



## Konieczność monitorowania genetycznie zmodyfikowanego rzepaku w Polsce

Iwona Wiśniewska, Anna Linkiewicz, Sławomir Sowa

Laboratorium Kontroli GMO, Zakład Biotechnologii i Cytogenetyki Roślin, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

### Demand for monitoring genetically modified rapeseed in Poland

#### Summary

Rapeseed (*Brassica napus* L.) is the most important oilseed plant in Poland. Genetically modified (GM) rapeseed is planted on 18% of total rapeseed area in the world. The most frequent genetic modifications in rapeseed gave transgenic lines that are herbicide tolerant or have altered fatty acid composition. Coexistence of conventional and GM rapeseed is difficult due to several facts related to biology of this species. Contamination of rapeseed conventional varieties with rapeseed GM seems to be unavoidable during flowering time, harvest, storage and transport. For this reason, monitoring of GM rapeseed in Poland is very important. At the moment, no validated method is available for quantification of GM in rapeseed. Therefore, development and validation of qualitative methods for rapeseed transgenic lines in routine food and feed analysis are necessary.

#### Key words:

biosafety, *Brassica napus*, monitoring, GMO, Real-time PCR.

### 1. Wprowadzenie

Organizmy genetycznie zmodyfikowane (GMO) są jednym z ważniejszych produktów nowoczesnej biotechnologii. Wprowadzone 10 lat temu do uprawy zyskują coraz większe znaczenie w globalnym systemie żywnościowym (1). Uregulowania prawne dotyczące wprowadzania do obrotu lub uwolnienia do środowiska GMO różnią się zakresem w poszczególnych krajach, nawet w obrębie Unii Europejskiej. Niezależnie od systemu regulacji transgranicznego przemieszczania się GMO oraz wewnętrznej

#### Adres do korespondencji

Iwona Wiśniewska,  
Laboratorium Kontroli  
GMO,  
Instytut Hodowli  
i Aklimatyzacji Roślin,  
Radzików,  
05-870 Błonie.

kontroli zdarzyć się mogą przypadkowe lub nielegalne transporty nasion transgenicznych gatunków roślin. Pozbawione właściwej kontroli i uwolnione do środowiska mogą powodować nieprzewidziane efekty środowiskowe czy socjoekonomiczne. Szczególnie w przypadku roślin obco- i owadopylnych, które łatwo krzyżują się z gatunkami pokrewnymi, kontrola ma szczególne znaczenie.

## 2. Monitorowanie roślin GM w środowisku

Jednym z głównych wyzwań XXI w. jest produkcja żywności, która mogłaby sprostać naszym potrzebom nie zaburzając jednocześnie równowagi środowiska przyrodniczego. Monitorowanie środowiska jest elementem systemu bezpieczeństwa biologicznego, o którym mówi się w Protokole Kartageńskim (2) i który wynika bezpośrednio z Konwencji o Różnorodności Biologicznej przyjętej w Nairobi w maju 1992 r. (3). Zgodnie z ideą Konwencji konieczne jest opracowanie i wdrożenie mechanizmów pozwalających na bezpieczne wykorzystanie osiągnięć nowoczesnej biotechnologii przy zminimalizowaniu potencjalnych zagrożeń dla środowiska i zdrowia ludzi. W związku z tym uznano za konieczne przyjęcie akceptowanych przez międzynarodową społeczność zasad dotyczących przekazywania, utrzymywania i użytkowania żywych, zmodyfikowanych organizmów w zgodzie z regułami ochrony środowiska i dbałością o zdrowie ludzi (art. 19.3 Konwencji) (3).

Zgodnie z zaleceniami Komisji Europejskiej (Dyrektywa 2001/18/WE Parlamentu Europejskiego i Rady Europy) (4) na państwa członkowskie nałożony został obowiązek opracowania narodowych strategii i najlepszych praktyk na rzecz współistnienia upraw ulepszonych dzięki biotechnologii, upraw tradycyjnych i upraw ekologicznych oraz przeprowadzenia tzw. oceny ryzyka. Biobezpieczeństwo jest jednym z priorytetów nowelizowanej obecnie w Polsce ustawy z 22 czerwca 2001 r. „O organizmach genetycznie zmodyfikowanych” (5).

Wprowadzanie roślin GM do środowiska jest nie tylko przedmiotem regulacji prawnych, ale również istotną kwestią podlegającą dyskusji społecznej i naukowej. Ekologiczna ocena ryzyka jest problemem złożonym i obejmuje wiele aspektów. Najważniejsze z nich to: ekspresja transgenów w genomie biorcy, wpływ roślin transgenicznych na inne organizmy i bioróżnorodność, przepływ genów i jego konsekwencje oraz ewolucja odporności (6). Badanie tych elementów wymaga opracowania naukowych metod oceny ryzyka i metod umożliwiających monitorowanie roślin GM w środowisku, przy czym oszacowaniu inwazyjności roślin GM służą doświadczenia dotyczące migracji pyłku roślin transgenicznych, zasięgu występowania nasion GM, oraz analiza roślin, które powstały na skutek przekrzyżowania z gatunkami dzikimi (7-12). Wyniki tych doświadczeń wskazują na zależności gatunkowe (samo-, obcopolność) i środowiskowe. Doświadczenia przeprowadzane nad przenoszeniem się transgenicznego pyłku jęczmienia (9) i procentem przepyleń z odmianą męskosterylną wykazały zależność natężenia tego zjawiska od odległości od źródła



pyłku, praktycznie zanikając na dystansie powyżej 50 m. Częstość przekrzyżowań w promieniu 1 m wahała się od 0 do 7% zależnie od pogody w dniu kłoszenia. Natomiast w badaniach nad przenoszeniem się pyłku i nasion w konwencjonalnych odmianach rzepaku na obszarze  $10 \times 10$  km stwierdzono 65% zapyeń w promieniu 50-300 m między rośliną dawcy i biorcy oraz dla około 13% nasion pochodzenie komponentu ojcowskiego z odległości większej od 1000 m (13). W szeroko zakrojonych badaniach APHIS nad zachowaniem się rzepaku Liberty Link w środowisku wykazano, że zredukowana żywotność nasion hybrydowych oraz brak presji selekcyjnej dla cechy odporności na herbicyd poza miejscem uprawy czyni mało prawdopodobnym, by populacja ewentualnych hybryd tego rzepaku z gatunkami dzikimi rozwijała się w środowisku (14). Typowe zabiegi mechaniczne oraz oprysk herbicydem o innym spektrum działania pozwala kontrolować je w miejscu uprawy. Należy jednak podkreślić, że każda cecha uzyskana w wyniku modyfikacji genetycznej powinna być rozpatrywana indywidualnie.

Przy ocenie ryzyka istotne jest również stwierdzenie, czy rośliny GM mają zmniejszoną zdolność do transferu genów w porównaniu z roślinami niemodyfikowanymi. Transfer genów do gatunków dzikich jest możliwy, wówczas gdy te gatunki mogą się krzyżować i kwitnąć w tym samym okresie. W Europie dotyczy to trawy *Lolium perenne*, która może się krzyżować z dzikimi gatunkami z rodzaju *Lolium* i *Festuca* (15), buraka cukrowego (*Beta vulgaris*), który może krzyżować z dzikimi formami *Beta maritima* (16) oraz rzepaku łatwo krzyżującego się z gatunkami *Brassica rapa* i *Brassica juncea* (17). Do oceny ryzyka transferu genów konieczne jest opracowanie odpowiednich metodyk badawczych. Według ACRE (Advisory Committee on Releases to the Environment – rządowego komitetu doradczego w Wielkiej Brytanii) ocena ryzyka obejmuje porównanie uprawy roślin GM i ich odpowiedników niemodyfikowanych z jednoczesnym określeniem ich potencjalnego wpływu na główny gatunek typowy dla badanego areału (18). Takie oszacowanie powinno obejmować badania polowe przeprowadzone na dużą skalę. Timmons i wsp. (19) wykazali, że wyniki uzyskane w warunkach polowych przeprowadzone na dużą skalę różnią się istotnie od badań prowadzonych na małych poletkach. Przy ekstrapolacji wyników badań prowadzonych na małym areale i przy próbie ich uogólniania należy zachować dużą ostrożność. W Wielkiej Brytanii badania na dużą skalę finansowane przez rząd brytyjski zostały rozpoczęte w 1999 r. i objęły rzepak, kukurydzę i burak cukrowy. Ocena ryzyka wprowadzenia roślin GM do środowiska powinna obejmować również badania efektu wtórnego i wpływ tych roślin na inne organizmy (przede wszystkim owady i ptaki). Kolejną istotną kwestią jest oszacowanie prawdopodobieństwa transferu genów do mikroorganizmów obecnych w glebie, jak również ocena wpływu uwalnianych do gleby białek będących produktami transgenów i ich wpływ na mikroorganizmy (20). Potencjalne ryzyko oszacowane dla danego typu modyfikacji może się zmieniać w czasie i przestrzeni z powodu zmiennych warunków środowiskowych, dlatego konieczne jest ciągle monitorowanie środowiska. Badania takie powinny być finansowane zarówno przez rząd jak i organizacje zajmujące się środowiskiem.



### 3. Transgeniczne formy rzepaku

Na świecie rzepak transgeniczny uprawiany jest na 18% z 26 mln hektarów i stanowi 5,0% wszystkich upraw genetycznie zmodyfikowanych roślin (1). W Kanadzie uprawiany jest od 1996 r. i stanowi 70% całkowitego areалу przeznaczonego pod uprawę rzepaku. Kanada eksportuje rocznie 3,5 mln ton rzepaku GM (21). Ponadto rzepak transgeniczny dopuszczony jest do uprawy w Stanach Zjednoczonych, Australii i Japonii.

Komercyjne transgeniczne formy rzepaku to (22):

- Laurical (linie 23-198 i 23-18-17) – o podwyższonej zawartości kwasu laurynowego dzięki obecności genu tioesterazy *BayTE*, wyprodukowany przez firmę Calgene,

- Westar (linia OXY 235) – odporna na bromoksynil dzięki obecności genu *bxn* kodującego nityrlazę hydrolizującą herbicyd, producent – Bayer CropScience,

- Roundup Ready (linie GT 73 i RT 2000) – odporne na glifosat dzięki obecności genu *CP4EPSPS*, który koduje syntazę 5-enolopirogronyloszikimiano-3-fosforanową o zredukowanym powinowactwie do glifosatu. Glifosat jest substancją czynną herbicydu Roundup wyprodukowanego przez firmę Monsanto,

- Liberty Link (linie Falcon GS 40/90, HCN10 i HCN92 pochodzące z linii TOPAS 19/2, HCN28 i Liberator L62) – odporne na glufosynat dzięki obecności w konstrukcji genu *pat* kodującego acetylotransferazę N-fosfinotricyny inaktywującą glufosynat poprzez acetylację. Glufosynat jest substancją czynną herbicydu Basta. Produkt Bayer CropScience,

- SeedLink (In Vigor) (mieszance MS1xRF1, MS1xRF2 i Ms8xRF3) – odporne na glufosynat i połączone z systemem restoracji płodności zawierające gen *pat*, gen męskiej sterility *barnase* oraz gen przywracający płodność *barstar*. Uzyskane zostały przez firmę Bayer CropScience.

Do tej pory Unia Europejska nie wydała zgody na uprawę rzepaku genetycznie zmodyfikowanego, natomiast zgodnie z Regulacją (EC) 258/97 (23) dopuszczony jest na rynek olej rzepakowy otrzymany z rzepaku GM, tolerancyjnego na herbicydy oraz produkty uzyskane przy jego użyciu. Regulacja ta zezwala na wprowadzenie na rynek produktów pochodzących z następujących linii rzepaku:

- TOPAS 19/2 (firma AgrEvo), MS1/RF1 i MS1/RF2 (firma Plant Genetic System) – dopuszczone 24.06.1997 r.,

- GT73 (firma Monsanto) – dopuszczona 21.11.1997 r.,

- Falcon GS 40/90 i Liberator L62 (firma Hoechst/AgrEvo) – dopuszczone 8.11.1999 r.,

- MS8/RF3 (firma Plant Genetic System) – dopuszczona 26.04.2000 r.

Do produkcji pasz zgodnie z Dyrektywą 2001/18/EC (4) mogą być wykorzystane cztery linie rzepaku GM:

- MS1/RF1 (firma Plant Genetic System) – dopuszczona 26.02.1996 r.,

- MS1/RF2 (firma Plant Genetic System) – dopuszczona 26.06.1997 r.,

- TOPAS 19/2 (firma AgrEvo) – dopuszczona 22.04.1998 r.,



– GT73 (firma Monsanto) – dopuszczona 31.08.2005 r.

Należy jednak pamiętać, że wszystkie dopuszczone produkty zawierające powyżej 0,9% składnika GM muszą być oznakowane zgodnie z Regulacją nr 258/97 (23). Nowa Regulacja 1829/2003 (24) nakłada obowiązek znakowania nie tylko produktów zawierających GMO, ale i produktów pochodzących i wytworzonych za pomocą GMO takich jak olej, cukier, lecytyna, jak również znakowanie pasz, dodatków do pasz, mąki i nasion.

#### **4. Możliwości współistnienia form rzepaku genetycznie zmodyfikowanego (GM) z formami konwencjonalnymi**

Aktualnie prowadzone są dyskusje nad poziomem dopuszczalnych zanieczyszczeń rzepaku przez nasiona GM, ponieważ takie zanieczyszczenia są technicznie nieuniknione podczas uprawy, transportu i przechowywania nasion rzepaku (25). Dlatego monitorowanie rzepaku pod kątem obecności rzepaku GM jest niezwykle ważną kwestią, tym bardziej, że istnieje prawdopodobieństwo niekontrolowanego przepływu nasion rzepaku genetycznie zmodyfikowanego do Polski w postaci zanieczyszczeń. Może to prowadzić do niekontrolowanego rozprzestrzeniania się rzepaku GM, ponieważ rzepak jest rośliną, której współistnienie w uprawie odmian GM z odmianami konwencjonalnymi jest bardzo trudne (26). Prof. Bartkowiak-Broda z Zakładu Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR, Poznań, wskazuje na łatwość krzyżowania się odmian rzepaku między sobą w obrębie gatunku, jak również na możliwość krzyżowania się rzepaku z licznymi gatunkami pokrewnymi (27). Rzekap (*Brassica napus*,  $2n = 38$  chromosomów, genom AACC) powstał wskutek spontanicznej hybrydyzacji rzepiku (*Brassica rapa*,  $2n = 20$ , AA) oraz kapusty (*Brassica oleracea*,  $2n = 18$ , CC). Wykazuje powinowactwo do gatunków z rodzaju *Brassica* (*B. rapa*, *B. juncea*, *B. carinata*, *B. nigra*) oraz do gatunków pokrewnych takich jak *Diplotaxis muralis* (dwurzęd murowy), *Raphanus raphanistrum* (rzodkiew świrzepa) czy *Erucastrum gallicum* (rukwiśląd francuski). Najłatwiej krzyżuje się z rzepikiem (*Agrimonia eupatoria*) i gorczycą sarepską (*B. juncea*), a zawiązane nasiona wydają potomstwo. Ta zdolność do krzyżowania z innymi licznymi gatunkami często występującymi wzdłuż rowów blisko pól uprawnych powoduje powstawanie chwastów rzepakopodobnych (rzepakochwastów) zanieczyszczających plantacje nasienne. Hybrydy *B. napus* x *B. rapa* często występują jako zanieczyszczenia powstające wskutek przepylecia podczas produkcji nasion. Cechą mającą szczególne znaczenie dla problemu współistnienia odmian GM i odmian niezmodyfikowanych jest to, że rzepak jest rośliną częściowo samo-, a częściowo obcopolną. Rzekapak produkuje dużą ilość pyłku, który może być przenoszony przez wiatr na odległość do 30 metrów i przez owady nawet do kilku kilometrów. Kwitnący łan jest bardzo atrakcyjny dla owadów ze względu na dużą liczbę i żółty kolor kwiatów odróżniany przez pszczoły, duże wydzielanie nektaru oraz dużą wartość odżywczą pyłku. Wśród owadów przenoszących pyłek rzepako-



wy 80-97% stanowią pszczoły domowe *Apis mellifera* oraz w zależności od miejsca, roku i okresu w roku pyłek mogą przenosić dzikie pszczoły z rodzajów *Andresa*, *Osmia*, *Halictus* oraz takie gatunki trzmieli jak *Bombus pratorum*, *Bombus terrestris*, *Bombus lapidarium*. Okres kwitnienia rzepaku ozimego w warunkach klimatycznych Polski przypada w maju, jest długi, trwa minimum dwa, trzy tygodnie. Rzepak jary kwitnie w lipcu i nieco krócej. Biologia kwitnienia i zapylania rzepaku umożliwia łatwe zapylenie krzyżowe w obrębie gatunku, nawet na duże odległości (28). Rzepak jest uważany za gatunek udomowiony stosunkowo niedawno, co wiąże się z jego potencjalnie łatwym powrotem do form dzikich i zasiedlaniem miejsc ruderalnych (29). Obecnie uważany jest za roślinę modelową w badaniach dotyczących oszacowania ryzyka przy wprowadzeniu do uprawy roślin GM na dużą skalę (30). Dodatkowym czynnikiem wpływającym na łatwość przekrzyżowania jest wysoka produktywność drobnych nasion. Masa 1000 ziaren wynosi około 3-5 g, a zatem w 1 kg znajduje się od 200 000 do 300 000 nasion. Nasiona rzepaku do kiełkowania nie wymagają okresu spoczynku (poza niektórymi odmianami rzepaku jarego). Jednak warunki niesprzyjające kiełkowaniu mogą zaindukować wtórny okres spoczynku i nasiona rzepaku mogą długo zachowywać w glebie zdolność do kiełkowania – 70% ziaren po 1,5 roku, a 60% po 5 latach (31). Nasiona te są wrażliwe na światło, a ich kiełkowanie zależy od sezonowego wzrostu temperatury gleby, co jest charakterystyczne dla gatunków dzikich zaadaptowanych do siedlisk ruderalnych. W 1998 r. w Kanadzie zidentyfikowano na polu samosiejkę rzepaku z odpornością jednocześnie na glifosat, glufosynat i imidazolinon, a w 1999 r. takie samosiejki odkryto na dalszych 11 polach (32). Świadczy to o przekrzyżowaniu się trzech odmian tolerancyjnych na herbicyd. Osypujące się nasiona, długo zachowujące w glebie zdolność kiełkowania, mogą być źródłem samosiewów i zanieczyszczeń plantacji nasiennych, a także produkcyjnych. Rozprzestrzenianie się genotypów GM-rzepaku może zachodzić również w wyniku mechanicznego zamieszania nasion w czasie zbiorów, przechowywania oraz transportu. Ze względu na te czynniki niebezpieczeństwo zamieszania rzepaku GM w Polsce jest bardzo realne (26). Również w badaniach prowadzonych w Europie Zachodniej wykazano, że przepływ genów z rzepaku transgenicznego do jego dzikich odpowiedników w konsekwencji jest nie do uniknięcia (17), tym bardziej, że w warunkach polowych obserwuje się spontaniczne krzyżowanie rzepaku z *B. rapa* subsp. *campestris* (rzepa jadalna) (33). W Polsce to zagrożenie jest większe ze względu na rozdrobnienie gospodarstw rolnych. Hodowcy donoszą, że pozbycie się zanieczyszczeń rzepaku jest bardzo trudne, o czym może świadczyć fakt, że w Polsce od ponad 20 lat uprawiany jest rzepak bezerukowy, a mimo to zachwaszczenie roślinami rzepaku erukowego utrzymuje się średnio na poziomie 3% (34). W Kanadzie w partiach komercyjnych konwencjonalnych, certyfikowanych nasion rzepaku wykrywa się nawet do wartości 0,25% produktów GM, co świadczy o trudności w utrzymaniu czystości nasion (35).



## 5. Wykrywanie rzepaku GM

W monitorowaniu środowiska znajdują zastosowanie powszechnie stosowane metody pozwalające wykryć genetyczne modyfikacje w rzepaku. W wielu przypadkach wystarczające dane otrzymujemy dzięki konwencjonalnej analizie jakościowej PCR, która pozwala na identyfikację linii czy wykrycie metodą screeningową najczęściej występujących elementów w konstrukcjach służących do transformacji roślin (promotor lub terminator). Wykorzystanie metod opartych na reakcji ELISA pozwala na identyfikację produktów białkowych danych transgenów. Najbardziej dokładną metodą, która umożliwia jednocześnie ilościową analizę roślin genetycznie zmodyfikowanych i produktów z nich pochodzących jest wykorzystanie techniki Real-time PCR (36). W metodzie tej powielane są specyficzne sekwencje transgeniczne, a ich ilość określana jest w stosunku do endogennego genu referencyjnego w próbce (Linkiewicz i in. w tym numerze „Biotechnologii”). Technika Real-time PCR jest stosowana do opracowywania metodyk ilościowego oznaczenia modyfikacji genetycznych przez Unijne Laboratorium Referencyjne (CRL-Community Reference Laboratory). Do tej pory przeprowadzono walidację jedynie dla ilościowej analizy genetycznej zmodyfikowanej soi i kukurydzy (37). Obecnie istnieje duże zapotrzebowanie na prowadzenie oznaczeń ilościowych GMO także w rzepaku (26).

Opracowanie i walidacja analiz ilościowych, które pozwalają na określenie wartości genetycznej modyfikacji w badanej próbce ma szczególne znaczenie w przypadku badań nasion, a także kontroli upraw polowych. Z tego powodu metody ilościowych oznaczeń GM powinny stać się narzędziem umożliwiającym monitorowanie GMO w środowisku i być użyteczne w realizacji projektów dotyczących biobezpieczeństwa i badania współistnienia różnych gatunków GM i nie-GM.

## Literatura

1. James C., (2005), ISAAA Briefs, No. 34, ISAAA, Ithaca, NY.
2. Protokół Kartageński, (2004), Dz.U., 2004, nr 216, poz. 2201.
3. Konwencja o bioróżnorodności, (2002), Dz.U., 2002, nr 184, poz. 1532.
4. Directive 2001/18/EC, Official Journal of the European Union L 106/1.
5. Ustawa o organizmach genetycznie zmodyfikowanych, (2001), Dz.U., 2001, nr 76, poz. 811.
6. Ellstrand N. C., (2003), *Dangerous Liaisons? When Cultivated Plant Mate with Their Wild Relatives*, Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, 268.
7. Rieger M. A., Potter T. D., Preston C., Powels S. B., (2001), *Theor. Appl. Genet.*, 103, 555-560.
8. Halfhill M. D., Millwood R. J., Raymer P. L., Steward Jr C. N., (2002), *Environ. Biosafety Res.*, 1, 19-28.
9. Ritala A., Nuutila A. M., Aikasalo R., Kauppinen V., Tammisola J., (2002), *Crop Sci.*, 42, 278-285.
10. Stewart Jr C. N., Halfhill M. D., Warwick S. I., (2003), *Nature*, 4, 806-817.
11. Devos Y., Reheul D., de Schrijver A., Cors F., Moens W., (2004), *Environ. Biosafety Res.*, 3, 135-148.
12. Ortiz-García S., Ezcurra E., Schoel B., Acevedo F., Soberon J., Snow A. A., (2005), *PNAS*, 102 (35), 12338-12343.

13. Devaux C., Lavigne C., Falentin-Guyomarc'h H., Vautrin S., Lecomte J., Klein E. K., (2005), *Molecular Ecology*, 14 (8), 2269-2280.
14. United States Department of Agriculture, (1999), Environmental Assessment and Finding of No Significant Impact: Response to AgrEvo USA Company Petition 98-278-01p for determination of Non-regulated Status for Glufosinate-ammonium Tolerant canola Event M58 and RF3.
15. Giddings G. D., Sacville Hamilton N. R., Hayward M. D., (1997a), *Theor. Appl. Genet.*, 94, 1000-1006.
16. Bartsch D., Schmidt M., (1997), *J. Vegetat. Sci.*, 8, 81-84.
17. Metz P. L. J., Jacobsen E., Nap J. P., Pereira A., Stiekema W. J., (1997), *Theor. Appl. Genet.*, 95, 275-282.
18. Advisory Committee on Releases to the Environment (ACRE), (2001), [www.defra.gov.uk/environment/acre/biodiversity/guidance/index.htm](http://www.defra.gov.uk/environment/acre/biodiversity/guidance/index.htm)
19. Timmons A. M., O'Brien E. T., Charters Y. M., Dubbels S. J., Wilinon M. J., (1995), *Euphytica*, 85, 417-423.
20. Glandorf D. C. M., Bakker P. A. H. M., van Loon L. C., (1997), *Acta Bot. Neerl.*, 46, 85-104.
21. [www.canola-council.org](http://www.canola-council.org)
22. [www.agbios.com](http://www.agbios.com)
23. Regulation (EC) No 258/97, Official Journal of the European Union L 43.
24. Regulation (EC) No 1829/2003, Official Journal of the European Union L 268/1.
25. Opinion of the Scientific Committee on plants concerning the adventitious presence of GM seeds in conventional seeds. Scientific Committee on Plants Report SCP/GMO-SEED-CONT/002-Final, 13 March 2001.
26. Bartkowiak-Broda I., (2005), *Nasz Rzepak*, 9, 22-26.
27. Bartkowiak-Broda I., (2005), *Technologia produkcji rzepaku* pod red. Cz. Muśnickiego, I. Bartkowiak-Brody, M. Mrówczyńskiego, 40-51.
28. McNaughton I. H., (1995), *Swedes and rapes*, in: *Evolution of Crop Plants*, London, UK: Longman, 68-75.
29. Conner A. J., Glare T. R., Nap J. P., (2003), *The Plant Journal*, 33, 19-46.
30. Beckie H. J., Warwick S. I., Nair H., Seguin-Swartz G., (2003), *Ecol. Applic.*, 13, 1276-1294.
31. Schlink S., (1994), *Ökologie der Keimung und Dormanz von Körnerraps (Brassica napus L.) und ihre Bedeutung für eine Überdauerung der Samen im Boden*, Dissertationes Botanicae, 222, Cramer, Berlin, Stuttgart, 194.
32. Hall L., Topinka K., Huffman J., Davis L., Good A., (2000), *Weed Science*, 48, 688-694.
33. Jorgensen R. B., Andersen B., Snow A., Hauser T., (1999), *Plant Biotechnol.*, 16, 69-71.
34. Krzymuski J., (2005), *Informator Krajowego Zrzeszenia Producentów Rzepaku*, nr 8.
35. Friesen L., Nelson A., van Acker R., (2003), *Agron. J.*, 95, 1342-134.
36. Pietsch K., Wiablinger H. U., (2000), *European Food Research and Technology*, in: Eds. Meuer S., Wittwer C., Nakagawara K., Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
37. <http://gmo-crl.jrc.it/>