

INSTYTUT ZOOTECHNIKI PIB

SPRAWOZDANIE KOŃCOWE

Obszar tematyczny 05: Żywienie zwierząt i paszoznawstwo

Zadanie 05-2.00.1: Pasze genetycznie modyfikowane i bezpieczeństwo stosowania nowych materiałów paszowych w żywieniu zwierząt.

Podzadanie: 05-2.02.1: Wpływ żywienia mieszankami z udziałem genetycznie modyfikowanych pasz na parametry reprodukcyjne, wskaźniki wzrostowe i zdrowotność szczurów w badaniach wielopokoleniowych

Kierownik podzadania:

Beata SZYMCZYK, dr hab. inż.; prof. nadzw. IZ

Wykonawcy podzadania zaangażowani twórczo:

prof. dr hab. **Piotr HANCZAKOWSKI**

dr inż. **Witold SZCZUREK**

Jednostka badawcza realizujące podzadanie:

Instytut Zootechniki Państwowy Instytut

Badawczy, Dział Żywienia Zwierząt

i Paszoznawstwa

Okres realizacji podzadania: I kwartał 2009 – II kwartał 2012

ALEKSANDROWICE, GRUDZIEŃ 2012

SPIS TREŚCI

Rozdział	Strona
STRESZCZENIE.....	3-5
WSTĘP	6-8
CEL BADAŃ	8
MATERIAŁ I METODY.....	8 - 13
WYNIKI I ICH OMÓWIENIE	14 - 27
PODSUMOWANIE.....	27
LITERATURA	28-33

STRESZCZENIE

Pomimo niezaprzeczalnych korzyści płynących z zastosowania inżynierii genetycznej do modyfikowania roślin uprawnych, w ostatnich latach debata na temat żywności modyfikowanej genetycznie zdecydowanie przybrała na sile. Zastrzeżenia wobec roślin GM dotyczą różnych aspektów, w szczególności technicznych, dotyczących konstruowania transgenów i procesów transformacji, takich jak stosowanie jako markerów genów odporności na antybiotyki, nadużywanie promotorów konstytutywnych, czy brak kontroli insercji transgenu w strukturę genomu. Zastrzeżenia budzą również aspekty medyczne tj. szkodliwość żywności transgenicznej dla zdrowia konsumenta.

Wyniki większości przeprowadzonych badań żywieniowych na zwierzętach gospodarskich nie wykazały znaczących różnic pomiędzy liniami izogenicznymi transgenicznymi I generacji. Nie stwierdzono żadnych zaburzeń zdrowotnych u zwierząt karmionych roślinami GM, tak że na tym etapie można je uznać za nieszkodliwe. Nie wykazano negatywnego wpływu transgenicznej kukurydzy (Bt i Gt) na wskaźniki produkcyjne i ocenę poubojową u tuczników oraz kurcząt brojlerów. Uzyskano nawet poprawę tempa wzrostu i wykorzystania paszy u kurcząt w przypadku kukurydzy Bt (o niższej zawartości mikotoksyn) w stosunku do grupy żywionej niemodyfikowaną kukurydzą. Nie pogorszyła się również strawność i przyswajalność składników pokarmowych. W przypadku krów mlecznych nie stwierdzono wpływu żywienia kiszonką sporządzoną z kukurydzy Bt na wydajność mleczną i skład mleka, a w przypadku cieląt i bukatów na wskaźniki produkcyjne, otluszczenie tusz i wydajność rzeźną. Podobne rezultaty uzyskano przy zastosowaniu transgenicznej soi (Gt) w żywieniu drobiu i trzody chlewnej. Skład podstawowy i zawartość substancji antyżywniowych również mieściły się w przewidywanych granicach.

Także wyniki badań na zwierzętach modelowych, choć nie są w pełni jednoznaczne, nie dają przekonujących dowodów na negatywne działanie pasz modyfikowanych genetycznie. W wielu długoterminowych, jednopokoleniowych badaniach na szczurach żywionych paszami roślinnymi GMO nie wykazano negatywnego wpływu tych roślin na metabolizm i zdrowotność zwierząt. Przykładowo u szczurów karmionych przez 3 miesiące dawkami z dodatkiem 11 lub 33% ziarna kukurydzy (Bt) nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w zakresie parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi oraz analizy moczu w stosunku do zwierząt z grupy nie karmionej paszami GM. W innych badaniach nie wykazano różnic we względnej masie organów wewnętrznych, wielkości parametrów morfologicznych i większości parametrów biochemicznych krwi szczurów, otrzymujących diety z dodatkiem suszu z transgenicznych i nietransgenicznych ziemniaków. Natomiast żywiąc szczury z dodatkiem ziemniaków linii NTR2.27, odpornych na wirusa plamistości smugowatej stwierdzono istotne powiększenie masy jelit ślepych, wyższą aktywność enzymatyczną w obrębie tych jelit oraz istotnie większą produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, niż obserwowano to u zwierząt żywionych niemodyfikowanymi ziemniakami. Autorzy sugerowali konieczność prowadzenia dalszych badań w celu wyjaśnienia wszystkich wątpliwości. Również w badaniach na królikach, u zwierząt karmionych soją GM zaobserwowano zmiany w produkcji enzymów wątrobowych oraz przyspieszoną przemianę materii. Nie wykazano jednak istotnych różnic w przyrostach masy ciała, masie poszczególnych organów oraz w parametrach reprodukcyjnych królików. U myszy żywionych z dodatkiem soi Roundup Ready stwierdzono zmiany w ekspresji genów oraz zmiany w strukturze i działaniu całego narządu. W innych badaniach tych samych autorów zanotowano obniżoną aktywność wydzielniczą trzustki u

myszki karmionych genetycznie modyfikowana soją. Obserwacje poczynione we wspomnianych badaniach nie pozwalają jednakże na ostateczne odparcie wszystkich zarzutów, dotyczących zagrożeń GMO dla zdrowia konsumenta, tym bardziej, że brak jest danych dotyczących długofalowego oddziaływania GMO na organizm kolejnych pokoleń zwierząt.

Celem badań przeprowadzonych w Dziale Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Instytutu Zootechniki PIB było stwierdzenie czy długoterminowe, obejmujące 5 pokoleń szczurów laboratoryjnych, żywienie mieszankami z dodatkiem pasz GM może wywierać niekorzystny wpływ na rozrodczość, wskaźniki wzrostowe i parametry określające zdrowotność zwierząt. Do badań użyto poekstrakcyjną śrutę sojową produkowaną z soi MON-40-3-2 (Roundup Ready), zmodyfikowanej w kierunku tolerancji na glifosat, składnik czynny wielu herbicydów oraz śrutę kukurydzianą produkowaną z ziarna kukurydzy *Bt*, zmodyfikowanej w kierunku odporności na omacnicę prosowiankę-owada-szkodnika z rodziny łuskoskrzydłych. Badano odmianę MON810 (DKC 3421YG), która w niektórych krajach UE uprawiana jest z przeznaczeniem na paszę. Zwierzęta doświadczalne stanowiły albinotyczne szczury laboratoryjne Wistar-W. Stado rodzicielskie, liczące 24 samce i 24 samice w wieku 4 miesięcy zakupiono w renomowanej hodowli zwierząt laboratoryjnych Charles River Laboratories w Niemczech. Zwierzęta kojarzone były w systemie monogamicznym. Po pokryciu samice otrzymywały granulaty z udziałem badanej kukurydzy (16 %) i śruty sojowej poekstrakcyjnej (12%) w następującym układzie: grupa I – konwencjonalna soja, konwencjonalna kukurydza, grupa II – modyfikowana genetycznie soja i modyfikowana genetycznie kukurydza, grupa III – modyfikowana genetycznie kukurydza i konwencjonalna soja, grupa IV – konwencjonalna kukurydza i modyfikowana genetycznie soja. Wykocone samice przebywały z młodymi przez okres 5 tygodni – w tym wieku mioty odsadzono. Spośród młodych uzyskanych w kolejnych pokoleniach (F2-F5) wybierano po 24 samice i 24 samce do dalszej hodowli, mającej na celu uzyskanie kolejnego pokolenia. Z pokolenia F1 nie wybierano zwierząt do doświadczenia długoterminowego, ponieważ nie pochodziły one jeszcze od zwierząt karmionych od urodzenia mieszankami doświadczalnymi, zawierającymi badane pasze GM. Analizowano następujące wskaźniki rozrodcze: ilość skutecznych pokryć, liczba i masa młodych przy urodzeniu, liczba odchowanych młodych i masa odsadków w 5 tygodniu życia. Określano również masę ciała samic przed pokryciem i po odsadzeniu młodych. Do doświadczeń wzrostowych w obrębie poszczególnych pokoleń wybierane losowo po 8 szczurów spośród samców w urodzonych w każdej z czterech grup żywieniowych i umieszczane w klatkach indywidualnych. Prowadzono kontrolę spożycia paszy i przyrostów masy ciała w okresie od 6 - 22 tygodnia życia. W celu oceny statusu zdrowotnego i metabolicznego szczurów prowadzono obserwacje pod kątem wpływu żywienia modyfikowanymi genetycznie paszami na: parametry biochemiczne i hematologiczne krwi, względną masę wybranych narządów wewnętrznych, ich cechy morfologiczne oraz ocenę histopatologiczną. Badano również obecność transgenicznego DNA pochodzącego z paszy w wybranych narządach i tkankach szczurów. Nie stwierdzono wpływu żywienia z dodatkiem transgenicznej soi i kukurydzy na plenność samic oraz ich masę po odsadzeniu młodych. We wszystkich pokoleniach liczebność miotów oraz ich masa przy odsadzeniu (wynikająca głównie z różnic w liczebności miotów) była zróżnicowana w poszczególnych grupach doświadczalnych, jednak nie stwierdzono wyraźnego związku między wspomnianymi parametrami, a żywieniem. W pokoleniu F4 w grupie żywionej z dodatkiem tradycyjnej kukurydzy i modyfikowanej genetycznie soi stwierdzono istotnie wyższą, niż w pozostałych grupach masę ciała szczurów przy urodzeniu. W pokoleniu F5 wyższą średnią masę ciała szczurów przy urodzeniu zanotowano

w grupie karmionej z dodatkiem transgenicznej soi i transgenicznej kukurydzy (mniejsza liczebność miotów). Żywienie szczurów z pokoleń F2, F4 i F5 mieszankami z udziałem transgenicznej i tradycyjnej soi oraz kukurydzy nie wpłynęło istotnie na wartość żadnego z parametrów hematologicznych krwi. Natomiast u szczurów z pokolenia F3 stwierdzono istotnie wyższą zawartość białych krwinek (WBC) w grupie żywionej z dodatkiem tradycyjnej kukurydzy i transgenicznej soi w stosunku do grupy z transgeniczną kukurydzą i transgeniczną soją oraz transgeniczną kukurydzą i tradycyjną soją. Warto zaznaczyć, że we wszystkich grupach ilość leukocytów mieściła się w granicach wartości referencyjnych dla szczurów-samców szczepu Wistar w tej grupie wiekowej. Analiza parametrów biochemicznych krwi szczurów tak z pokolenia F2 jak i F3 nie wykazała istotnego wpływu żywienia na metabolizm zwierząt. Nie zaobserwowano istotnego zróżnicowania aktywności enzymów wątrobowych – aminotransferazy asparaginowej (AST) i alaninowej (ALT) oraz fosfatazy alkalicznej (ALP) we krwi szczurów otrzymujących transgeniczne i tradycyjne formy kukurydzy i soi. W pokoleniu F4 istotnie wyższe, niż w pozostałych grupach wartości ALP zanotowano w grupie otrzymującej tradycyjną kukurydżę i transgeniczną soję. Natomiast w pokoleniu F5 w grupie kontrolnej stwierdzono najwyższy poziom ALT, równie wysoki co w grupie żywionej z dodatkiem obu badanych modyfikowanych genetycznie pasz. Tak więc, zmian w aktywności enzymów wątrobowych nie można było jednoznacznie powiązać ze sposobem żywienia. Żywienie nie miało również istotnego wpływu na poziom cholesterolu ogólnego w surowicy krwi szczurów. Poziom amylazy w surowicy krwi szczurów z pokolenia F2 był nieco wyższy w grupach żywionych tradycyjną kukurydżą w stosunku do grup z kukurydżą transgeniczną ($P \geq 0.05$). W przypadku kreatyniny i mocznika, parametrów charakteryzujących czynność nerek nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi.

Badanie histopatologiczne wątroby, nerek, śledziony, trzustki, dwunastnicy, serca oraz mięśni szkieletowych szczurów nie wykazało znaczących różnic pomiędzy poszczególnymi grupami doświadczalnymi. Nie wykazano obecności transgenicznego DNA w narządach wewnętrznych, krwi, tkance mięśniowej i kale szczurów.

Podsumowując, nie stwierdzono negatywnego wpływu badanych pasz GM – soi RR i kukurydzy MON 810 na wskaźniki reprodukcyjne i wzrostowe oraz parametry charakteryzujące status metaboliczny i zdrowotny 5 pokoleń szczurów. Brak obecności transgenicznego DNA w narządach wewnętrznych, krwi, tkance mięśniowej i kale szczurów, świadczy o wysokiej efektywności jego trawienia oraz braku pasażu wykrywalnych fragmentów transgenów do organizmu zwierząt. Nie ulega jednak wątpliwości, że istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku, w celu wyjaśnienia wszystkich niejasności i poznania potencjalnych zagrożeń.

WSTĘP

Pomimo niezaprzeczalnych korzyści płynących z zastosowania inżynierii genetycznej do modyfikowania roślin uprawnych w ostatnich latach debata na temat żywności modyfikowanej genetycznie zdecydowanie przybrała na sile. Zastrzeżenia wobec roślin GM dotyczą różnych aspektów, w szczególności technicznych, dotyczących konstruowania transgenów i procesów transformacji, takich jak stosowanie jako markerów genów odporności na antybiotyki, nadużywanie promotorów konstytutywnych, czy brak kontroli insercji transgenów w strukturę genomu. Zastrzeżenia budzą również aspekty medyczne tj. szkodliwość żywności transgenicznej dla zdrowia konsumenta.

Wyniki większości przeprowadzonych badań żywieniowych na zwierzętach nie wykazały znacznie większych różnic pomiędzy liniami izogenicznymi i transgenicznymi I generacji. Nie stwierdzono żadnych zaburzeń zdrowotnych u zwierząt karmionych roślinami GM, tak że na tym etapie można je uznać za nieszkodliwe (Flachowsky i in., 2005, Świątkiewicz i in. 2010, Furgał-Dierżuk i in., 2010). Nie wykazano negatywnego wpływu transgenicznej kukurydzy (Bt i Gt) na wskaźniki produkcyjne i ocenę poubojową u tuczników (Reuter i Aulrich., 2003; Weber i Richert, 2001; Hyun i In., 2004; Stein i In., 2004, Świątkiewicz i in. 2010, Świątkiewicz i in., 2010) i kurcząt brojlerów (Brake i Vlachos, 1998; Halle i In., 2004; Taylor i In., 2004). Piva i in. (2001) oraz Świątkiewicz i in., (2010) uzyskali nawet poprawę tempa wzrostu i wykorzystania paszy u kurcząt w przypadku kukurydzy Bt (o niższej zawartości mykotoksyn) w stosunku do grupy żywionej niemodyfikowaną kukurydzą. We wspomnianych badaniach nie pogorszyła się również strawność i przyswajalność składników pokarmowych. W przypadku krów mlecznych nie stwierdzono wpływu żywienia kiszonką sporządzoną z kukurydzy Bt na wydajność mleczną i skład mleka (Donkin i In, 2003; Singh i in., 2003, Furgał Dierżuk i in., 2010), a w przypadku cieląt i bukatów na wskaźniki produkcyjne, otluszczenie tusz i wydajność rzeźną (Berger i in., 2003; Ericson i in., 2003; Furgał-Dierżuk i in., 2010)

Podobne rezultaty uzyskano przy zastosowaniu transgenicznej soi (Gt) w żywieniu drobiu (Hammond i in., 1996; Kan i Hartnell, 2004, Świątkiewicz i in., 2010), trzody chlewnej (Aulrich i in., 2005, Świątkiewicz i in., 2010). Skład podstawowy i zawartość substancji antyżywniowych również mieściły się w przewidywanych granicach. W ramach rutynowych doświadczeń żywieniowych przeprowadzanych na zwierzętach gospodarskich badano również ich tkanki pod kątem obecności „obcego” DNA. Uzyskane wyniki przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Obecność transgenicznego DNA w tkankach zwierząt gospodarskich

Gatunek zwierząt	Roślina	Obecność transgenicznego DNA
Broilery	Kukurydza Bt Soja Gt	(-) DNA w tkankach i we krwi
Krowy mleczne	Kukurydza Bt Soja Gt	(-) DNA w mleku, krwi, mięśniach, wątrobie i śledzionie (-) DNA w mleku, krwi, mięśniach, wątrobie i śledzionie
Świnie	Kukurydza Bt Soja Gt	(-) DNA w mięśniach, we krwi, jelicie cienkim i grubym, wątrobie (-) DNA w mięśniach

Za Flachowsky i in. (2005)

Również w najnowszych krajowych badaniach na drobiu (Świątkiewicz i in. 2010), bydło (Furgał-Dierżuk i in., 2010) i świniami (Świątkiewicz i in., 2010) nie stwierdzono obecności transgenicznego DNA w badanych narządach i tkankach tj. wątrobie, płucach, śledzionie i tkance mięśniowej. Także we krwi nie znaleziono sekwencji DNA charakterystycznej dla modyfikowanej soi i kukurydzy.

Podobnie wyniki badań na zwierzętach modelowych, choć nie są w pełni jednoznaczne, nie dają przekonujących dowodów na negatywne działanie pasz modyfikowanych genetycznie. W wielu długoterminowych, jednopokoleniowych badaniach na szczurach żywionych paszami roślinnymi GM nie wykazano negatywnego wpływu tych pasz na metabolizm i zdrowotność zwierząt. Hammond i in. (2006) karmiąc przez 3 miesiące szczury dawkami z dodatkiem 11 lub 33% ziarna kukurydzy Bt nie stwierdzili statystycznie istotnych różnic w zakresie parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi oraz analizy moczu w stosunku do zwierząt z grupy nie karmionej paszami GM. Również Kosieradzka i in. (2004) nie stwierdzili różnic we względnej masie organów wewnętrznych, wielkości parametrów morfologicznych i większości parametrów biochemicznych krwi szczurów, otrzymujących diety z dodatkiem suszu z transgenicznych i nietransgenicznych ziemniaków. Jednakże Juśkiewicz i in. (2005) żywiąc szczury z dodatkiem ziemniaków linii NTR2.27, odpornych na wirusa plamistości smugowatej stwierdzili istotne powiększenie masy jelit ślepych, wyższą aktywność enzymatyczną w obrębie tych jelit oraz istotnie większą produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, niż obserwowano to u zwierząt żywionych niemodyfikowanymi ziemniakami. Autorzy sugerowali konieczność prowadzenia dalszych badań w celu wyjaśnienia wszystkich wątpliwości. Również w badaniach na królikach, u zwierząt karmionych soją GM stwierdzono zmiany w produkcji enzymów wątrobowych oraz przyspieszoną przemianę materii (Tudisco i in., 2006). Nie wykazano jednak istotnych różnic w przyrostach masy ciała, masie poszczególnych organów oraz w parametrach reprodukcyjnych królików. U myszy żywionych z dodatkiem soi Gt (Roundup Ready) stwierdzono zmiany w ekspresji genów oraz zmiany w strukturze i działaniu całego narządu (Malatesta, 2002, Malatesta i in. 2005). W innych badaniach autorzy stwierdzili również obniżoną aktywność wydzielniczą trzustki u myszy karmionych genetycznie modyfikowaną soją (Malatesta i in., 2003, Malatesta i in. 2008). Obserwacje poczynione we wspomnianych badaniach nie pozwalają jednakże na ostateczne odparcie wszystkich

zarzutów, dotyczących zagrożeń GMO dla zdrowia konsumenta, tym bardziej, że brak jest danych dotyczących długofalowego oddziaływania GMO na organizm kolejnych pokoleń zwierząt. Niewątpliwie istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań, w celu wyjaśnienia wszystkich niejasności i poznania potencjalnych zagrożeń.

CEL BADAŃ

Celem przeprowadzonych badań było stwierdzenie, czy i w jakim stopniu długoterminowe, obejmujące kilka kolejnych pokoleń żywienie szczurów paszą zawierającą ziarno kukurydzy, modyfikowane genem odporności na omacnicę prosowiankę (MON 810) oraz poekstrakcyjną śrutę z soi modyfikowanej genem odporności na herbicyd glifosat (Roundup Ready) może istotnie wpływać na rozrodczość, tempo wzrostu oraz parametry określające status zdrowotny zwierząt - parametry hematologiczne i biochemiczne krwi, odpowiedź immunologiczną, ocenę morfologiczną i histopatologiczną narządów wewnętrznych. Badano również obecność fragmentów transgenicznego DNA w tkankach i narządach szczurów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny:

Do badań użyto poekstrakcyjną śrutę sojową produkowaną z soi MON-40-3-2 (Roundup Ready), zmodyfikowanej w kierunku tolerancji na glifosat - składnik czynny wielu herbicydów oraz śrutę kukurydzianą produkowaną z ziarna kukurydzy *Bt*, zmodyfikowanej w kierunku odporności na omacnicę prosowiankę-owada-szkodnika z rodziny łuskoskrzydłych. Badano odmianę MON810 (DKC 3421YG), która w niektórych krajach UE uprawiana jest z przeznaczeniem na paszę. Skład badanych pasz roślinnych - konwencjonalnych i modyfikowanych genetycznie przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Skład chemiczny badanej śruty kukurydzianej i poekstrakcyjnej śruty sojowej (%).

Składnik (%)	Kukurydza		Poekstrakcyjna śruta sojowa	
	Konwencjonalna	GM (MON 810)	Konwencjonalna	GM (MON 40-3-2)
Sucha masa	86,2	86,3	87,7	88,6
Białko ogólne	7,67	7,75	47,9	45,7
Tłuszcz surowy	3,40	3,45	2,04	3,22
Włókno surowe	1,88	1,87	3,66	4,28
Popiół surowy	1,30	1,24	5,70	6,31
Skrobia	63,7	62,8	4,08	3,54
Wapń	0,010	0,010	0,272	0,353
Fosfor	0,287	0,283	0,644	0,701
Metionina	0,149	0,151	0,642	0,754
Lizyna	0,235	0,252	0,289	0,292
Cystyna	0,159	0,161	0,623	0,700
Treonina	0,269	0,266	1,75	1,85
Tryptofan	0,040	0,044	0,515	0,763

Wyniki analizy chemicznej wykazały, że kukurydza transgeniczna Bt i kukurydza konwencjonalna (linia rodzicielska kukurydzy Bt) charakteryzowały się podobną zawartością podstawowych składników pokarmowych, składników mineralnych i aminokwasów. W przypadku soi zanotowano nieco wyższe różnice, jednak mieściły się w standardowym zakresie przyjętym dla tego materiału paszowego. Tak więc badane pasze konwencjonalne i GM posiadały zbliżoną wartość pokarmową. W poekstrakcyjnej śrucie sojowej i śrucie kukurydzianej wykonano również analizę transgenicznego DNA, która potwierdziła pochodzenie badanych materiałów.

Zwierzęta doświadczalne stanowiły niespokrewnione albinotyczne szczury laboratoryjne Wistar-W. Materiał hodowlany zakupiono w renomowanej hodowli zwierząt laboratoryjnych Charles River Laboratories w Niemczech. Do momentu pokrycia szczury żywiono standardowym granulatem dla szczurów, którego skład przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Skład granulatów dla szczurów

Składnik	(g/kg paszy)
Kukurydza*	160
Jęczmień	240
Owies	50
Śruta sojowa poekstrakcyjna. 48 % białka**	120
Otręby pszenne do 9 % włókna	30
Mąka pszenna pastewna	314
Susz z lucerny	20
Mleko odtłuszczone suszone	40
Kreda pastewna	10
Fosforan dwuwapniowy	3
NaCl	2
Premiks dla szczurów 1%	10
DL-metionina (technicznie czysta)	1
W 1 kg paszy, średnio:	
Sucha masa (g)	883
Energia MJ	10,40
Białko surowe (g)	157
Włókno surowe (g)	47,20
Metionina i cystyna (g)	6,16

*kukurydza odmiany tradycyjnej, ** śruta sojowa poekstrakcyjna Hi-Pro

Po pokryciu zwierzęta otrzymywały granulaty o powyższym składzie już z udziałem badanej kukurydzy i śruty sojowej poekstrakcyjnej w następującym układzie:

Grupa I – konwencjonalna soja (S), konwencjonalna kukurydza (K)

Grupa II – modyfikowana genetycznie soja (SGM), modyfikowana genetycznie kukurydza (KGM)

Grupa III – modyfikowana genetycznie kukurydza (KGM), konwencjonalna soja (S)

Grupa IV – konwencjonalna kukurydza (K), modyfikowana genetycznie soja (SGM).

Schemat badań:

Wyjściowy materiał hodowlany obejmował 24 samice i 24 samce, w wieku 4 miesięcy. Zwierzęta przydzielono losowo do 4 grup doświadczalnych (6 samic i 6 samców). Szczury kojarzone były w systemie monogamicznym. Wykocone samice przebywały z młodymi przez okres 5 tygodni – w tym wieku mioty odsadzano. Spośród młodych uzyskanych w kolejnych pokoleniach (F2-F5) wybierano po 24 samice i 24 samce do dalszej hodowli, mającej na celu uzyskanie kolejnego pokolenia (Rys. 1).

Analizowano następujące wskaźniki rozrodcze:

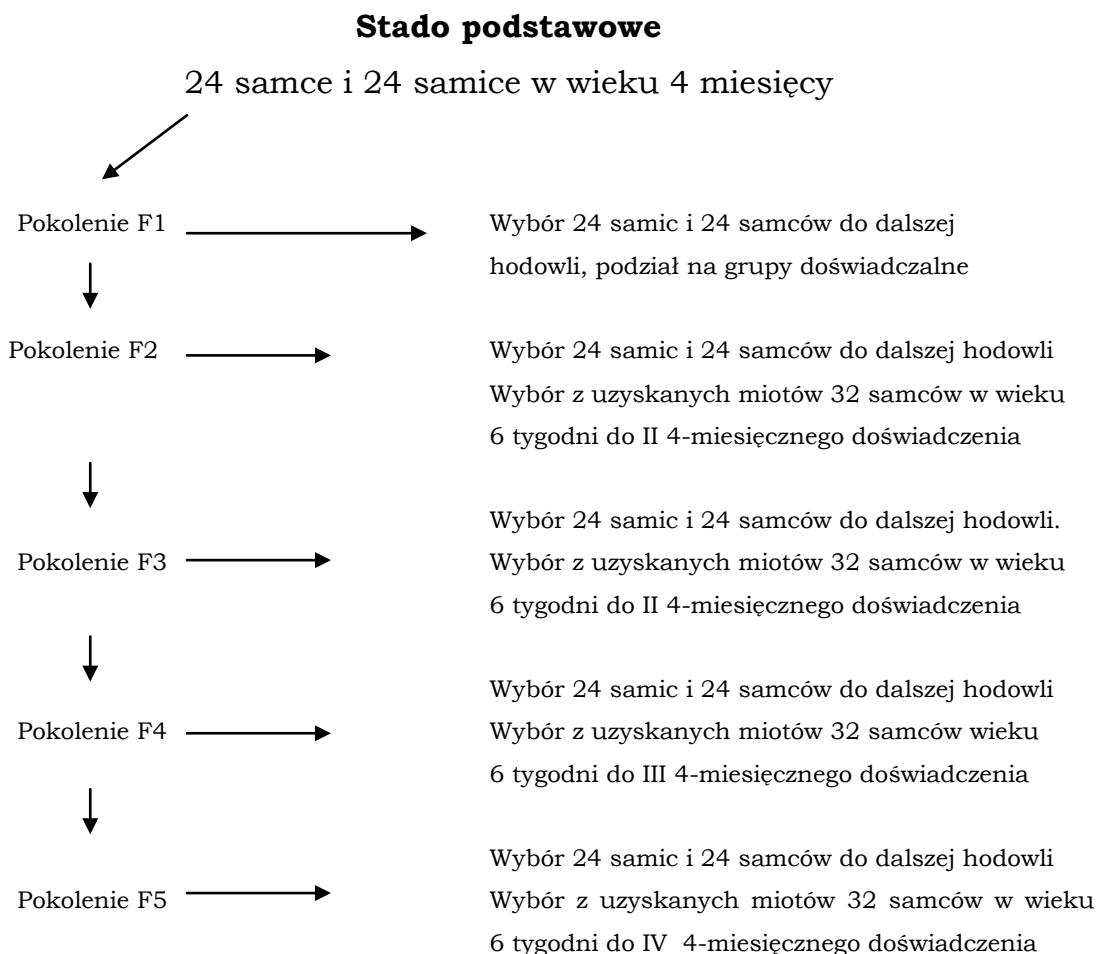
- ilość skutecznych pokryć
- liczba i masa młodych przy urodzeniu
- masa odsadków w 4 tygodniu życia
- liczba odchowanych młodych

Określano również masę ciała samic przed pokryciem i po odsadzeniu młodych.

Spośród młodych uzyskanych w pokoleniach F2-F5 wybierano losowo po 8 samców z każdej grupy żywieniowej do 4-miesięcznego doświadczenia wzrostowego. Pokolenie F1 pominięto w doświadczeniach wzrostowych, ponieważ młode nie pochodziły jeszcze od zwierząt karmionych od urodzenia mieszankami doświadczalnymi, zawierającymi badane pasze GM.

Przez 4 miesiące szczury karmiono granulatami w układzie grup podanym wcześniej. Po zakończeniu każdego z doświadczeń szczury poddawano eutanazji poprzez dootrzewnowe podanie śmiertelnej dawki Thiopentalu, a następnie pobierano próbki krwi i narządy do analizy. Określano również względną masę wybranych narządów wewnętrznych - wątroby, nerek, serca i śledziony.

Rys. 1. Schemat badań



Pobieranie materiału biologicznego do analiz:

Analiza hematologiczna krwi: Wykonano analizę ogólnych wskaźników statusu zdrowotnego szczurów tj. wskaźników erytrocytarnych (liczba czerwonych krwinek – RBC, ilość hemoglobiny – HGB, hematokryt – HCT, średnia objętość erytrocytu – MCV, średni ciężar erytrocytu – MCH, stężenie hemoglobiny w jednej krwince czerwonej – MCHC) i trombocytarnych (liczba płytek krwi – PLT i ich średnia objętość –MVP) oraz wybranych parametrów odporności komórkowej, takich jak liczba białych krwinek (WBC) i leukogram tj. jakościowy skład poszczególnych subpopulacji leukocytów z podziałem granulocyty (neutrofile, bazofile i eozynofile) oraz agranulocyty (limfocyty i monocyty). Badane wskaźniki odzwierciedlały charakter zmian w ramach nieswoistej odporności

komórkowej. Próbki krwi do badań hematologicznych pobierano do probówek z napylnym kwasem wersenowym (EDTA) i niezwłocznie zawożono do analizy. Parametry morfologiczne krwi określano standardowymi metodami laboratoryjnymi przy użyciu analizatora ADIVA 2120.

Krew do oznaczeń biochemicznych (mocznik, kreatynina, amylaza trzustkowa, bilirubina całkowita, aminotransferaza asparaginowa - AST, aminotransferaza alaninowa - ALT, fosfataza alkaliczna - ALP, cholesterol ogólny) po uzyskaniu skrzepu wirowano (4500 obr/min, 10 minut), a uzyskaną surowicę zamrażano w temp. -25°C . Parametry biochemiczne w surowicy krwi oznaczano metodą spektrometryczną, analizatorem Vitros, system Ektachem DT-60-II z modułem DT, DTE i DTSC.

Koncentrację immunoglobulin (IgE, klasy IgG, IgA, IgM oraz IgD) w surowicy krwi określano analizatorem Phadia 100, metodą polegającą na reakcji antygeny (alergenu) na powierzchni fazy stałej z przeciwciałem. Pełna reakcja immunologiczna zachodziła wewnątrz kapsułki zwanej ImmunoCAP.

Do badań histopatologicznych (pokolenia F3 i F5) pobierano od każdego szczura z grupy całą nerkę i całą wątrobę, które następnie utrwalano w 10-procentowym zbuforowanym roztworze formaliny. Z wątroby pobierano do badań wycinek prawego boczego płata. Wycinki zatapiano w parafinie Paralast i krojono na plasterki o grubości $4\ \mu\text{m}$. Po wybarwieniu (hematoksylina-eozyna) skrawki oceniano pod mikroskopem Olympus. W celu wykrycia lipidów w hepatocytach (stłuszczenie wątroby) skrawki wątroby uzyskane z mrożonego materiału barwiono Sudanem III i poddawano ocenie mikroskopowej.

Obliczenia statystyczne:

Uzyskane w badaniach wyniki poddano analizie wariancji w układzie jednoczynnikowym (ANOVA) przy użyciu pakietu STATISTICA ver. 6.0. Istotność różnic pomiędzy średnimi obiektowymi oceniano przy użyciu wielokrotnego testu rozstępu, dla $P < 0.05$ i $P < 0.01$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wskaźniki rozrodcze:

Wybrane wskaźniki reprodukcyjne szczurów z pokoleń F2-F5 przedstawiono w Tabeli 4.

Nie stwierdzono negatywnego wpływu żywienia paszą z dodatkiem transgenicznej soi i kukurydzy na plenność samic oraz ich masę po odsadzeniu młodych. W trakcie trwania badań odnotowano tylko 1 upadek w pokoleniu F2 w miocie liczącym 17 sztuk młodych, w grupie z konwencjonalną soją i transgeniczną kukurydzą. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w średniej masie ciała szczurów przy urodzeniu. Zarówno w pokoleniu F2 jak i F3 liczebność miotów oraz ich masa przy odsadzeniu była zróżnicowana w poszczególnych grupach doświadczalnych, jednak nie stwierdzono wyraźnego związku między wspomnianymi parametrami, a żywieniem. W obu pokoleniach stwierdzono niższą skuteczność pokryć w grupie żywionej z dodatkiem tradycyjnej soi i tradycyjnej kukurydzy. W odróżnieniu od tego w pokoleniach 4 i 5 procent zakończonych samic był niższy w grupach karmionych z dodatkiem pasz GM – w III z transgeniczną kukurydzą i IV z transgeniczną soją. W pokoleniu F4 w grupie żywionej z dodatkiem tradycyjnej kukurydzy i modyfikowanej genetycznie soi stwierdzono istotnie wyższą masę ciała szczurów przy urodzeniu, niż w pozostałych grupach. W pokoleniu F5 wyższą średnią masę ciała szczurów przy urodzeniu zanotowano w grupie karmionej z dodatkiem transgenicznej soi i transgenicznej kukurydzy. Można to powiązać z istotnie mniejszą liczebnością miotów w tej grupie. Zarówno w pokoleniu F4 jak i F5 skuteczność pokryć, liczebność miotów oraz ich masa przy odsadzeniu były zróżnicowane w poszczególnych grupach doświadczalnych, jednak i tu nie stwierdzono wyraźnego związku tych parametrów z rodzajem paszy. Wyniki te znajdują potwierdzenie w literaturze. Kilic i Akay (2007) w wielopokoleniowych badaniach na szczurach, stosując kukurydzę Bt nie

wykazali istotnych różnic w zakresie parametrów rozrodczych oraz końcowej masy ciała samic.

Tabela 4. Wybrane wskaźniki wzrostowe i reprodukcyjne szczurów z pokoleń F2-F5

F	Parametr	Grupa			
		S+K	SGM +KGM	S+KGM	K+SGM
F2	Średnia masa ciała samic – krycie (g)	294	292	298	294
	Średnia masa ciała samic-odsadzenie (g)	314	307	313	309
	Procent skutecznych pokryć	83,3	100	100	100
	Średnia masa szczura przy urodzeniu (g)	6,55	6,67	6,60	6,70
	Średnia liczebność miotu	15,2b	13,2a	14,0ab	13,2a
	Średnia masa miotu przy odsadzeniu (g)	1112,6b	989a	1039ab	971a
	Średnia masa szczura przy odsadzeniu (g)	73,2	74,7	74,2	73,5
F3	Średnia masa ciała samic – krycie (g)	302	295	305	298
	Średnia masa ciała samic - odsadzenie (g)	317	310	315	309
	Procent skutecznych pokryć	83,3	100	100	100
	Średnia masa szczura przy urodzeniu (g)	6,82	6,53	6,59	6,86
	Średnia liczebność miotu	12,8a	14,1b	13,9b	12,8a
	Średnia masa miotu przy odsadzeniu (g)	967a	1040ab	1074b	997ab
	Średnia masa szczura przy odsadzeniu (g)	75,6	73,7	77,2	77,8
F4	Średnia masa ciała samic – krycie (g)	300	287	301	312
	Średnia masa ciała samic - odsadzenie (g)	317	303	315	321
	Procent skutecznych pokryć	100	100	83,3	83,3
	Średnia masa szczura przy urodzeniu (g)	6,65	6,60	6,67	6,87
	Średnia liczebność miotu	12,2	12,7	13,2	12,5
	Średnia masa miotu przy odsadzeniu (g)	950	935	998	952
	Średnia masa szczura przy odsadzeniu (g)	78,1	73,6	75,6	76,2
F5	Średnia masa ciała samic – krycie (g)	292	288	292	313
	Średnia masa ciała samic - odsadzenie (g)	300	301	298	339
	Procent skutecznych pokryć	83,3	100	100	100
	Średnia masa szczura przy urodzeniu (g)	6,67	6,70	6,59	6,70
	Średnia liczebność miotu	13,6b	10,0a	13,7b	11,5a
	Średnia masa miotu przy odsadzeniu (g)	1024C	790,7A	1075C	905B
	Średnia masa szczura przy odsadzeniu (g)	75,3	79,1	78,5	78,7

a,b – wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P < 0.05$

A,B,C– wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P < 0.01$; NS - $P \geq 0.05$

Podstawowe wskaźniki charakteryzujące wzrost i rozwój młodych szczurów również nie były zależne od żywienia. Także Polat (2005) stosując kukurydzę Bt w żywieniu dwóch pokoleń szczurów, przeprowadzając badanie histopatologiczne organów rozrodczych samic i samców szczurów nie stwierdził żadnych istotnych różnic w stosunku do zwierząt żywionych kukurydzą konwencjonalną. Również ocena ilości plemników u samców nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupami. Podobnie w doświadczeniach wielopokoleniowych na myszach Brake i Evenson (2004) nie stwierdzili różnic w liczebności i masie ciała miotów, przy zastosowaniu dodatku do paszy soi Roundup Ready i soi tradycyjnej.

W przeciwieństwie do rezultatów przedstawionych powyżej, w badaniach Ermakovej (2005) zaobserwowano wyższą śmiertelność oraz niższe przyrosty masy ciała młodych uzyskanych od samic karmionych przed pokryciem, w jego trakcie i w czasie ciąży genetycznie modyfikowaną soją (Roundup Ready).

Wskaźniki wzrostowe i względna masa wybranych organów wewnętrznych u szczurów w doświadczeniach 4-miesięcznych.

Żywienie szczurów z pokoleń F2 – F5 w doświadczeniach długoterminowych mieszankami z udziałem soi i kukurydzy odmian modyfikowanych genetycznie i konwencjonalnych nie miało wpływu na końcową masę ciała oraz przyrosty szczurów (Tabela 5). Także w przypadku względnej masy serca, wątroby, nerek i śledziony szczurów nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic ($P \geq 0.05$). Wyniki te znajdują potwierdzenie w rezultatach uzyskanych przez Kosieradzką i in. (2008), którzy stosując 10-procentowy dodatek suszu z modyfikowanych genetycznie ziemniaków (z nadekspresją transferazy glukozowej) do paszy dla szczurów nie stwierdzili istotnych różnic względnej masy wybranych organów wewnętrznych. Również Kilic i Akay (2007) nie zanotowali różnic w zakresie względem masy wątroby i nerek szczurów - samców pokolenia F3, w grupach żywionych bez dodatku kukurydzy (kontrola) i otrzymujących dodatek konwencjonalnej lub modyfikowanej genetycznie

kukurydzy (Bt). W tych samych badaniach w przypadku samic pokolenia F3 autorzy zaobserwowali istotnie mniejszą masę wątroby u zwierząt żywionych z dodatkiem kukurydzy w stosunku do diety nie zawierającej ziarna kukurydzy. Jednak pomiędzy grupami otrzymującymi kukurydzę konwencjonalną i kukurydzę Bt nie stwierdzono żadnych różnic.

Tabela 5. Wskaźniki wzrostowe i względna masa wybranych organów wewnętrznych u szczurów pokoleń F2-F5.

F	Parametr	Grupa				SEM
		I S+K	II SGM+KGM	III S+KGM	IV K+SGM	
F2	Początkowa masa ciała (g)	110	109	110	108	0.510
	Końcowa masa ciała (g)	464	459	469	459	4.957
	Przyrost masy ciała (g)	354	350	359	351	2.690
	Organ: g/100g m.c.:					
	Wątroba	3,42	3,62	3,31	3,48	0.021
	Nerki	0,62	0,64	0,59	0,55	0.011
	Serce	0,27	0,26	0,28	0,26	0.001
	Śledziona	0,24	0,23	0,24	0,25	0.001
F3	Początkowa masa ciała, (g)	104	103	106	106	0.721
	Końcowa masa ciała (g)	454	446	458	447	4.109
	Przyrost masy ciała (g)	350	343	352	341	2.831
	Organ, g/100g m.c.:					
	Wątroba	3,25	3,44	3,43	3,35	0.021
	Nerki	0,61	0,54	0,61	0,57	0.032
	Serce	0,28	0,27	0,27	0,28	0.001
	Śledziona	0,26	0,24	0,25	0,26	0.001
F4	Początkowa masa ciała (g)	113	110	109	110	0.687
	Końcowa masa ciała (g)	453	448	450	453	3.652
	Przyrost masy ciała (g)	340	338	341	343	2.976
	Organ, g/100g m.c. :					
	Wątroba	3,43	3,46	3,43	3,45	0.041
	Nerki	0,61	0,57	0,61	0,58	0.020
	Serce	0,27	0,28	0,28	0,29	0.001
	Śledziona	0,24	0,25	0,24	0,26	0.001
F5	Początkowa masa ciała (g)	113	112	111	111	0.752
	Końcowa masa ciała (g)	456	453	454	456	3.624
	Przyrost masy ciała (g)	340	338	341	343	3.121
	Organ, g/100g m.c.:					
	Wątroba	3,46	3,45	3,44	3,46	0.012
	Nerki	0,58	0,57	0,0,56	0,58	0.010
	Serce	0,28	0,27	0,28	0,29	0.001
	Śledziona	0,24	0,25	0,25	0,25	0.001

Także Schroder i in. (2007) stosując konwencjonalny i transgeniczny ryż (KMD1), z ekspresją genu Cry1Ab (Bt) w żywieniu szczurów szczepu Wistar w badaniach 90-dniowych nie wykazał istotnych różnic w zakresie tempa wzrostu szczurów i względnej masy wybranych narządów wewnętrznych. Podobne wyniki w badaniach na szczurach żywionych ryżem z wprowadzonym genem inhibitora tripsyny, pochodzącym z fasolnika chińskiego (*Vigna sinensis*) uzyskali Chen i in. (2004).

Parametry hematologiczne krwi

Żywienie szczurów z pokoleń F2, F4 i F5 mieszankami z udziałem transgenicznej i tradycyjnej soi i kukurydzy nie wpłynęło istotnie na wartość żadnego z parametrów hematologicznych krwi (Tabela 6). Natomiast u szczurów z pokolenia F3 stwierdzono istotnie wyższą ($P < 0.05$) zawartość białych krwinek (WBC) w grupie żywionej z dodatkiem tradycyjnej kukurydzy i transgenicznej soi w stosunku do grupy z transgeniczną kukurydzą i transgeniczną soją oraz transgeniczną kukurydzą i tradycyjną soją. Warto jednak zaznaczyć, że we wszystkich grupach ilość leukocytów mieściła się w granicach wartości referencyjnych dla szczurów-samców szczepu Wistar w tej grupie wiekowej.

Rodzaj stosowanej diety nie wpłynął istotnie na jakościowy skład poszczególnych subpopulacji leukocytów w pokoleniach F2, F4 i F5. Jedynie we krwi szczurów z pokolenia F3 stwierdzono zróżnicowanie w procentowej zawartości neutrofilów ($P < 0.01$) i monocytów ($P < 0.05$). Jednak i w tym pokoleniu we wszystkich grupach żywieniowych wartość parametrów hematologicznych krwi nie odbiegała od wartości referencyjnych.

Uzyskane wyniki znalazły potwierdzenie w obserwacjach poczynionych przez Kosieradzką i in. (2008). Autorzy nie wykazali istotnych różnic w wielkości większości parametrów hematologicznych u szczurów żywionych transgenicznymi ziemniakami z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów, w stosunku do grupy z tradycyjnymi ziemniakami i grupy kontrolnej. Jednak we krwi szczurów żywionych ziemniakami GM zanotowano istotnie wyższy poziom

hemoglobiny w krwinkach czerwonych ($P < 0,01$). Stwierdzono również istotną statystycznie różnicę w procentowej zawartości limfocytów – szczury otrzymujące modyfikowane ziemniaki miały ich we krwi więcej.

Natomiast w badaniach Hammonda i in. (2004) nie stwierdzono wpływu żywienia szczurów - samców, kukurydzą MON 810 na parametry hematologiczne krwi. Różnice istotne statystycznie wystąpiły jedynie w przypadku MCHC i PLT u samic, jednak nie były one związane ze sposobem żywienia zwierząt. Także Healy i in. (2008) nie zanotowali istotnych różnic w składzie morfologicznym krwi w stosunku do grupy kontrolnej z tradycyjną kukurydzą, u szczurów – samców, żywionych z dodatkiem kukurydzy transgenicznej odpornej na szkodniki i glifosat (88017). Jedynie w przypadku samic w grupie z wyższym poziomem kukurydzy GM (33%) stwierdzono istotnie wyższy poziom neutrofilów. W innych badaniach (Hammond i in., 2006) wykazano brak negatywnego wpływu kukurydzy odpornej na stonkę kukurydzianą na skład morfologiczny krwi szczurów. Analogiczne wyniki w przypadku ryżu Bt w badaniach na szczurach uzyskali Schroder i in. (2007).

Tabela 6. Parametry hematologiczne krwi szczurów pokoleń F2-F5.

F	Parametr	Grupa				SEM
		I S+K	II SGM+KGM	III S+KGM	IV K+SGM	
F2	WBC, $10^3/\text{ul}$	7,18	7,83	8,41	8,98	0.848
	RBC, $10^6/\text{ul}$	9,01	8,66	8,70	8,78	0.090
	HGB, g/dl	14,97	14,82	14,60	15,02	0.122
	HCT %	45,52	44,70	43,87	44,85	0.349
	MCV, fl	50,60	51,60	50,42	51,17	0.533
	MCH, pg	16,62	16,90	16,77	17,12	0.142
	MCHC, g/dl	32,92	32,70	33,30	33,52	0.179
	PLT, $10^3/\text{ul}$	927	971	915	991	32.017
	Neutrofile, %	17,32	15,30	15,36	17,33	0.970
	Limfocyty, %	74,52	75,45	77,37	74,21	1.370
	Monocyty, %	5,25	5,90	5,22	5,90	0.527
	Eozynofile, %	2,87	3,20	2,00	2,50	0.241
	Bazofile, %	0,04	0,05	0,05	0,06	0.017

F3	WBC, 10 ³ /ul	7,83ab	6,59a	6,68a	9,51b	0.474
	RBC, 10 ⁶ /ul	8,48	8,28	8,47	8,85	0.120
	HGB, g/dl	14,77	14,25	14,25	14,97	0.132
	HCT %	45,65	43,62	43,02	45,57	0.544
	MCV, fl	53,85	52,85	50,82	51,65	0.790
	MCH, pg	17,42	17,25	16,80	16,95	0.180
	MCHC, g/dl	32,42	32,65	33,12	32,90	0.179
	PLT, 10 ³ /ul	953	934	967	958	28.32
	Neutrofile, %	18,35A	14,32B	15,37B	14,00B	1.244
	Limfocyty, %	75,77	77,45	75,89	79,46	1.412
	Monocyty, %	3,55a	5,95ab	5,57b	4,47ab	0.604
	Eozynofile, %	2,26	2,20	3,15	2,00	0.261
	Bazofile, %	0,07	0,08	0,02	0,07	0.002
	F4	WBC, 10 ³ /ul	6,83	6,76	6,84	6,75
RBC, 10 ⁶ /ul		8,56	8,40	8,41	8,67	0.082
HGB, g/dl		14,80	14,56	14,46	14,60	0.022
HCT %		48,90	50,60	46,80	47,80	0.245
MCV, fl		57,0	58,03	56,20	55,06	0.498
MCH, pg		17,30	17,90	17,12	16,76	0.122
MCHC, g/dl		30,30	30,36	31,06	30,50	0.158
PLT, 10 ³ /ul		1111	1168	1056	1054	28.27
Neutrofile, %		14,12	15,20	14,33	13,80	0.870
Limfocyty, %		77,20	76,84	77,36	77,45	0.989
Monocyty, %		5,62	4,87	5,16	5,79	0.125
Eozynofile, %		3,0	3,0	3,0	2,76	0.232
Bazofile, %		0,16	0,19	0,15	0,20	0.020
F5		WBC, 10 ³ /ul	6,78	6,84	5,74	5,76
	RBC, 10 ⁶ /ul	8,54	8,84	8,81	9,20	0.282
	HGB, g/dl	17,02	17,42	17,32	17,30	0.102
	HCT %	53,00	54,42	53,09	54,42	0.315
	MCV, fl	62,20	61,60	60,20	59,40	0.561
	MCH, pg	17,30	17,90	17,12	16,76	0.212
	MCHC, g/dl	32,02	32,02	32,60	31,58	0.758
	PLT, 10 ³ /ul	1112	1129	1098	1067	26.98
	Neutrofile, %	17,12	15,56	16,36	17,23	0.572
	Limfocyty, %	75,03	76,67	75,36	74,61	.350
	Monocyty, %	5,25	5,22	5,23	5,60	0.327
	Eozynofile, %	2,56	2,50	3,0	2,50	0.141
	Bazofile, %	0,04	0,05	0,05	0,06	0.007

a,b – wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy P<0.05

A, B, C - wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy P<0.01,

NS - P≥0.05

Parametry biochemiczne krwi

Analiza parametrów biochemicznych krwi szczurów z pokoleń F2 i F3 nie wykazała istotnego wpływu żywienia na metabolizm zwierząt (Tabela 7). Nie zaobserwowano istotnego zróżnicowania aktywności enzymów wątrobowych – aminotransferazy asparginowej (AST) i alaninowej (ALT) oraz fosfatazy alkalicznej (ALKP) we krwi szczurów otrzymujących transgeniczne i tradycyjne formy kukurydzy i soi. W pokoleniu F4 istotnie wyższe, niż w pozostałych grupach wartości ALKP zanotowano w grupie otrzymującej tradycyjną kukurydzę i transgeniczną soję. Natomiast w pokoleniu F5 w grupie kontrolnej stwierdzono najwyższy poziom ALT, równie wysoki co w grupie żywionej z dodatkiem obu badanych modyfikowanych genetycznie pasz. Tak więc, zmian w aktywności enzymów wątrobowych nie można jednoznacznie powiązać ze sposobem żywienia.

Żywienie nie miało również istotnego wpływu na poziom cholesterolu ogólnego w surowicy krwi szczurów z pokoleń F2-F5. Poziom amylazy w surowicy krwi szczurów z pokolenia F2 mieścił się w granicach od 1711 – 1954 i był nieco wyższy w grupie z tradycyjnymi paszami i grupie z tradycyjną kukurydzą i transgeniczną soją, w stosunku do pozostałych grup. Jednak i w tym przypadku nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między średnimi wartościami tego parametru. W kolejnych pokoleniach poziom amylazy we krwi szczurów w poszczególnych grupach był bardzo zbliżony. W odróżnieniu od tego Malatesta i in., (2003) i Malatesta i in. (2008) zaobserwowali obniżoną aktywność wydzielniczą trzustki u myszy karmionych genetycznie modyfikowaną soją.

W prezentowanych badaniach w przypadku kreatyniny i mocznika, parametrów charakteryzujących czynność nerek, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi ($P \geq 0.05$). Zaobserwowano jedynie tendencję do wzrostu tego parametru u szczurów żywionych transgeniczną soją w pokoleniach F3-F5.

Tabela 7. Parametry biochemiczne krwi szczurów pokoleń F2-F5.

F	Parametr	Grupa				SEM
		I S+K	II SGM+KGM	III S+KGM	IV K+SGM	
F2	Mocznik, mg/dl	41,16	39,9	38,6	41,1	0.728
	Kreatynina, $\mu\text{mol/l}$	0,48	0,47	0,51	0,49	0.082
	Amylaza, U/l	1873	1711	1792	1954	0.022
	Cholesterol, mmol/l	1,27	1,20	1,33	1,29	0.245
	AST, U/l	134,2	148,80	152,7	125,57	0.498
	ALT, U/l	54,32	52,32	58,97	49,50	0.122
	ALP, U/l	124,00	130,25	135,00	121,25	0.158
	Bilirubina całk., $\mu\text{mol/l}$	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	
F3	Mocznik, mg/dl	43,66	44,94	46,2	39,06	0.522
	Kreatynina, $\mu\text{mol/l}$	0,60	0,66	0,65	0,65	0.010
	Amylaza, U/l	1796	1843	1871	1766	2.928
	Cholesterol, mmol/l	1,44	1,33	1,47	1,36	0.013
	AST, U/l	105,52	102,80	101,42	108,07	1.916
	ALT, U/l	51,75	43,15	52,47	45,50	0.786
	ALP, U/l	117,25	117,75	113,50	121,50	1.261
	Bilirubina całk., $\mu\text{mol/l}$	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	-
F4	Mocznik, mg/dl	39,6	44,2	36,3	47,2	0.620
	Kreatynina, $\mu\text{mol/l}$	0,58	0,68	0,61	0,72	0.012
	Amylaza, U/l	838	783	842	898	3.780
	Cholesterol, mmol/l	67,6	64,8	59,4	80,0	0.011
	AST, U/l	151,2	238,3	207,6	244,3	4.175
	ALT, U/l	61,4	105,6	63,8	99,0	0.863
	ALP, U/l	87,6A	99,40A	82,2A	179B	2.183
	Bilirubina całk., $\mu\text{mol/l}$	<0,07	<0,07	<0,07	<0,07	-
F5	Mocznik, mg/dl	51,2	52,3	51,2	46,0	0.319
	Kreatynina, $\mu\text{mol/l}$	0,46	0,48	0,57	0,42	0.023
	Amylaza, U/l	780	743	764	783	4.210
	Cholesterol, mmol/l	64,7	50,7	56,7	56,2	0.010
	AST, U/l	158,7BC	199C	148,7B	97,0A	1.023
	ALT, U/l	45,4A	62,0B	75,0B	41,2A	0.857
	ALKP, U/l	71,0A	131,2C	102,7B	94,5B	1.213
	Bilirubina całk., $\mu\text{mol/l}$	<0,07	<0,08	<0,06	<0,07	-

A,B,C- wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie przy $P < 0.01$; NS - $P \geq 0.05$

W 90-dniowych badaniach Schrodera i in. (2007) stwierdzono wyższy poziom mocznika, przy równoczesnej redukcji koncentracji białka we krwi szczurów żywionych z dodatkiem ryżu Bt. Natomiast Kilic i Akya (2007) nie zanotowali istotnych różnic w zakresie większości parametrów

biochemicznych, również mocznika i kreatyniny we krwi szczurów, otrzymujących kukurydzę Bt, w stosunku do grupy z konwencjonalną kukurydzą oraz grupą karmioną paszą bez kukurydzy. Autorzy zaobserwowali jednak zależne od płci szczurów różnice w poziomie kreatyniny w osoczu krwi – w grupie z konwencjonalną kukurydzą u samic był on istotnie wyższy, niż w pozostałych grupach doświadczalnych. Również w badaniach Vendomoisa i in. (2009) stwierdzono istotne różnice w funkcjonowaniu nerek, wyrażające się wzrostem poziomu kreatyniny we krwi szczurów-samców żywionych kukurydzą NK 603 i MON 863.

W przeciwieństwie do tego w badaniach Kosieradzkiej i in. (2004) i Kosieradzkiej i in. (2008), gdzie stosowano dodatek transgenicznym lub tradycyjnym ziemniaków do diet dla szczurów, żywienie nie miało wpływu na większość badanych parametrów biochemicznych krwi. U zwierząt otrzymujących ziemniaki GM odnotowano jedynie wyższy poziom żelaza, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Brak negatywnego wpływu na parametry biochemicznych krwi u szczurów stwierdzono również w badaniach Haely i in. (2008) w przypadku ziarna kukurydzy MON 88017 odpornej na stonkę kukurydzianą i glifosat oraz w doświadczeniach Hammonda i in. (2004 i 2006).

Odpowiedź układu immunologicznego

Oznaczona w surowicy krwi szczurów z pokoleń F2 i F3 koncentracja immunoglobulin klasy E (IgE-total), przeciwciał powstających w odpowiedzi na obecność czynnika wywołującego reakcję alergiczną, w żadnym przypadku nie przekroczyło 2 kU/l (Tabela 8). Również koncentracja swoistych przeciwciał (kukurydza, soja) była bardzo niska i we wszystkich grupach wynosiła mniej niż 0,35 kUA/l. Zbliżone rezultaty uzyskali Kosieradzka i in. (2008) w przypadku ziemniaków z nadekspresją enzymów szlaku syntezy flawonoidów.

W prezentowanych badaniach nie stwierdzono również istotnych różnic w koncentracji immunoglobulin klasy IgA, IgD, IgG i IgM w poszczególnych grupach doświadczalnych ($P \geq 0.05$). Jednak zwierzęta z pokolenia F2 żywione paszami z dodatkiem transgenicznej soi

i transgenicznej kukurydzy miały we krwi wyraźnie mniej immunoglobulin klasy IgG, niż zwierzęta otrzymujące tradycyjną soję i kukurydżę. Podwyższony poziom immunoglobulin IgG może świadczyć o obecności białek nie posiadających właściwości alergicznych, ale działających immunogennie i stymulujących produkcję tych przeciwciał. Uwrażliwienie to nie wystąpiło u szczurów z pokoleń F2 i F3, gdzie we wszystkich grupach przeciwciała klasy IgG utrzymywały się na zbliżonym poziomie. U Kosieradzkiej i in. (2008) poziom immunoglobulin IgG we krwi szczurów żywionych transgenicznymi ziemniakami był wyższy niż u szczurów otrzymujących ziemniaki tradycyjne.

Tabela 8. Zawartość immunoglobulin IgA, IgD, IgE IgG i IgM w surowicy szczurów pokoleń F2 i F3

F	Immunoglobuliny	Grupa			
		I S+K	II SGM+KGM	III S+KGM	IV K+SGM
F2	IgE całkowite, kU/l	<2,00	<2,00	<2,00	<2,00
	IgE (soja), kUA/l	<0,35	<0,35	<0,35	<0,35
	IgE (kukurydza), kUA/l	<0,35	<0,35	<0,35	<0,35
	IgA, g/l	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06
	IgD, mg/l	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30
	IgG, g/l	0,29	0,22	0,27	0,24
	IgM, g/l	0,058	0,054	0,063	0,061
F3	IgE całkowite, kU/l	<2,00	<2,00	<2,00	<2,00
	IgE (soja), kUA/l	<0,35	<0,35	<0,35	<0,35
	IgE (kukurydza), kUA/l	<0,35	<0,35	<0,35	<0,35
	IgA, g/l	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06
	IgD, mg/l	<1,30	<1,30	<1,30	<1,30
	IgG, g/l	0,21	0,19	0,22	0,22
	IgM, g/l	0,064	0,063	0,071	0,068

Ocena histopatologiczna narządów pokoleń F3 i F5

Ocena histopatologiczna wątroby i nerki szczurów z pokolenia F3

Mikroskopowa ocena histopatologiczna nie wykazała zmian patologicznych w nerkach. W wątrobach w większości przypadków stwierdzono pojedyncze hepatocyty z cechami stłuszczenia. Najmniej hepatocytów z obecnością lipidów stwierdzono u zwierząt żywionych z dodatkiem transgenicznej soi i transgenicznej kukurydzy. Bardzo nieliczne drobne ogniska krwiotworzenia stwierdzono w mięszu wątroby u pojedynczych szczurów we wszystkich grupach doświadczalnych, niezależnie od stosowanej paszy.

Ocena histopatologiczna wątroby i nerki szczurów z pokolenia F5

Badanie histopatologiczne wątroby i nerek pochodzących od szczurów z pokolenia F5 również nie wykazało znaczących różnic pomiędzy poszczególnymi grupami doświadczalnymi. Obecność dużej ilości krwi w naczyniach mięszu niektórych narządów mogło być wynikiem zaburzeń krążenia w efekcie eutanazji szczurów. Piankowata struktura hepatocytów jest najprawdopodobniej artefaktem charakterystycznym dla wątroby, z której wyługowany został zhydrolizowany w czasie obróbki histologicznej glikogen.

Także Teshima i in. (2002) nie stwierdził różnic w zakresie morfologicznej i histopatologicznej oceny grasicy, śledziony, kępek Prayer'a w przewodzie pokarmowym, jelita cienkiego, wątroby i nerek szczurów karmionych kukurydzą transgeniczną (CBH351) i ziarnem odmiany tradycyjnej przez 13 tygodni. We wcześniejszych badaniach tych autorów mieszanki z udziałem transgenicznej soi nie miały wpływu na obraz histologiczny przewodu pokarmowego myszy i szczurów - Brown Norway (Teshima i in., 2000). Podobnie Hammond i in. (2004) oraz Zhu i in. (2004) stosując w żywieniu szczurów soję Roundup Ready uzyskali podobne, jak w przypadku zwierząt otrzymujących ziarno tradycyjnej kukurydzy, parametry oceny histopatologicznej narządów wewnętrznych szczurów. Zhu i in. (2004) stosowali diety z bardzo wysokim, bo

osiągającym 90% udziałem transgenicznej soi. Ocena histopatologiczna żołądka i dwunastnicy szczurów żywionych z dodatkiem kukurydzy Bt w badaniach trzypokoleniowych (Kilie i Akay, 2007) również nie wykazała negatywnego wpływu żywienia paszami transgenicznymi na stan przewodu pokarmowego. Z drugiej strony zwiększenie ilości hiperplastycznych komórek obserwowano w jelicie krętym myszy żywionych ziemniakami Bt przez 14 dni (Fares El Sayed, 1998). Zmiany rozmiarów hepatocytów w wątrobach szczurów karmionych kukurydzą Bt w stosunku do grupy kontrolnej zanotowano również we wcześniejszych badaniach Schmuckera (1990).

Badanie obecności transgenicznego DNA w tkankach i narządach

Nie wykazano obecności transgenicznego DNA w narządach wewnętrznych, krwi, tkance mięśniowej i kale szczurów (Tabela 9).

Tabela 9. Wyniki badań na obecność transgenicznego DNA u szczurów doświadczalnych

	Transgeny							
	RR				MON 810			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Krew	-	-	-	-	-	-	-	-
Nerka	-	-	-	-	-	-	-	-
Wątroba	-	-	-	-	-	-	-	-
Tkanka mięśniowa	-	-	-	-	-	-	-	-
Kał z jelita grubego	-	-	-	-	-	-	-	-
DNA z E.coli	-	-	-	-	-	-	-	-

Potwierdza to wyniki wcześniejszych badań na zwierzętach gospodarskich, zebrane przez Flachowskiego i in. (2005). Również w najnowszych krajowych badaniach na drobiu (Świątkiewicz i in. 2010), bydło (Furgał-Dierżuk i in., 2010) i świniami (Świątkiewicz i in., 2010) nie

stwierdzono obecności transgenicznego DNA w badanych narządach i tkankach tj. wątrobie, płucach, śledzionie, tkance mięśniowej. Także we krwi nie znaleziono sekwencji DNA charakterystycznej dla modyfikowanej soi i kukurydzy.

PODSUMOWANIE

Nie stwierdzono negatywnego wpływu badanych pasz GM – soi RR i kukurydzy MON 810 na parametry rozrodcze oraz wskaźniki wzrostowe 5 pokoleń szczurów.

Nie wykazano jednoznacznego związku pomiędzy żywieniem zwierząt, a różnicami w parametrach charakteryzujących status metaboliczny i zdrowotny organizmu szczurów w kolejnych pokoleniach.

Brak obecności transgenicznego DNA w narządach wewnętrznych, krwi, tkance mięśniowej i kale szczurów, świadczy o wysokiej efektywności jego trawienia oraz braku pasażu wykrywalnych fragmentów transgenów do organizmu zwierząt.

Kierownik Podzadania:

Dr hab. Beata Szymczyk, prof. nadzw. IZ

Kierownik Obszaru:

Prof. dr hab. Franciszek Brzóska

Kierownik Zadania:

Prof. dr hab. Sylwester Świątkiewicz

PIŚMIENNICTWO

- Berger L.L., Robbins N.D., Sewell J.R., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. (2003). Effect of feeding diets containing corn grain with corn rootworm- protection (event MON863), control, or conventional varieties of steer feedlot performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 81: 214.
- Brake D.G., Evenson D.P. (2004). A generational study of glyphosate – tolerant soybean on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. *Food. Chem. Toxicol.*, 42, 29-36.
- Chen X., Zhuo Q., Piao J., Yang X. (2004). Immunotoxicologic assessment of transgenic rice . *Wei Sheng Yan Jiu*, 33: 770-780.
- Cromwell G.L., Lindermann M.D., Randolp J.H., Parker G.R., Coffey R.D., Laurent K.M., Armstrong C.L., Mikel W.B., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. (2002). Soybean meal from Roundup Ready or conventional soybean in diets for growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, 80: 708-715.
- Clive J. (2007). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007. ISAAA Brief No. 37. ISAAA: Ithaca, NY.
- Donkin S.S., Velez J.L., Totten A.K., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. (2003). Effect of feeding silage and grain from Glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 86: 1780-1788.
- Ericson G.E., Robbins N.D., Simon J.j., Berger L.L., Klopfenstein T.J., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. (2003). Effect od feeding glyphosate-tolerant (Roundup Ready events GA21 or nk 603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance or carcass characteristics. *J. Anim. Sci.*, 81: 2600-2608.
- Ermakova I. (2005). Conclusion to the report about feeding of rats by genetically modified potatoes Russet Burbank. *Agrarian Russia*, 62-64.

- Fares N.H., El-Sayed A.K. (1998). Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes *Nat. Toxins*, 6: 219-233.
- Flachowsky G., Chesson A., Aulricj K. (2005). Animal nutrition with feeds from genetically modified plants. *Arch. Anim. Nutr.*, 59(1): 1-40.
- Furgał-Dzierżuk I., Strzetelski J.A., Kwiatek K., Twardowska M., Mazur M. (2010). The effect of genetically modified feeds on rearing performance and tDNA transfer in the digestive tract into tissues of calves. *Mat. XXXIX Sesji Nauk. Kom. Żywienia Zwierząt KNZ PAN: Żywienie w regulacji rozwoju i produktywności zwierząt*, Rynia k. Warszawy, 26–28.05.2010,,s. 20.
- Furgał-Dzierżuk I., Strzetelski J.A., Kwiatek K., Twardowska M., Mazur M. (2010). The effect of genetically modified feeds on productivity, milk composition, serum metabolite profiles and transfer of tDNA into milk of cows. *Mat. XXXIX Sesji Nauk. Kom. Żywienia Zwierząt KNZ PAN: Żywienie w regulacji rozwoju i produktywności zwierząt*, Rynia k. Warszawy, 26–28.05.2010,,s. 159.
- Halle I., Aulrich K., Flachowsky G. (2004). For generations feeding of GMO-corn in breeder quails. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 13: 124.
- Hammond B.G., Vicini J.L., Hartnell G.F., Naylor M.W., Fnight C.D., Ribinson E.H., Fuchs R.L., Padgett S.R. (1996). The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J. Nutr.*, 126: 717-727.
- Hammond B.G., Dudek R., Lemen J., Nemeth M. (2004). Results of 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem. Toxicol.*, 42: 1003-1014.
- Hammond B., Lemon J., Dudek R., Ward D., Jiang C., Nemeth M., Burns J. (2006). Results of 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm – protected corn. *Food Chem. Toxicol.*, 44: 147-160.
- Healy C., Hammond B., Kirkpatrick J. (2008). Results of 13-week safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-

- protected, glyphosate-tolerant MON 881017 corn. *Food Chem. Toxicol.*, 46: 2517-2524.
- Hyun Y., Bressner G.E., Ellis M., Lewis A.J., Fischer R., Stanisiewski E.P., Hartnell G.F. (2004). Performance of growing-finishing pigs fed diets containing Roundup Ready corn (event nk 603), a nontransgenic genetically similar corn, or conventional corn lines. *J. Anim. Sci.*, 82: 571-580.
- Juśkiewicz J., Zduńczyk Z., Fornal J. (2005). Nutritional properties of tubers of conventionally bred and transgenic lines of potato resistant to necrotic strain of Potato virus Y (PVY^N). *Acta Bioch. Pol.*, 52, (3): 725-729.
- Kan C., Hartnell G.F. (2004). Evaluation of broiler performance when fed Roundup Ready wheat (event MON71800), control, and commercial wheat varieties. *Poultry Sci.*, 83: 1325-1334.
- Kilic A., Akay T. (2007). A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 1164-1170.
- Kosieradzka I., Sawosz E., Pastuszewska B., Żuk M., Szopa J., Bielecki W. (2004). Effect of feeding potato tubers modified by 14-3-3 protein overexpression on metabolism and health status of rats. *J. Anim. Feed Sci.*, 13: 329-339.
- Kosieradzka I., Sawosz E., Szopa J., Bielecki W. (2008). Potato genetically modified by 14-3-3 protein repression in growing rat diets. Part II: Health status of experimental animals. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 58, No. 3, 377-382.
- Kosieradzka I. (2009). Krajowe doświadczenia *in vivo* w ocenie wartości odżywczej i dietetycznej wybranych roślin transgenicznych (Postępy nauk rolniczych; 3-4/2009; str. 71).
- Malatesta M., Biggiogera E., Manuali M.B., Rocchi B., Baldelli G., Gazzanelli G. (2003). Fine structural analyses of pancreatic acinar cell nuclei from mice fed on GM soybean. *Eur. J. Histochem.*, 47, 385-388.

- Malatesta M, Tiberi C, Baldelli B, Battistelli S, Manuali E, Biggiogera M.(2005) Reversibility of hepatocyte nuclear modifications in mice fed on genetically modified soybean. *Eur. J. Histochem.*, 49(3): 237-42.
- Malatesta M, Biggiogera M. (2008) Can a genetically-modified organism-containing diet influence embryo development? A preliminary study on pre-implantation mouse embryos. *Eur. J. Histochem.*, 52(4): 263-7.
- Malatesta M, Boraldi F, Annovi G, Baldelli B, Battistelli S, Biggiogera M, Quaglino D. (2008). A long-term study on female mice fed on a genetically modified soybean: effects on liver ageing. *Histochem. Cell. Biol.*, 130(5): 967-77.
- McHughen A. (2004). Żywność modyfikowana genetycznie – poradnik konsumenta. Ed. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Piva G., Morlacchini M., Pietri A., Casadei G. (2001). Performance of weaned piglets fed insectprotected (MON810) or near isogenic corn. *J. Anim. Sci.*, 79:106.
- Polat S. (2005). The effect of transgenic Bt corn on prenatal and postnatal development of the rats: master thesis. Hacettepe Universitesi, 46-75.
- Reuter T., Aulrich K. (2003). Investigation on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fate of food ingested foreign DANN in pig bodies. *Eur. Food Res. Technol.*, 216: 185-192.
- Schmucker D.L. (1990). Hepatocyte fine structure during maturation and senescence. *J. Electron. Microsc. Tech.*, 14: 106-125.
- Schroder M., Poulsen M., Wilcks A., Kroghsbo S., Miller A., Frenzel T., Danier J., Rychlik M., Emami K., Gatehouse A., Shu Q., Engel K.H., Altosaar I., Knudsen I. (2007). A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry 1 Ab protein (*Bacillus thuringensis* toxin) in Wistar rats. *Food Chem. Toxicol.*, 45: 339-349.
- Sigh M., Tiwari D.P., Kumar A., Kumar M.R. (2003). Effect of feeding transgenic cottonseed vis-a-vis non-transgenic cottonseed on

haematobiochemical constituents in lactating murrh buffaloes. *Asian-Austr. J. Anim. Sci.*, 16: 1732-1737.

Stein H.H., Sauber T., Rice D., Hinds M., Peters D., Dana G., Hunst P. (2004). Comparison of corn grain from biotech and non-biotech counterparts for grow-finishing pig performance. *J. Anim. Sci.* 82 (Suppl.): 328.

Świątkiewicz M., Hanczakowska E., Twardowska M., Kwiatek K., Mazur M., Kozaczyński W., Świątkiewicz S. (2010). The effect of genetically modified feeds on fattening results and transfer of transgenic DNA to swine tissues. *Mat. XXXIX Sesji Nauk. Kom. Żywienia Zwierząt KNZ PAN: Żywienie w regulacji rozwoju i produktywności zwierząt*, Rynia k. Warszawy, 26–28.05.2010, 97.

Świątkiewicz S., Koreleski J., Arczewska-Włosek A., Twardowska M. (2010). Poekstrakcyjna śruta sojowa i ziarna kukurydzy z genetycznie zmodyfikowanych roślin w żywieniu kur nieśnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 544: 45–52.

Świątkiewicz S., Koreleski J., Arczewska-Włosek A., Twardowska M. (2010). Soybean meal and maize grain from genetically modified plants in laying hens nutrition. *Mat. XXXIX Sesji Nauk. Kom. Żywienia Zwierząt KNZ PAN: Żywienie w regulacji rozwoju i produktywności zwierząt*, Rynia k. Warszawy, 26–28.05.2010, 63.

Świątkiewicz S., Świątkiewicz M., Koreleski J., Kwiatek K. (2010). Nutritional efficiency of genetically modified insect resistant corn (MON810) and glyphosate tolerant soyben meal (Roundup Ready) for broilers. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 54 (1): 43–48.

Świątkiewicz S., Twardowska M., Markowski J., Mazur M., Sieradzki Z., Kwiatek K. (2010). Fate of transgenic DNA from Bt corn and Roundup Ready soybean meal in broilers fed GMO feed. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 54 (2): 237–242, 2010.

Taylor M.L., Stanisiewski E.P., Riordan S.G., Nemeth M.A., George B., Hartnell G.F. (2004). Comparison of broiler performance when fed diets containing Roundup Ready (event RT73,

nontransgenic control, or commercial canola meal. *Poultry Sci.*, 83: 456-461.

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

Teshima R., Watanabe T., Okunuki H., Isuzugawa K., Akiyama H., Onodera H., Imai T., Toyoda M., Sawada J. (2002). Effect of subchronic feeding of genetically modified corn (CBH351) on immune system in BN rats and B10A mice. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 43: 273-279.

Tudisco R., Lombardi P., Bovera F., d Angelo D., Cutrignelli M.I., Mastellone V., Terzi V., Avallone L., Infascelli F. (2006). Genetically modified soya bean in rabbit feeding: detection of DNA fragments and evaluation of metabolic effects by enzymatic analysis. *Anim. Sci.*, 82: 193-199.

Vendomois J.S., Roullier F., Cellier D., Seralini G.E. (2009). A comparison of the effects of three GM corn Varieties on mammalian health. *Int.J. Biol. Sci.*, 2009, 5: 706-722.

Weber T.E., Richert B.T. (2001). Grower-finisher growth performance and carcass characteristics including attempts to detect transgenic plant DNA and protein in muscle from pig fed genetically modified "Bt" corn. *J. Anim. Sci.*, 79 (Suppl.2): 67.

Zhu Y., Li D., Wang F., Yin J., Jin H. (2004). Nutritional assessment and fate of DNA of soybean meal from Roundup Ready or conventional soybean s using rats. *Arch. Anim. Nutr.*, 58: 295-310.



