Zastosowanie metod biologii molekularnej w badaniach w kierunku organizmów genetycznie zmodyfikowanych stosowanych w paszach w Polsce^{*)}

ZBIGNIEW SIERADZKI, MAŁGORZATA MAZUR, BEATA KRÓL, KRZYSZTOF KWIATEK

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 01.12.2016

Zaakceptowano 10.02.2017

Sieradzki Z., Mazur M., Król B., Kwiatek K.

Application of molecular biology in the studies towards genetically modified organisms used in feed in Poland

Summary

Genetically modified organisms are increasingly used in the production of feed and food, which has met with opposition from consumers. The aim of the study was the use of molecular biology methods with particular emphasis on techniques of real-time PCR in the research in the detection and identification of genetically modified feed. The research materials were samples of feed taken from feed produced and used in animal nutrition in Poland in the years 2004-2015. The applied research methods included PCR and real-time PCR techniques, and consisted in the detection and determination of the DNA content of genetically modified plants. Cascade methods used in this study included the screening method of detection of GMOs, the method of identifying the type of GMO, and methods of quantitative analysis of GMO content. As part of the research task in the years 2004-2015 a total of 1435 samples of feed towards GMOs were examined. A positive result was found in 559 cases (39%). Most frequently the positive samples were found the presence of genetically modified soybeans (531, 37%). Moreover, within the years 2014-2015 an increase in the number of positive GM rape samples was observed (56, 4%). GM maize contained the least positive samples (38, 2.6%). GMO content above the legislative threshold 0.9% was found in the vast majority of samples containing GM soy, while for maize and rapeseed the number of samples containing more than 0.9% GMO was respectively 12 and 8. Analysis of the feed market in Poland indicates that the soybean plant is the most common genetically modified crop. Analysis of the origin of sources of GM rapeseed showed that the reasons for this should be sought in batches of rapeseed imported from third countries. It has been observed with regard to the situation of GM maize for the feed market in Poland that from 2013 the situation changed radically as a result of the Decree of the Ministry of Agriculture issued prohibiting the cultivation of MON810 maize on Polish fields. The result of our study showed that the proportion of genetically modified feed on the feed market in Poland is very similar to other EU countries. The source of GMOs in feed on the Polish market is feed materials imported into Poland as a source of feed protein.

Keywords: genetically modified organisms, molecular biology, GM feed

Organizmy genetycznie zmodyfikowane (GMO) znajdują coraz szersze zastosowanie nie tylko w rozwoju nauki, w produkcji leków i szczepionek przez mikroorganizmy genetycznie zmodyfikowane, ale również w produkcji pasz i żywności (6, 9, 18). W odniesieniu do pasz i żywności wykorzystuje się modyfikacje genetyczne mikroorganizmów, m.in. w celu produkcji różnych dodatków, jak: enzymy, witaminy, białka, aminokwasy oraz modyfikacje roślin uprawnych, obecnie głównie w celu poprawy ekonomiki produkcji, ochrony roślin przed szkodnikami czy

zachwaszczeniem upraw. Pierwsze genetyczne modyfikacje roślin uprawnych, które znalazły zastosowanie w komercyjnych uprawach na świecie, odnotowano już w 1996 r. Przez minionych 20 lat obserwowano coroczny, stały wzrost stosowania roślin genetycznie zmodyfikowanych (GM) w produkcji globalnej. W 2015 r. łączny areal upraw roślin GM wynosił 179,7 mln ha (5). Do krajów, gdzie rośliny GM uprawia się powszechnie należą: USA (70,9 mln ha), Brazylia (44,2 mln ha), Argentyna (24,5 mln ha), Indie (11,6 mln ha) i Kanada (11 mln ha). Są to kraje, w których zastosowanie roślin GM jest największe w skali całego

^{*)} Praca nagrodzona na XV Kongresie PTNW, Lublin, 22-24 września 2016 r.

świata, natomiast uprawy roślin transgenicznych są powszechne także w Azji (Chiny, Pakistan, Filipiny, Bangladesz), Australii czy Afryce (RPA, Burkina Faso, Sudan). Główne gatunki roślin GM obejmują soję (92 mln ha, 83% upraw ogółem), kukurydzę (53,7 mln ha, 29% upraw ogółem), bawełnę (24 mln ha, 75% upraw ogółem) i rzepak (8,6 mln ha, 24% upraw ogółem). Uprawiane obecnie rośliny transgeniczne charakteryzują się modyfikacjami DNA, które uodporniają je na działanie związków czynnych herbicydów lub szkodników owadów. Pozwala to rozwiązywać problemy zachwaszczania upraw lub eliminować szkody wyrządzone przez szkodniki owadów bez zastosowania dużej ilości chemicznych środków ochrony roślin, jak ma to miejsce w wielkotowarowej uprawie roślin, w oparciu o rośliny odmian tradycyjnych, niemodyfikowanych genetycznie. Doniesienia naukowe wskazują na znaczną redukcję zużycia chemicznych środków ochrony roślin po wprowadzeniu upraw GMO. Zastosowanie GMO do produkcji leków czy zastosowania przemysłowe nie wzbudzają tak wielkiego zainteresowania, jednocześnie nie są przedmiotem wielu kontrowersji i sporów na polu nauki, etyki, a najczęściej przekonań i indywidualnych preferencji konsumentów, jak stosowanie GMO w przemyśle żywnościowym i paszowym. Wykorzystywanie GMO w produkcji pasz i żywności spotyka się ze znacznym sprzeciwem społeczeństwa, organizacji konsumenckich i ekologów (2, 13). W wyniku istniejącej sytuacji pasze i żywność genetycznie zmodyfikowane są przedmiotem wielu opracowań naukowych, które zdecydowanie wskazują, że modyfikacje genetyczne stosowane obecnie nie powodują wzrostu zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt (3, 8, 19). Istniejące kontrowersje były przyczyną opracowania uregulowań prawnych odnoszących się do zastosowania GMO w pracach badawczych oraz jako składników żywności i pasz, w celu ochrony interesów konsumentów oraz dla ograniczenia potencjalnie negatywnego wpływu GMO na stan środowiska naturalnego (14-17, 20). Prawo w tym zakresie reguluje m.in. kwestię znakowania żywności i pasz genetycznie zmodyfikowanych w celu zapewnienia konsumentom świadomego wyboru pomiędzy produktami z GMO a produktami tradycyjnego rolnictwa. Znakowanie takie powinno być potwierdzone rzetelnymi wynikami badań w kierunku obecności i zawartości GMO, które wykonywane są najczęściej metodami biologii molekularnej, w tym real-time PCR.

Celem niniejszej pracy było zastosowanie metod biologii molekularnej, ze szczególnym uwzględnieniem techniki real-time PCR, w badaniach w kierunku określenia zakresu stosowania roślin genetycznie zmodyfikowanych w produkcji pasz i żywieniu zwierząt gospodarskich w Polsce.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły próbki pasz, w tym materiały paszowe, dodatki paszowe i gotowe mieszanki paszowe,

Tab. 1. Zakres badań w kierunku roślin genetycznie zmodyfikowanych

Gatunek/rodzaj badań	Linia GMO/sekwencja DNA	Symbol metody EURL GMFF/piśmiennictwo
Soja	GTS 40-3-2	–/(5)
Kukurydza	MON810 Bt11 Bt176 T25	QT-EVE-ZM-020/(1) QT-EVE-ZM-006/(1) QT-CON-00-007/(1) QT-EVE-ZM-011/(1)
Rzepak	GT73 Rf3 Ms8 T45	QT-EVE-BN-004/(1) QT-EVE-BN-003/(1) QT-EVE-BN-002/(1) QT-EVE-BN-001/(1)
Badania przesiewowe na obecność roślin GM – poszukiwane sekwencje DNA	CaMV 35S T-nos pFMV nptII pat bar CTP4-CP2-EPSPS	QL-ELE-00-004/(1) QL-ELE-00-009/(1) QL-ELE-00-010/(1) QL-ELE-00-002/(1) QT-ELE-00-002/(1) QL-ELE-00-014/(1) QL-CON-00-008/(1)

pobierane z pasz produkowanych i stosowanych w żywieniu zwierząt w Polsce w latach 2004-2015. Próbkę o masie od 500 g (gotowe mieszanki paszowe, drobnoziarniste materiały paszowe) do 3 kg (ziarna kukurydzy) pobierane były losowo z terenów centralnej oraz południowo-wschodniej Polski i obejmowały pasze dla wszystkich gatunków zwierząt gospodarskich. Charakterystyka badanych pasz obejmowała pełen przekrój pasz stosowanych w żywieniu zwierząt w Polsce. Zastosowane w badaniach metody obejmowały technikę PCR oraz real-time PCR i polegały na wykrywaniu oraz oznaczaniu zawartości DNA roślin genetycznie zmodyfikowanych dla próbek dodatnich. Zakres analityczny dla poszczególnych gatunków roślin zestawiono w tabeli 1. Kaskada zastosowanych metod obejmowała metody przesiewowej detekcji GMO, metody identyfikujące rodzaj GMO oraz metody ilościowej analizy zawartości GMO. Materiały paszowe pochodzące z pojedynczych gatunków roślin uprawnych, jak śruta sojowa, badano wyłącznie w kierunku modyfikacji danego gatunku roślin. Mieszanki paszowe badano wielokierunkowo, tj. badania takie dotyczyły obecności i zawartości soi, kukurydzy bądź rzepaku genetycznie zmodyfikowanych, a wykonywana analiza poszczególnych gatunków GMO zależała od składu mieszanki paszowej.

Pierwszy etap badań obejmował homogenizację próbek w młynku laboratoryjnym (Retsch ZM200) o wielkości oczka sita 0,5 mm. Do kolejnego etapu badań, tj. izolacji DNA, z każdej próbki pobierano po dwie naważki o masie 1 g. Izolację DNA wykonywano metodą CTAB opisaną w normie przedmiotowej PN-EN ISO 21571:2006/A1:2013-06 (12). Uzyskaną zawiesinę DNA oceniano poprzez pomiar ilości i jakości uzyskanego genomowego DNA. Stężenie kwasu nukleinowego DNA mierzono porównując absorbancję dla czystego rozpuszczalnika i roztworu DNA przy długości fali 260 nm. Jakość DNA oceniano na podstawie pomiaru wartości współczynników absorbancji A_{260}/A_{280} i A_{260}/A_{230} (podane liczby odnoszą się do długości fali pomiaru) z wniesieniem poprawki pomiaru przy 320 nm, wyznaczającej wpływ czystości stosowanych kuwet. Pomiar stężenia i jakości DNA wykonywano na spektrofotometrze Nicolette Evolution 300 (ThermoSpec-

tronic) z wykorzystaniem kuwet niskich objętości jednorazowego użytku UVette (Eppendorf).

DNA wyizolowane z próbek, standaryzowane na stężenie robocze 40 ng/μl, stanowiło w dalszej kolejności matrycę w badaniach z zastosowaniem metod przesiewowej detekcji GMO. Obejmowały one zastosowanie techniki PCR (dla sekwencji DNA: CaMV 35S, T-nos, pFMV i nptII) oraz real-time PCR (dla sekwencji DNA: pat, bar, CTP2-CP4-EPSPS) do wykrywania genów (pat, bar), promotorów (CaMV 35S, pFMV) lub terminatorów genów (T-nos) oraz części konstruktorów genowych (CTP2-CP4-EPSPS). Wymienione elementy genetyczne stosowane są często w wielu roślinach genetycznie zmodyfikowanych. Taka zależność umożliwiała kwalifikację próbek, jako potencjalnie dodatnich i ujemnych, w odniesieniu do obecności roślin GM. Dodatni wynik próbki dla którejkolwiek z metod przesiewowej detekcji GMO wskazywał na konieczność dalszych badań w celu identyfikacji linii GMO i ewentualnie określenie jej zawartości w próbce. W tym celu stosowano metody specyficzne dla poszczególnych linii GMO, zwalidowane i uznane za zalecane do badań GMO w całej Unii Europejskiej. Do identyfikacji linii GMO i oznaczenia jej zawartości stosowano metody wykorzystujące technikę real-time PCR (1, 4). Kompendium metod dostępne jest na stronie internetowej Laboratorium Referencyjnego Unii Europejskiej ds. Żywności i Pasz Genetycznie Zmodyfikowanych (EURL GMFF) (1). Zostały one również częściowo włączone do norm przedmiotowych PN-EN ISO 21569:2007/A1:2013-07 i PN-EN ISO 21570:2007/A1:2013-06, odnoszących się do jakościowej i ilościowej analizy GMO w paszach i żywności (10, 11). Podczas badań stosowano startery PCR i sondy TaqMan o sekwencjach podanych w przytoczonej metodyce, syntetyzowane w specjalistycznym laboratorium (Genomed). Profile temperaturowo-czasowe reakcji, skład mieszanin reakcyjnych, w tym buforów dla techniki PCR (Perpetual Taq DNA, EurX) i real-time PCR (TaqMan Universal PCR MasterMix, Applied Biosystems – ThermoFisher Scientific), stężenia starterów i/lub sond zastosowane w badaniach zostały zoptymalizowane i zwalidowane. PCR wykonywano w aparacie PCR (SensoQuest), a produkty reakcji rozdzielano w komorze do elektroforezy (Biorad) przy napięciu 5 V/cm w 2% żelu agarozowym (Fermentas) zanurzonym w buforze TBE (Fermentas). Pomiar długości produktu PCR względem wzorca długości DNA O'GeneRuler 50 bp DNA Ladder (Fermentas) następował po wybarwieniu DNA barwnikiem SimplySafe (EurX). Reakcje real-time PCR, dla większości z badanych linii GMO, wykonywano w aparacie typu studzienkowego ABI7500

(Applied Biosystems – ThermoFisher Scientific) lub typu kapilarnego LightCycler 2.0 (Roche), wyłącznie dla oznaczeń zawartości soi GM linii GTS 40-3-2. Oprogramowania obu aparatów wykorzystywano do potwierdzenia lub wykluczenia obecności GMO oraz oznaczenia zawartości GMO na podstawie wykreślanych krzywych kalibracyjnych.

Wyniki i omówienie

W ramach zadania badawczego w latach 2004-2015 zbadano łącznie 1435 próbek pasz w kierunku soi, kukurydzy i rzepaku genetycznie zmodyfikowanych. Wynik dodatni, tj. obecność GMO w badanym materiale, stwierdzono w 559 przypadkach (39%), a najczęściej identyfikowano soję genetycznie zmodyfikowaną (531, 37%). Liczba próbek, w których zawartość GMO przekraczała próg legislacyjny 0,9% wynosiła 540 (38%) i obejmowała 520 próbek z soją GM, 12 próbek z kukurydzą GM i 8 próbek z rzepakiem GM. Aby obraz sytuacji był właściwy, należy wspomnieć, że analiza wyników obejmuje 712 badań w kierunku rzepaku GM oraz 368 analiz w kierunku kukurydzy GM, które uprawia się w Polsce, wykorzystując linie roślin niemodyfikowanych genetycznie. Taki przekrój badanych próbek zaniżył znacząco odsetek próbek dodatnich w stosunku do rzeczywistego charakteru pasz stosowanych w Polsce, gdzie od wielu lat głównym źródłem białka paszowego pozostaje soja z upraw genetycznie zmodyfikowanych, importowana do Europy głównie z Argentyny i Brazylii (7, 13). Stosowanie soi w żywieniu zwierząt zostało wymuszone wprowadzeniem zakazu stosowania mączek mięsno-kostnych w latach 90., po zwiększeniu występowania BSE u krów w Europie (7, 21). Dotychczasowe źródło białka w postaci mączek mięsno-kostnych doskonale zastąpiła bogata w wysokiej jakości białko śruta sojowa, dla której nie istnieje, jak dotąd, rzeczywista alternatywa w postaci rodzimych, uprawianych w Europie roślin wysokobiałkowych. Śruty rzepakowe stanowią dodatkowe lub uzupełniające źródło białka paszowego i z reguły wchodzi w skład mieszanek paszowych zawierających również soję genetycznie zmodyfikowaną. Szacuje się, że 95% soi stosowanej w żywieniu zwierząt w UE jest genetycznie zmodyfikowana (13), główne linie soi GM stosowane w UE to do niedawna prawie wyłącznie GTS 40-3-2, a w ostatnich latach również MON89788 czy A5547-127 (wszystkie cha-

Tab. 2. Wyniki badań próbek pasz na obecność i zawartość GMO

Rodzaj analizy GMO	Liczba zbadanych próbek	Próbki dodatnie/ zawartość GMO > 0,9%	Próbki ujemne
Soja GM	553	531 (37%)**/520	22
Kukurydza GM	368	38 (2,6%)**/12	330
Rzepak GM	712	56 (4%)**/8	656
Liczba zbadanych próbek łącznie	1435*	559 (39%)/540	876 (61%)

Objaśnienia: * – dla części próbek wykonywano analizy łączone dla soi, kukurydzy i rzepaku; ** – odsetek z liczby wszystkich badanych próbek

akteryzuje odporność na działanie herbicydów). Ma to szczególne znaczenie w chowie drobiu i świń, dla których pasza bogata w białko pochodzące ze śruty sojowej jest obecnie niezbędna. Produkcja pasz przemysłowych wykorzystywana jest głównie na potrzeby chowu wspomnianych gatunków zwierząt, zatem również rzeczywisty odsetek pasz przemysłowych zawierających GMO jest wysoki, bliski poziomu 95%, co wskazuje na powszechne stosowanie pasz genetycznie zmodyfikowanych w żywieniu dużej części zwierząt gospodarskich w Polsce.

W latach 2014-2015 zaobserwowano wzrost liczby próbek zawierających rzepak genetycznie zmodyfikowany. Do 2014 r. odnotowano tylko dwa przypadki obecności rzepaku GM linii T45 w badanych materiałach, natomiast w latach 2014-2015 liczba wyników dodatnich wzrosła do 56, co stanowiło 4% ogółu próbek dodatnich. Odnosząc liczbę próbek z rzepakiem GM do ogólnej liczby analiz w kierunku rzepaku GM, odsetek jest dwukrotnie większy. Sytuacja rzeczywista w latach 2014-2015 wskazywała, że około 10-25% rzepaku stosowanego w Polsce zawierało zanieczyszczenia rzepakiem GT73. Wynikało to z liczby przypadków wykrytych próbek dodatnich i liczby badań w tym kierunku w latach 2014 i 2015. Zawartość rzepaku genetycznie zmodyfikowanego w próbkach dodatnich stwierdzonych do 2015 r. tylko w 8 przypadkach przekroczyła próg 0,9% i ograniczała się do rzepaku linii GT73. Analiza pochodzenia źródła opisywanego rzepaku GM wykazała, że przyczyną takiego stanu rzeczy należy poszukiwać w partiach śrut rzepakowych importowanych do Polski z krajów trzecich. Obecność rzepaku GM ogranicza się do występowania linii zarejestrowanej do stosowania w UE pod kodem GT73, jest to rzepak uodporniony na działanie herbicydu Roundup. Rzekpak GT73 może być stosowany jako składnik żywności lub paszy, nie można natomiast uprawiać go na terenie UE. Import i wymiana handlowa z krajami trzecimi towarami rolnymi powoduje napływ GMO do UE, w tym rzepaku GT73, co potwierdzały wyniki naszych badań z partii towarów pochodzących spoza UE.

Najmniej próbek dodatnich dotyczyło obecności kukurydzy genetycznie zmodyfikowanej (38, 2,6%). W stosunku do liczby próbek badanych dla kukurydzy odsetek próbek dodatnich rośnie do poziomu prawie 10%. Stwierdzane przypadki obecności kukurydzy GM obejmowały głównie linię MON810, dopuszczoną do uprawy na terenie UE. Z pozostałych linii kukurydzy genetycznie zmodyfikowanej stwierdzono również obecność Bt11, Bt176 i T25. Zawartość kukurydzy GMO, powyżej progu legislacyjnego 0,9%, stwierdzono tylko dla 12 próbek i dotyczyło to kukurydzy MON810 stwierdzanej w paszach do roku 2012. Obraz stosowania kukurydzy GM na rynku paszowym w Polsce uległ diametralnej zmianie w wyniku wydanego w 2012 r. Rozporządzenia Ministerstwa Rolnictwa zakazującego uprawy kukurydzy MON810 na polskich polach (17). W wyniku zakazu uprawy kukurydzy MON810 od 2013 r. liczba próbek dodatnich zmalała znacząco do pojedynczych próbek dodatnich w danym roku kalendarzowym. Wyniki badań wskazują na stosowanie w produkcji pasz i żywieniu zwierząt kukurydzy rodzimej produkcji, odmian niezmodyfikowanych genetycznie. Podobnie jak w przypadku rzepaku ewentualnych źródeł obecności kukurydzy GM należy upatrywać w importowanych surowcach lub gotowych mieszankach paszowych.

Analiza rynku pasz w Polsce wskazuje, że soja jest najczęściej stosowaną rośliną genetycznie zmodyfikowaną w produkcji pasz i żywieniu zwierząt. Wyniki badań własnych wykazały, że udział pasz genetycznie zmodyfikowanych na rynku pasz w Polsce jest bardzo podobny do innych krajów UE, a źródłem GMO są materiały paszowe importowane do UE w celu pokrycia zapotrzebowania na białko paszowe.

Piśmiennictwo

1. Bonfini L., van den Bulcke M. H., Mazzara M., Ben E., Patak A.: GMO-METHODS: The European Union Database of Reference Methods for GMO Analysis. *J. AOAC Int.* 2012, 95, 1713-1719.
2. Clancy K. A., Clancy B.: Growing monstrous organisms: the construction of anti-GMO visual rhetoric through digital media. *Crit. Stud. Media Comm.* 2016, 33, 279-292.
3. Flachowsky G., Schafft H., Meyer U.: Animal feeding studies for nutritional and safety assessments of feeds from genetically modified plants: a review. *J. Verbr. Lebensm.* 2012, 7, 179-194.
4. Hubner P., Waiblinger U., Pietsch K., Brodmann P.: Validation of PCR Methods for Quantitation of Genetically Modified Plants in Food. *J. AOAC Int.* 2001, 6, 1855-1864.
5. James C.: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2015. ISAAA Brief. 51, 2015.
6. Kamthan A., Chaudhuri A., Kamthan M., Datta A.: Genetically modified (GM) crops: milestones and new advances in crop improvement. *Theor. Appl. Genet.* 2016, 129, 1639-1655.
7. Martin N.: What is the way forward for protein supply? The European perspective. *OCL.* 2014, 21, D403, 1-8.
8. Nicolai A., Manzo A., Veronesi F., Rosellini D.: An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2014, 34, 77-88.
9. Parisi C., Tillie P., Rodriguez-Cerezo E.: The global pipeline of GM crops out to 2020. *Nature Biotechnol.* 2016, 34, 31-36.
10. PN-EN ISO 21569:2007/A1:2013-07. Artykuły żywnościowe. Metody wykrywania organizmów zmodyfikowanych genetycznie i produktów pochodnych. Metody jakościowe oparte na kwasach nukleinowych.
11. PN-EN ISO 21570:2007/A1:2013-06. Artykuły żywnościowe. Metody wykrywania organizmów zmodyfikowanych genetycznie i produktów pochodnych. Metody ilościowe oparte na kwasach nukleinowych.
12. PN-EN ISO 21571:2006/A1:2013-06. Artykuły żywnościowe. Metody wykrywania organizmów zmodyfikowanych genetycznie i produktów pochodnych. Ekstrakcja kwasów nukleinowych.
13. Popp J., Peto K., Magda R., Lakner Z.: Economic Impact of GM Hysteria on EU Feed Market. *Am. J. Plant Sci.* 2013, 4, 1547-1553.
14. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 619/2011 z dnia 24 czerwca 2011 r. ustanawiające metody pobierania próbek i dokonywania analiz do celów urzędowej kontroli paszy pod kątem występowania materiału genetycznie zmodyfikowanego, dla którego procedura wydawania zezwolenia jest w toku lub dla którego zezwolenie wygasło. *OJ*, 2011, L 166, 9-15.
15. Rozporządzenie Rady Ministrów z dnia 2 stycznia 2013 r. w sprawie zakazu stosowania materiału siewnego odmian kukurydzy MON 810. *Dz. U.* 2013 r., poz. 39.
16. Rozporządzenie (WE) Nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie zmodyfikowanej genetycznie żywności i paszy. *OJ*, 2003, L 268, 1-23.
17. Rozporządzenie (WE) Nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczące możliwości śledzenia i etykietowania organizmów zmodyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniające dyrektywę 2001/18/WE. *OJ*, 2003, L 268, 24-28.
18. Sieradzki Z., Mazur M., Kwiatek K.: Wybrane aspekty stosowania organizmów genetycznie zmodyfikowanych w żywieniu zwierząt gospodarskich i medycynie weterynaryjnej. *Med. Weter.* 2014, 70, 663-668.
19. Snell C., Bernheim A., Berge J. B., Kuntz M., Pascal G., Paris A., Riccioch A. E.: Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: a literature review. *Food Chem. Toxicol.* 2012, 50, 1134-1148.
20. Ustawa z dnia 22 lipca 2006 r. o paszach (tekst jednolity). *Dz. U.* 2014, poz. 398, 6-27.
21. Weiner A., Paprocka I., Gołębiowska A., Kwiatek K.: Occurrence of animal-origin constituents in feeds. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2015, 59, 59-63.

Adres autora: dr inż. Zbigniew Sieradzki, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: zbigniew.sieradzki@piwet.pulawy.pl