 tys. ha, Kanada – 1460 tys. ha, Australia i Południowa Afryka – 92 tys. ha, Chiny – 52 tys. ha, Meksyk – 51 tys. ha, Hiszpania – 22 tys. ha, Francja – 2 tys. ha, Niemcy i inne kraje – 1 tys. ha (1).

Transgeniczne rośliny odporne na owady oraz mające korzystne cechy użytkowe są wykorzystywane głównie w rolnictwie. Główną wadą roślin transgenicznych kodujących toksyny białkowe przeciw owadom jest to, że owady wykształcają odporność na te toksyny w wyniku permanentnej presji selekcyjnej (2, 10, 24). Mimo to uważa się, że technologia ta jest technologią przyszłości, przynajmniej w odniesieniu do roślin rolniczych. Nie przewiduje się natomiast wprowadzania genów odporności na owady do typowych ekosystemów leśnych, obejmujących zazwyczaj duże powierzchnie (24). Chociaż docierają do nas informacje, że takie badania są prowadzone. W USA prowadzi się badania nad wyhodowaniem sosny zwyczajnej odpornej na brudnicę nieparkę – najgroźniejszego szkodnika tamtejszych lasów, w Chile realizuje się projekt kanadyjsko-francusko-chilijski mający na celu wyhodowanie drzew odpornych na zwójkę sosnoweczkę, która zagraża miejscowym lasom.

Ze względu na długowieczność drzew i złożoność ekosystemów leśnych, efekt wprowadzenia do drzew genów odporności na szkodniki – poza wytworzeniem się odpornych populacji owadów – jest trudny do przewidzenia i zbadania. Chodzi tu m.in. o możliwość niekontrolowanego przeniesienia genów odporności na inne gatunki roślin, w tym np. na chwasty i wyniszczenia gatunków owadów, które odgrywają istotną rolę w łańcuchu pokarmowym. Chcąc wprowadzić geny odporności na owady do drzew leśnych należałoby przebadać możliwe wszystkie zagrożenia, co praktycznie nie jest możliwe i w związku z tym ryzyko jest zbyt duże.

Uważa się (23, 34), że wprowadzenie genów odporności na szkodniki do roślin drzewiastych może być celowe i obciążone mniejszym ryzykiem w następujących przypadkach:

- w plantacyjnej uprawie drzew szybko rosnących,
- w uprawie drzew i krzewów ozdobnych,
- w ochronie upraw przed szkodnikami żerującymi na korzeniach,
- w plantacjach nasiennych.

W plantacyjnej uprawie drzew szybko rosnących, jak np. topole (*Populus*), wierzby (*Salix*), wyselekcjonowane klony hoduje się na ograniczonych powierzchniach, a cykl uprawy jest

krótki i trwa około 10 lat. Odporne na szkodniki plantacje tych drzew nie wymagają stosowania zabiegów ochronnych, a ich produktywność może się istotnie zwiększyć. Topola była pierwszym gatunkiem roślin drzewiastych, który otrzymał geny owadobójcze toksyn białkowych *B. thuringiensis* – Cry 1A(a) przeciwko liściożernym gąsienicom motyli (17). Doświadczalna uprawa klonów topoli zawierających inne geny *B. thuringiensis* – Cry 1A(c) także działające na gąsienice motyli dała dobre wyniki w siedmiu prowincjach w Chinach (29). Opracowano również transgeniczne rośliny topoli kodujące toksyny białkowe Cry 3A, które działają na larwy stonkowatych, np. stonkę *Chrysomela scripta* – groźnego szkodnika plantacji topolowych na kontynencie amerykańskim (2).

Wprowadzenie genów odporności na szkodniki do drzew ozdobnych może być uzasadnione tym, że występują one na ogół na niewielkich powierzchniach i często są atakowane przez owady, a tradycyjna ochrona jest pracochłonna i kosztowna, a nie zawsze daje pożądane wyniki. W efekcie rośliny ozdobne mają różne defekty i nie spełniają swej funkcji. Hodowla transgenicznych drzew ozdobnych nie budzi większych zastrzeżeń i jest realizowana na niedużą skalę.

Nie ma obecnie skutecznych i w pełni akceptowanych metod niechemicznych przeciwko owadom żerującym na korzeniach żywych drzew. Jak podaje Raffa (1989) w USA do ograniczania szkodników glebowych stosowano jeszcze niekiedy lindan, chociaż insektycyd ten jest od dawna wyłączony z innych zastosowań. Z tego punktu widzenia wprowadzenie do drzew genów odporności na szkodniki korzeni byłoby pożądane. Takie rozwiązanie byłoby korzystne zarówno dla drzew jak i środowiska, gdyż nie powodowałoby wytworzenia odpornych populacji owadów, o ile toksyczne dla owadów białko byłoby produkowane tylko w określonym czasie (10, 23, 24), np. w okresie największego zagrożenia upraw. Badania takie są prowadzone, jednakże pojawiają się doniesienia, że toksyczne białko jest wydzielane z korzeni do gleby, z którą silnie się wiąże zachowując toksyczność dla owadów przez zbyt długi czas (25).

Celowe byłoby również wprowadzenie genów odporności na szkodniki nasion i szyszek do plantacji nasiennych drzew leśnych, gdyż nie ma obecnie przeciwko nim skutecznych technik ochronnych. Plantacje nasienne obejmują zwykle ograniczone obszary, a więc ryzyko nie jest duże. Podobnie, jak przy szkodnikach korzeni, produkcja toksycznego dla owadów białka powinna być ograniczona w czasie do okresów niezbędnych dla efektywnej ochrony nasion czy szyszek.

We wszystkich przypadkach wprowadzania genów odporności na owady do drzew leśnych proponuje się pozostawienie części drzew nietransgenicznych, co ma na celu przeciwdziałanie odporności, gdyż chroni wrażliwe genotypy owadów mogące żerować na drzewach nie produkujących toksycznego dla nich białka. Ekspresja toksycznego dla owadów białka powinna być ograniczona do poszczególnych części czy tkanek drzewa (np. korzeni, szyszek, nasion) i mieć miejsce w ograniczonym czasie – tylko wtedy, gdy szkodniki żerują. Byłoby korzystnie, gdyby ekspresja toksycznego białka była indukowana przez pojawiające się szkodniki, a zanikała, gdy okres żerowania minie. Biorąc pod uwagę postępy w rozwoju inżynierii genetycznej, takie rozwiązania są możliwe.

Występujące w przyrodzie zależności drzewa – owady dostarczają przykładów, które wskazują w jaki sposób można zachować stabilność drzewostanów. Otóż kwasy żywiczne

pojawiają się w odpowiednim czasie w młodych igłach sosen, natomiast zanikają w starszych. W ten sposób młode tkanki mogące wydajniej realizować fotosyntezę są chronione, a starsze mniej wydajne mogą być zjadane przez owady (14). Wiele roślin ogranicza podobnie ekspresję mechanizmów obronnych przeciwko owadom do krytycznego okresu sezonu wegetacyjnego, określonego wieku, bądź mechanizmy te są indukowane żerowaniem owadów. Potencjalny, negatywny efekt genetycznie ulepszonych drzew, których wszystkie organy produkują toksyczne dla owadów białko w ciągu całego życia, jest nieporównanie większy niż tylko w pewnym czasie przez określone organy.

Ogólnie biorąc, ryzyko jest większe przy wprowadzaniu genów odporności na szkodniki do drzew na dużych powierzchniach leśnych niż na małych, takich jak plantacje drzew szybko rosnących, plantacje nasienne czy drzew ozdobnych. W każdym przypadku należy brać pod uwagę możliwość powstania odporności u owadów oraz zaplanować odpowiednie metody przeciwdziałania temu zjawisku, m. in. przez pozostawienie części drzew nietransgenicznych.

*Zakład Ochrony Lasu
Instytut Badawczy Leśnictwa
Sękocin Las, 05-550 Raszyn*

Literatura

1. **Adamczewski K., Praczyk T., Bubniewicz P., Pietryga J.** 1999. Rośliny transgeniczne odporne na herbicydy. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, v. 39 (1), 231-237.
2. **Bauer L. S.** 1997. Fiber farming with insecticidal trees. *J. For.* 95(3), 20-23.
3. **Bernier L., Cooper R. M., Charnley A. K., Clarkson J. M.** 1989. Transformation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* to benomyl resistance. *FEMS Microbiology letters*, 60, 261-266.
4. **Boczek J.** 1997. Wykorzystanie inżynierii genetycznej dla zwalczania szkodników. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, v. 37(1), 281-285.
5. **Bridgen M. R., Hanover J. W.** 1982. Indirect selection for pest resistance using terpenoid compounds. W: *Resistance to diseases and pests in forest trees* (H. M. Heybroek, B. R. Stephan, K. Von Weissenberg eds), Wageningen, Netherlands, Pudoc.
6. **Charles P.J., Delphangue A., Marpen A., Bernard-Dagan C., Arbez M.** 1982. Susceptibility of European black pine (*Pinus nigra*) to the European pine shoot moth (*Rhyacionia buoliana*): variation of susceptibility at the provenance and individual level of the pine and effect of terpene composition. W: *Resistance to diseases and pests in forest trees* (H. M. Heybroek, B. R. Stephan, K von Weissenberg eds), Wageningen, Netherlands, Pudoc.
7. **Feitelson J. S.** 1994(a): Novel pesticidal delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*. *Proc. XXVII Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Montpellier, France, 23 Aug.-2 Sept. 1994*, v. 1, 184.

8. **Feitelson J. S.** 1994(b): The cellcap delivery system: genetically engineered Bt-based bioinsecticides. Proc. XXVII Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Montpellier, France, 23 Aug.-2 Sept. 1994, v. 1, 249-250.
9. **Głowacka B., Cichońska A.** 1990. Odporność drzew leśnych na owady liściożerne. Kosmos, 39(4); 3373-388.
10. **Gould F.** 1988. Evolutionary biology and genetically engineered crops. BioScience 38, 26-33.
11. **Haert D. L.** 1995. Essential Genetics. Harvard University, Jones and Bartlett Publishers International.
12. **Heierson A., Landen R., Lovgren A., Dalhammar G., Bowman H. G.** 1987. Transformation of vegetative cells of *Bacillus thuringiensis* by plasmid DNA. J. Bacteriol., 169: 1147-1152.
13. **Hoy M. A.** 1996. Population genetics and dynamics of transgenic arthropod natural enemies: an overview of potential risk and logistical issues. Proc. XX Intern. Congress of Entomol., Firenze (Italy), 291.
14. **Ikeda T., Matsumura F., Beenjamin D. M.** 1977. Chemical basis for feeding adaptation of pine sawflies, *Neodiprion rugifrons* and *Neodiprion swainei*. Science, 197, 497-499.
15. **Lipa J. J., Nawrot J.** 1994. Biotechnologie w nowoczesnej ochronie roślin. Materiały XXXIV Sesji Nauk. Inst. Ochr. Roślin, Cz.I: 18-25.
16. **Lisansky S. G., Coombs J.** 1994: Development in the market for biopesticides. Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases, 3 (8D-1): 1049-1054.
17. **Mc Cown B. H., Mc Cabe D. E., Roussell D. R., Barton K. W., Raffa K. F.** 1991. Stable transformation of populus and incorporation of pest resistance by electric discharge particle acceleration. Plant Cell Reports, 9, 590-594.
18. **Malinowski H.** 1997. Możliwości stosowania integrowanych metod w ochronie lasu na przykładzie ochrony szkółek i upraw leśnych przed szkodnikami korzeni. Sylwan Nr 12, 85-94.
19. **Malinowski H., Gawroński S. W.** 2000. Możliwości wykorzystania biotechnologii w ochronie lasu. W: Stan i perspektywy badań z zakresu ochrony lasu (Monografia pod red. H. Malinowskiego), Inst. Bad. Leśn, Warszawa, 31-36.
20. **Marrone P. G., MacIntosh S. C.** 1993. Resistance to *Bacillus thuringiensis*. An environmental biopesticide: theory and practice (Ph.F. Entwistle, J.S. Cory, M.J. Bailey, S. Higgs eds), John Wiley and sons, Chichester, 221- 235.
21. **Michalik J., Ziemnicka J.** 1997. Bakulowirusy i ich rekombinanty jako naturalne pestycydy. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin, vol. 37 (1), 311-316.

22. **Nawrot J., Lipa J. J.** 1993. Priorytetowa dla Polski problematyka z zakresu biotechnologii w zastosowaniu do ochrony roślin. Materiały I Ogólnopolskiej Konferencji Biotechnologii Roślin i Przetwórstwa Żywności, Warszawa 27-28 X 1993, 105-108.
23. **Raffa K. F.** 1987. Devising pest management tactics based on plant defense mechanisms – theoretical and practical considerations. W: *Molecular Mechanism in Insect-Plant Interaction* (S. Ahmad, L. B. Brattsrén eds), Plenum Press, New York, 303-329.
24. **Raffa K. F.** 1989. Genetic engineering of trees to enhance resistance to insects. Evaluating the risks of biotype evolution and secondary pest outbreak. *BioScience* vol. 38(8), 524-534.
25. **Saxena D., Florest S., Stotzky G.** 1999. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature*. Vol. 402, 480.
26. **Sobótka W., Michalik J., Ziemnicka J., Konopińska D.** 1994. Proekologiczne insektycydy przyszłości. Materiały XXIV Sesji Naukowej Instytutu Ochrony Roślin, Cz. I, 26-36.
27. **Tomalak M.** 1998. Selekcja i mutageneza w genetycznym doskonaleniu nicieni owadobójczych dla celów biologicznego zwalczania szkodników. Rozprawa habilitacyjna. Prace Naukowe Inst. Ochr. Rośl. w Poznaniu, Poznań, 94 pp.
28. **Twardowski T.** 1997. Rośliny transgeniczne a legislacja i biobezpieczeństwo. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, v. 37 (1): 271-280.
29. **Wang G., Castiglione S., Chen Y., Li L., Han Y., Mand K., Scala F.** 1996. Poplar (*Populus nigra*) plants transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin gene: insecticidal activity of genomic analysis. *Transgenic Research*, 5, 289-301.
30. **Wood H. A., Hughes P. R., Shelton A.** 1994. Genetically engineered baculovirus. *J. Environ. Entomol.* 23, 211-219.
31. **Wysocki M.** 1996. Problems and trends in agricultural entomology at the end of the 2nd millenium. *Proc. XX Intern. Congress of Entomol., Firenze (Italy), XXIX-XLLIV.*
32. van **Frankenhuyzen K.** 1993: The challenge of *Bacillus thuringiensis*. W: *Bacillus thuringiensis* an environmental biopesticide: theory and practice (Ph.F. Entwistle, J.S. Cory, M.J. Bailey, S. Higgs eds), John Wiley and sons, Chichester, 1-36.

Summary

Organisms modified genetically in plant protection against insects and the possibility of their use in forest protection

The paper reviews the basal knowlege on the genetically modified organisms in plant protection against insects and the possibility of their use in forest protection. Genetically engineered natural enemies of insect pests such as bacteria, baculoviruses, entomopathogenic fungi, entomopathogenic nematodes, predators, parasites and transsgenic plants were obtained and used in practice. The examples of those genetically modified organisms with increased insecticidal activity were given.

Based on non-recombinant techniques such as mating (conjugation) and partial curing, the novel strains with different activity spectra were produced and applied in the following biopreparations: Condor containing specific toxic proteins against *Choristoneura fumifera* and *Lymantria dispar*, Ecotech – transconjugant *B. thuringiensis aizawai* x *B. thuringiensis kurstaki*, and Foil – toxic against *Lepidoptera* and *Coleoptera* larvae. Using the recombinant DNA technology the new products, based on *B. thuringiensis* toxins with enhanced and more stable activity, were obtained: MVP – against *Lepidoptera* larvae, M – TRAK – against *Coleoptera* larvae and M-PERIL – against *Ostrinia nubilalis*.

Baculoviruses as biological agents of insects control are also modified genetically in order to enhance the insecticidal activity. It may be expected that in the future baculovirus genomes will be modified by way of changing or deleting their important parts rather than by the expression of additional genes coding for important regulators of insects metabolism.

The improvement of entomopathogenic fungi and nematods, parasites and predators deal with resistance to pesticides, tolerance to temperature, fecundity, nondiapausing strains etc. The biotyp of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, resistant to fungicide benomyl was obtained. The genetically improved predatory mite, *Metaseiulus occidentalis*, was also obtained and use in practice in USA. Further studies on predatory mites such as *Phytoseiulus persimilis* with resistance to organophosphate insecticides and tolerance to temperature and with higher fecundity, *Amblyseius fallacis* with resistance to pyrethroid, carbamate and organophosphate insecticides, *Metaseiulus occidentalis* to obtain non-diapausing biotyp are conducted.

The last genetically modified organism used in practice are transgenic plants resistant to pest insects. The genetic materials from other species were inserted to plants. Insecticidal toxin genes of *B. thuringiensis* were successfully isolated, modified, transferred, and expressed or synthesized in several target plants such as cotton, potato, soja, and others including woody plants. Transgenic plants containing toxic genes express the insecticidal proteins inside the plant cells, where the proteins are protected from UV and other factors of environmental degradation. *B. thuringiensis* toxins can be expressed not only in the whole plant, but also in specific plant tissues providing control of stem-, root-, and fruit-feeding insects.

It seems that in forestry the genetic improvement trees with resistance to pest insects can be used in the following cases: on short-rotation intensive cultivations (*Populus*, *Salix*), on ornamental trees, on new plantations threatened by white grubs and weevils, on seed orchards where seed and cone pests occur. However in all cases the possibility of developing resistance in insects ought to be taken into consideration.