

**Príloha č. 3****Posudok z hodnotenia rizika**

(podľa § 8, vyhlášky 399/2005 Z.z. v platnom znení)

Hodnotenie rizika je v tejto žiadosti uskutočnené podľa Smernice 2001/18/ES, časti B, a zákona č. 151/2002 Z.z. v platnom znení.

Analýza vlastností GM cukrovej repy H7-1, s prihliadnutím ku skúsenostiam z pestovania tradičnej cukrovej repy v rámci EU, ukázala, že riziko potenciálnych nežiaducich účinkov na zdravie ľudí, zvierat a smerom k životnému prostrediu, vyplývajúcich z plánovaných pokusov s hybridmi vyššie uvedenej GM cukrovej repy, je možné považovať za zanedbateľné.

Vzhľadom k skutočnosti, že celkové riziko vyplývajúce z použitia GM cukrovej repy H7-1 smerom k životnému prostrediu je zanedbateľné, nie sú tu uplatňované žiadne špecifické stratégie pre manažment rizika alebo monitoring. To však nevyklučuje povinnosť sledovania možného výskytu burinnej rastúcej repy v nasledujúcom roku po zbere pokusov.

Odkazy k bodom, tabuľkám či obrázkom, použité v hodnotení rizika (viď nižšie), referujú k textu vlastnej žiadosti .

**Hodnotenie rizika****1. Hodnotenie možných škodlivých účinkov nakladania s líniami a hybridmi cukrovej repy, odvodenými z geneticky transformovanej línie H7-1 odolnej voči herbicídu glyfozát v spojení s:*****1.1. príjemcom***

Cukrová repa (*Beta vulgaris*) sa v Európe intenzívne pestuje takmer 200 rokov. Pestované odrody cukrovej repy nie sú ani perzistentné, ani invazívne, a iba zriedkavo sa nájdu medzi inými plodinami alebo na prirodzených stanovištiach. Pestovanie cukrovej repy sa nepovažuje za problém z hľadiska zaburinenia poľnohospodárskych plôch, a na prirodzených stanovištiach prežíva iba v prípade veľmi slabej konkurencie ostatných druhov.

***1.2. s vloženým dedičným materiálom (pôvodom z darcovského organizmu)***

Hybridy cukrovej repy, odvodené z geneticky transformovanej línie H7-1 a odolné voči herbicídu glyfozát vznikli použitím štandardných šľachtiteľských metód vnútrodruhej hybridizácie a obsahujú dedičný materiál introdukovaný do línie H7-1 cukrovej repy prostredníctvom genetickej transformácie s využitím *Agrobacterium tumefaciens*. Tento dedičný materiál tvorí expresná kazeta génu *cp4 epsps*, nachádzajúca sa v T-DNA oblasti transformačného vektora PV-BVGT08.

Genetické elementy vnesené do genómu cukrovej repy H7-1, ktoré sú prítomné medzi pravou a ľavou hraničnou sekvenciou T-DNA plasmidu PV-BVGT08, tvoria súčasť expresnej kazety génu *cp4 epsps*, pozostávajúcej z promotora 35S z modifikovaného vírusu mozaiky krtičníka (P-FMV), zavádzacej sekvencie génu *ctp2* z *Arabidopsis thaliana* pre expresiu v chloroplaste, kódujúcej sekvencie *cp4 epsps* z *Agrobacterium* sp., kmeňa CP4, a neprekladanej sekvencie E9 3' z génu *rbcS* E9 hrachu siateho (*Pisum sativum*). Opis

jednotlivých genetických prvkov a ich funkcií je uvedený v časti 2.4, Tab. 3 a v časti 2.5 vlastnej žiadosti.

Nie je známe, že by dedičný materiál, ktorý bol vnesený do rastlín cukrovej repy, uvedený v Tab 3. a charakterizovaný v bode 2.5. predkladanej žiadosti, mal škodlivé účinky na zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

Je možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s vloženým dedičným materiálom, je možné považovať za zanedbateľné.

### 1.3. s vektorom

Na vytvorenie cukrovej repy H7-1 prostredníctvom genetickej transformácie využitím *Agrobacterium tumefaciens* bol použitý odzbrojený binárny vektor PV-BVGT08, ktorý obsahuje oblasť DNA (T-DNA) ohraničenú sekvenciami pravého a ľavého okraja, ktoré nesú expresnú kazetu génu *cp4 epsps*, spôsobujúceho toleranciu ku glyfozátu.

Vektor PV-BVGT08 je odzbrojený binárny vektor rastlinnej transformácie *Agrobacterium tumefaciens* so zdvojenými hraničnými sekvenciami, pozostávajúci z 8590 bp. Obsahuje sekvencie DNA, ktoré sú nevyhnutné pre prenos T-DNA do bunky. Tieto sekvencie sa nazývajú oblasťami pravého okraja (RB) a ľavého okraja (LB), a každá oblasť obsahuje sekvenciu s 21-25 bp, definujúcimi rozsah DNA o ktorom sa predpokladá že bude prenesený do rastlinného genómu. Genetické elementy prítomné medzi okrajmi T-DNA sú v poradí od pravého okraja k ľavému okraju nasledovné:

- promótor 35S (P-FMV) z modifikovaného vírusu mozaiky krtičníka (*Figwort mosaic virus*);
- zavádzacia sekvencia génu *ctp2* z arábkovky Thalovej (*Arabidopsis thaliana*) pre expresiu v chloroplaste (*ctp2*);
- kódovacia sekvencia génu *epsps* z baktérie *Agrobacterium* sp. kmeň CP4 (*cp4 epsps*), a
- neprekladaná sekvencia E9 3' z génu *rbcS* E9 (E9 3') hrachu siateho (*Pisum sativum* L.).

Promótor, zavádzacia sekvencia, kódovacia sekvencia a nepreložená sekvencia E9 3' tvoria expresnú kazetu *cp4 epsps*.

Plazmid PV-BVGT08 okrem toho obsahuje konštitutívny bakteriálny markerový gén *aadA*, zabezpečujúci rezistenciu k spektinomycínu a streptomycínu, ako aj počiatky replikácie DNA (*ori-V* a *ori-322*), potrebné pre replikáciu a udržanie plazmidu PV-BVGT08 v baktériách. Všetky posledne menované genetické prvky sú umiestnené mimo oblasti T-DNA. Podľa očakávania, žiadny z týchto prvkov (*aadA*, *ori-V*, *ori-322*) nebol zavedený do genómu cukrovej repy H7-1.

Gén *cp4 epsps* bol pôvodne izolovaný z *Agrobacterium* sp. kmeň CP4 a kóduje 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntázu (CP4 EPSPS), ktorá je na rozdiel od väčšiny prirodzených rastlinných a mikrobiálnych EPSPS enzýmov prirodzene odolná voči glyfozátu (Padgett *et al.*, 1996a). EPSPS katalyzuje konverziu šikimát-3-fosfátu (S3P) a fosfoenolpyruvátu (PEP) na 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát (EPSP), medziprodukt nutný pre tvorbu aromatických aminokyselín (Haslam, 1974; Herrmann, 1983). Gén *cp4 epsps* kóduje CP4 EPSPS, proteín veľkosti 47,6 kDa, pozostávajúci z jediného polypeptidu so 455 aminokyselinami, ktorý je vysoko odolný voči glyfozátu a ktorý zabezpečuje toleranciu ku glyfozát pri rastlinách (Padgett *et al.*, 1996a).

Genetická mapa vektora PV-BVGT08 je znázornená na Obr. 1 a opis jednotlivých genetických prvkov plazmidu, ich veľkostí a funkcií je uvedený v časti 2.4, Tab. 3 predkladanej žiadosti.

Nie sú známe žiadne spôsoby škodlivosti použitých vektorov, je teda možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s vektorom, je možné považovať za zanedbateľné.

#### **1.4. s vložením konštruktú**

Na vytvorenie cukrovej repy línie H7-1 bol použitý transformačný systém využívajúci na vnášanie cudzorodých génov do rastlinného genómu baktériu *Agrobacterium tumefaciens*. Klíčne listy diploidnej fertílnej línie cukrovej repy boli ošetrované suspenziou *A. tumefaciens* nesúcich binárny transformačný vektor označovaný PV-BVGT08 a *in vitro* kultúre regenerované transformované rastliny. Transformačný systém prostredníctvom *A. tumefaciens* je známy transferom a stabilnou integráciou časti DNA vektorového plazmidu, tzv. T-DNA („*transferred DNA*“) ohraničenej sekvenciami pravého (pravá hraničná sekvencia, RB, „*right border sequences*“) a ľavého okraja (pravá hraničná sekvencia, LB, „*right border sequences*“). T-DNA plazmidu PV-BVGT08 nesie expresnú kazetu génu *cp4 epsps*, zabezpečujúcu v rastlinách exprimujúcich tento gén toleranciu ku glyfozátu.

Nie je známe, že by vložením expresnej kazety génu *cp4 epsps* do rodičovskej línie cukrovej repy došlo k mutácii niektorého génu, významného pre funkciu genómu hostiteľa. Je teda možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s vložením konštruktú je možné považovať za zanedbateľné.

#### **1.5. so signálnymi a selekčnými génmi**

Pôvodná genetická transformácia bola vykonaná použitím viacklíčkovej línie cukrovej repy KWS, chránenej vlastníckymi právami. Ako zdroj explantátu boli použité klíčne listy, získané zo sterilných klíčnych rastlín línie 3S0057 cukrovej repy (KWS SAAT AG). Transformácia sa uskutočnila s využitím suspenzie *Agrobacterium tumefaciens*, obsahujúcej plazmid PV-BVGT08. Napokon bol na selekciu predpokladaných transformačných udalostí použitý ako selekčné činidlo glyfozát.

Expresná kazeta génu *cp4 epsps*, t.j. oblasť medzi pravou a ľavou hraničnou sekvenciou T-DNA plazmidu PV-BVGT08 sa skladá z promotora 35S z modifikovaného vírusu mozaiky krtičníka (P-FMV), zavádzacej sekvencie génu *ctp2* z *Arabidopsis thaliana* pre expresiu v chloroplaste, kódujúcej sekvencie *cp4 epsps* z *Agrobacterium* sp., kmeňa CP4, a neprekladanej sekvencie E9 3' z génu *rbcS* E9 hrachu siateho (*Pisum sativum*). Okrem vyššie vymenovaných genetických elementov expresnej kazety génu *cp4 epsps* sa v T-DNA oblasti plazmidu PV-BVGT08 nenachádzajú žiadne signálne, ani selekčné markerové gény.

Plazmid PV-BVGT08 okrem oblasti T-DNA obsahuje aj konštitutívny bakteriálny markerový gén *aadA*, zabezpečujúci rezistenciu k spektinomycínu a streptomycínu, ako aj počiatky replikácie DNA (*ori-V* a *ori-322*), potrebné pre replikáciu a udržanie plazmidu v baktériách. Tieto genetické prvky sa nachádzajú v kostrovej („*backbone*“) časti plazmidu, t.j. sú umiestnené mimo oblasti T-DNA. Ako potvrdili molekulárne analýzy (viď časť 2.11, bod iv predkladanej žiadosti), žiadny z týchto prvkov (*aadA*, *ori-V*, *ori-322*) nebol vložený a zabudovaný do genómu cukrovej repy H7-1.

#### **1.6. s inzertom**

Pre charakterizáciu DNA, vkladanej do genómu cukrovej repy H7-1 bola použitá molekulárna analýza. Genomická DNA bola analyzovaná pomocou Southernovej hybridizácie s cieľom určiť počet vložení (počet vložených integrovaných DNA v rámci

genómu cukrovej repy), počet kópií (počet kópií integrovanej DNA v rámci jedného lokusu), integritu vkladaneho promotora, kódujúcej sekvencie a neprekladanej oblasti 3', ako aj prítomnosti či absencie kostrových sekvencií plazmidu.

Výsledky analýz podporujú nasledovné závery:

(1) genóm cukrovej repy H7-1 obsahuje jedinú vloženú sekvenciu DNA, obsahujúcu jedinú kópiu expresnej kazety *cp4 epsps*, použitú pri genetickej transformácii;

(2) expresná kazeta *cp4 epsps* a jej genetické prvky v rámci tejto inzercie sú intaktné;

(3) genóm cukrovej repy H7-1 neobsahuje žiadne detekovateľné kostrové sekvencie hlavného reťazca plazmidovej DNA. Predovšetkým je zrejmé, že pôvody replikácie (*ori-V* a *ori-322*) a gén *aadA* nie sú v cukrovej repe H7-1 prítomné.

Výsledky molekulárnej analýzy ďalej podporujú záver, že introdukovaná DNA prítomná v cukrovej repe H7-1 kóduje iba očakávaný proteín CP4 EPSPS v plnej dĺžke.

Molekulárne analýzy stability vlozenej sekvencie DNA (viď [časť 2.16](#) žiadosti) naznačujú, že akákoľvek významná zmena molekulárnej charakteristiky zdedenej DNA inzertu v cukrovej repe H7-1 je veľmi nepravdepodobná, je teda možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov cukrovej repy H7-1 v spojení s inzertom, je možné považovať za zanedbateľné.

### **1.7. s výsledným geneticky modifikovaným organizmom**

Vychádzajúc z podstatnej zhody cukrovej repy H7-1 s konvenčnými odrodami cukrovej repy a z podrobnej charakterizácie jedinej "novej" vlastnosti, t.j. introdukovanej tolerancie k herbicídu Roundup, prepožičanej expresiou enzýmu CP4 EPSPS (viď [body a-i časti 9.2.1.10](#) žiadosti) je možné konštatovať, že cukrová repa H7-1 je z hľadiska životného prostredia, zdravia ľudí a živočíchov rovnako bezpečná ako konvenčná cukrová repa.

### **1.8. s miestom a rozsahom nakladania s geneticky modifikovaným organizmom**

CVRV-VÚRV Piešťany v spolupráci so SESVanderHave uskutoční jednu poľnú skúšku s hybridmi odvodenými z geneticky transformovanej línie H7-1 na jednej lokalite Slovenska v r. 2010-2012.

Tento typ skúšok výnosu a pozorovania je súčasťou štandardného šľachtiteľského programu, v ktorom sa línie a hybridy intenzívne testujú pre tvorbu optimálnych odrôd, vyhovujúcich komerčným požiadavkám trhu, vrátane slovenského, s dôrazom na zistenie potrieb pestovateľa ohľadne vysoko výnosných odrôd pre oblasť strednej Európy, akými sú vysoký výnos, extrahovateľnosť bieleho cukru, nízka prítomnosť hliny na repe a rezistencia k hubovým a vírusovým ochoreniam. Poľné pokusy s GM cukrovou repou sú plánované na jednej lokalite a na obmedzenej ploche (max. 2000 m<sup>2</sup>).

Vzhľadom k tejto ploche, charakteru pokusov a charakteru lokality (vedených výskumným pracoviskom CVRV – VÚRV Piešťany), je možné považovať riziko výskytu možných škodlivých účinkov, v spojení s miestom a rozsahom nakladania s geneticky modifikovaným organizmom za zanedbateľné.

### **1.9. so životným prostredím v mieste nakladania s geneticky modifikovaným organizmom**

Cukrová repa H7-1 bude pestovaná v lokalite Borovce, (VÚC Trnava, Slovensko). Lokalita sa nachádza v geografickej oblasti, kde sa cukrová repa bežne pestuje. Životné prostredie v mieste nakladania s geneticky modifikovanou cukrovou repou tvorí poľnohospodársky využívané pozemky. Lokalita plánovaných poľných pokusov nie je v blízkosti chránených oblastí. Preto sa v uvedenom prostredí neočakávajú žiadne škodlivé účinky pestovania cukrovej repy H7-1.

Pre zamedzenie úniku geneticky modifikovanej cukrovej repy do okolitého prostredia prostredníctvom vegetatívnych propagúl (odvodených z vegetatívnych častí rastlín), peľu, alebo semien (v prípade výskytu vybehlíc), bude použitých niekoľko preventívnych opatrení:

1. Skúška sa uskutoční v rámci plochy pestovania jačmeňa, kde je jačmeň pravidelne pestovaný. Skúška bude obklopená 5 m pásom neosiatej pôdy, v súlade s odporúčaním spoločnosti SESVanderHave týkajúcim sa pracovných postupov.

2. Všetky šarže semena pre skúšku budú testované za kontrolovaných podmienok v štatisticky výpovednom teste pre zistenie potenciálnej prítomnosti prímiesnej repy, tak aby sa vysiali iba semená šarží, ktoré nebudú obsahovať žiadny merateľný podiel takejto prímiesnej repy.

3. Všetko prevážané osivo (príp. iný rastlinný materiál) bude transportované v uzavretých a označených obaloch a bude evidované.

4. Rastlinám repy v skúške a jej okolí nebude umožnené kvitnutie. Za normálnych podmienok počasia ostávajú všetky rastliny skúšobnej repy vo vegetatívnom štádiu.

5. Pravidelné návštevy lokality skúšky a jej okolia skúsenými odborníkmi zabezpečia včasné zistenie všetkých vybehlíc. Ak sa spozorujú akékoľvek príznaky vybehlíc, uplatnia sa postupy na ich zneškodnenie dostatočne skoro pred rozkvitnutím.

Je preto možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení so životným prostredím v mieste nakladania s geneticky modifikovaným organizmom je zanedbateľné.

### **1.10. s možnými interakciami medzi geneticky modifikovaným organizmom a životným prostredím v mieste nakladania**

Táto časť obsahuje hodnotenie environmentálnych rizík („*Environmental Risk Assessment*“, ERA), opisujúcich potenciálne nepriaznivé environmentálne účinky, ktoré by sa mohli objaviť – aspoň teoreticky – pri zámernom uvoľnení GM vyššej rastliny (GMVR) na poliach v rámci Európy. Tieto teoretické účinky cukrovej repy H7-1 sú vyhodnotené nižšie.

Základom tohto hodnotenia rizika je potvrdenie skutočnosti, že cukrová repa H7-1 sa významne nelíši od konvenčnej cukrovej repy (s výnimkou vloženej vlastnosti tolerancie ku glyfozátu), čo umožňuje nepredpokladať akúkoľvek zmenu interakcií tejto cukrovej repy s biotickými zložkami prostredia v porovnaní s konvenčnou cukrovou repou.

#### **1.10.1 Pravdepodobnosť, že sa za podmienok uvádzania do životného prostredia stanú geneticky modifikované vyššie rastliny odolnejšie než príjemca alebo rodičovský organizmus v poľnohospodárskych biotopoch a invazívnejšou v prírodných biotopoch**

Cukrová repa sa v Európe intenzívne pestuje už takmer 200 rokov. Pestované odrody cukrovej repy nie sú perzistentné ani invazívne a iba zriedkavo boli pozorované medzi inými

plodinami alebo na prirodzených stanovištiach. Cukrová repa nie je považovaná za problematickú z hľadiska zaburinenia poľnohospodárskych lokalít a na prirodzených stanovištiach prežíva iba pri veľmi slabej konkurencii iných druhov.

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovaných hybridov cukrovej repy H7-1 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto hybridov.

Ak by introdukovaná vlastnosť zmenila biologickú kondíciu cukrovej repy H7-1, alebo jej hybridov s ne-GM cukrovou repou, vzniknutých použitím konvenčného šľachtenia, mohlo by to mať za následok zvýšenú perzistenciu alebo invazívnosť týchto riep v porovnaní s bežnými odrodami cukrovej repy. Preto zavedená vlastnosť tolerancie ku glyfozátu je charakteristikou, ktorá môže - aspoň teoreticky - spôsobiť nepriaznivý účinok na životné prostredie.

V plnej šírke následkov uvedeného konštatovania by mohla zvýšená perzistencia posunúť cukrovú repu medzi buriny a dať tak vznik invazívnemu druhu, šíriacemu sa v prostredí. Takáto zmena či dopad by však pre túto rastlinu boli atypické, a neboli popísané počas celých desaťročí šľachtenia rastlín a ani iných foriem zavádzania genetickej diverzity do cukrovej repy.

Pestované odrody *Beta vulgaris* nie sú invazívne, mimo oblastí pestovania predstavujú slabú konkurenciu a majú len málo burinných vlastností. Nízku schopnosť prežívania cukrovej repy určujú mnohé faktory. Najdôležitejším faktorom je, že sa repa iba pomaly zapája a počas tohto obdobia je citlivá na konkurenciu.

Cukrová repa sa obyčajne rozmnožuje semenami. Na poliach produkujúcich korene je rozširovanie semenami obmedzené, nakoľko sa repa zbiera na konci prvej rastovej sezóny ešte pred kvitnutím. Kľčky ponechané na poli po zbere buliev ("groundkeepers") a vrcholové listy ("tops") s veľkou časťou ponechaného koreňa príležitostne prežívajú miernejšiu zimu a môžu počas nasledujúcej jari vytvoriť kvetnú byľ, ale v ďalšom osevnom postupe nepredstavujú problém z hľadiska zaburinenia. Pestovaná cukrová repa za normálnych okolností neprežíva ako burina, a kľčky a vrcholové listy sa len veľmi zriedkavo objavujú medzi inými plodinami, v priekopách či na okrajoch ciest. Rozširovanie touto cestou je veľmi vzácné, nakoľko farmári zapracúvajú takéto zvyšky plodín do pôdy, a ak sa objavia pri nasledujúcej plodine, riešia ich širokolistovými herbicídmi alebo inými pestovateľskými opatreniami. Malá časť rastlín pestovanej cukrovej repy môže počas prvého roka vykvetnúť, ak sú kľčence vystavené neskorým mrazom krátko po zapojení (vybehlice). Farmári obvykle vybehlice odstraňujú, nakoľko tieto znižujú výnosy a produkciu cukru. Ak sa vybehlice neodstránia pred vytvorením semien, ich semená sa môžu stať jedným zo zdrojov burinnej repy, ktorú farmári kontrolujú vhodnými praktikami pre obmedzenie burín. Na záver je možné konštatovať, že cukrová repa nepredstavuje v poľnohospodárskom prostredí problém ako burina, a že v prirodzenom prostredí prežíva len pri veľmi slabej konkurencii iných druhov.

Vyššie uvedené pozorovania nie sú odlišné pre cukrovú repu H7-1. Ako je uvedené v [časti 2.12](#) vlastnej žiadosti, cukrová repa H7-1 je v podstatne ekvivalentná bežným (konvenčným) odrodám cukrovej repy, okrem vnesenej vlastnosti tolerancie ku glyfozátu. Výsledky poľných skúšok cukrovej repy H7-1 preukázali, že je nepravdepodobné aby táto cukrová repa mala pozmenené svoje genotypové, agronomické, reprodukčné vlastnosti a schopnosť prežívania či rozširovania, ak sa porovná s bežnými odrodami cukrovej repy (viď [časť 2.15](#) žiadosti). Za predpokladu, že genetické modifikácie nespôsobili biologicky významné fenotypové rozdiely, ktoré by viedli k zmene kľčivosti, schopnosti prežívania alebo biologickej kondícii týchto rastlín v porovnaní s konvenčnými jedincami, je vysoko nepravdepodobné, že by cukrová

repa H7-1 mohla mať vyššiu schopnosť prežívania v prijímajúcom prostredí, alebo že by bola v prirodzenom prostredí invazívnejšia ako bežná cukrová repa. Vlastnosť tolerancie ku glyfozátu by nemala spôsobiť žiadne významné zvýhodnenie ani znevýhodnenie, vedúce k zmenenej schopnosti prežívania tejto cukrovej repy (viď časť 9.2.1.10, bod b žiadosti).

Záverom je možné konštatovať, že pravdepodobnosť neúmyselného rozšírenia sa cukrovej repy H7-1 v nepoľnohospodárskej krajine je zanedbateľná, nakoľko cukrová repa nie je perzistentná ani invazívna a tieto charakteristiky ostávajú pri cukrovej repy H7-1 nezmenené ak ju porovnáme s konvenčnou cukrovou repou. V nepravdepodobnom prípade vzídenia rastliny cukrovej repy H7-1 v nepoľnohospodárskom prostredí budú dôsledky tolerancie ku glyfozátu pre prostredie zanedbateľné. Preto aj riziko neúmyselného rozširovania sa cukrovej repy H7-1 cestou jej zburinenia je zanedbateľné. Nakoľko riziko je zanedbateľné, nezvažuje sa aplikácia nijakých stratégií riadenia rizika.

1.10.2 Každá ďalšia selekčná výhoda alebo nevýhoda plynúca z genetickej modifikácie, t.j. selekčnú výhodu geneticky modifikovaného organizmu v porovnaní s príjemcom, prípadne rodičovským organizmom

Ak introdukovaná vlastnosť cukrovej repy H7-1 zabezpečuje významnú selektívnu výhodu, toto je potrebné chápať pri porovnaní s konvenčnou cukrovou repou a ostatnými rastlinnými druhmi. Významná zmena biologických charakteristík cukrovej repy H7-1 by mohla viesť ku konkurenčnému zvýhodneniu tejto cukrovej repy oproti ostatným rastlinám. Z tohto dôvodu je introdukovaná vlastnosť charakteristikou geneticky modifikovanej vyššej rastliny (GMVR), ktorá by aspoň teoreticky mohla spôsobiť nepriaznivé dopady na životné prostredie, posudzované v tejto časti.

Ak by introdukovaná vlastnosť viedla k selektívnej výhode cukrovej repy H7-1, resp. jej hybridov s ne-GM líniami vzniknutými použitím konvenčného šľachtenia, potom by sa v plnej šírke tohto dôsledku mohla cukrová repa H7-1 stať invazívnym druhom, šíriacim sa v prostredí. Bolo však už preukázané, že zavedenie vlastnosti tolerancie ku glyfozátu do cukrovej repy H7-1 nevedlo k žiadnym biologicky významným zmenám ostatných fenotypových charakteristík, a že všetky sledované aspekty rastu rastliny, jej vývoja, morfológie, citlivosti voči škodcom, agronomických prejavov, zloženia, úžitkovosti a zdravotných dopadov na živočíchy a človeka tejto cukrovej repy ostávajú nezmenené. Bolo konštatované, že cukrová repa H7-1 je fenotypovo a agronomicky totožná s konvenčnou cukrovou repou, okrem vlastnosti tolerancie ku glyfozátu. Z toho vyplýva, že posúdenie získaných konkurenčných (ne)výhod sa obmedzuje na vlastnosť tolerancie ku glyfozátu, pretože neboli introdukované žiadne ďalšie nové vlastnosti.

V porovnaní s konvenčnou cukrovou repou poskytuje prítomná vlastnosť tolerancie ku glyfozátu v tejto cukrovej reepe, na rozdiel od citlivosti ku glyfozátu burín rastúcich na poli spolu s plodinou, cukrovej reepe výhodu, avšak toto je základná charakteristikou pestovateľského systému Roundup Ready<sup>®</sup> a uplatňuje sa výhradne v prípade ošetrovania plodín herbicídmi, obsahujúcimi ako aktívnu zložku glyfozát. Táto selektívna výhoda (t.j. tolerancia k ošetrovaniu glyfozátom) sa uplatňuje na poli výhradne za špecifických podmienok, ktoré sú predvídateľné, priestorovo ohraničené a krátkodobé.

V poľnohospodárskom prostredí budú burinne rastúce rastliny (“volunteers”) a vybehlice (“bolters”) odolné voči glyfozátu farmármi pozorne monitorované rovnakým spôsobom ako bežné zburinené plodiny, a uplatnia sa rovnaké opatrenia na ich odstránenie s cieľom

---

<sup>®</sup> Roundup Ready je registrovanou obchodnou značkou firmy Monsanto Technology LLC.

minimalizovať výskyt zburinenej repy, nesúcej charakteristiku odolnosti voči glyfozátu. Burinne rastúce rastliny repy odolné ku glyfozátu, ktoré zriedkavo prežijú zimu, a vybehlice nebudú spôsobovať farmárom problémy, a ak sa aj objavia, budú riešené manuálne alebo inými herbicídmi s odlišným mechanizmom účinku.

Výskyt zburinenej repy sa nekontroluje herbicídmi pre cukrovú repu, pretože použité chemikálie nie sú schopné odlišovať pestovanú plodinu od zburinenej repy. V súčasnosti sa problémy so zburinovou repou minimalizujú odstraňovaním vybehlic zburinenej repy manuálne alebo chemicky, plytkou kultiváciou, používaním šarží semena s vysokou čistotou a neskorým výsevom. Uplatnenie cukrovej repy H7-1, ak sa riadi podľa odporúčaní, umožní farmárom účinne kontrolovať zburinenú repu a použitím Správnej poľnohospodárskej praxe oddialiť a minimalizovať výskyt tolerantnej zburinenej repy. Ak farmári neuplatňujú Správnu poľnohospodársku prax, situácia na takýchto farmách sa vráti do aktuálneho scenára, v ktorom chemické ošetrenie nerozlišuje medzi pestovanou plodinou a zburinovou repou.

V prostredí, v ktorom chýba selektívny tlak aplikácie glyfosátu neprináša charakteristika toleancie ku glyfozátu selektívnu výhodu a nebude poskytovať priamu konkurenčnú výhodu pre voľne žijúce rastliny, ani nepriamo voľnej prírode prostredníctvom interakcie s týmito voľne žijúcimi rastlinami.

Na záver je možné konštatovať, že rastliny cukrovej repy H7-1, alebo jej hybridy s ne-GM cukrovou repou, vzniknuté použitím konvenčného šľachtenia, budú mať za špecifických podmienok na poli selektívnu výhodu oproti burinám citlivým ku glyfozátu (t.j. po ošetrení glyfozátom), a tieto podmienky sú prevídateľné, priestorovo ohraničené, krátkodobé a riešiteľné zavedením Správnej poľnohospodárskej praxe. V prostredí, kde chýba selektívny tlak aplikácie glyfosátu neprináša charakteristika toleancie ku glyfozátu žiadnu selektívnu výhodu. Z toho vyplýva, že jediná selektívna výhoda cukrovej repy H7-1, a jej hybridov s ne-GM cukrovou repou, vzniknutých použitím konvenčného šľachtenia, spojená s introdukovanou vlastnosťou toleancie ku glyfozátu, sa považuje za zanedbateľné riziko pre životné prostredie.

1.10.3 Možnosť prenosu génu do takých istých alebo iných pohlavne zlučiteľných druhov rastlín za podmienok pestovania geneticky modifikovaných vyšších rastlín a akákoľvek výberová výhoda alebo nevýhoda, ktorá je na takýto druh rastlín prenesená

Cukrová repa je alogamný (cudzoopelivý) druh, opelovaný vetrom a zriedkavejšie hmyzom. Prenos génov repným peľom je prirodzený fenomén, podstatný pre reprodukciu rastliny, avšak v prírode existujú prirodzené prekážky, znižujúce účinnosť prenosu a oplodnenie kvetov peľom v prirodzených poľných podmienkach: pre optimálne oplodnenie musia byť kvety sexuálne kompatibilné, schopné prijať peľ vtedy keď je dostupný (synchronia) a musia byť blízko ku zdroju peľu. Naviac peľ cukrovej repy ostáva na poli životaschopný najviac 24 hodín (Artschwager and Starrett, 1933). Ďalšími faktormi, ovplyvňujúcimi frekvenciu cudzoopelenia sú ploidia odrody a zloženie hybridu cukrovej repy.

Koncentrácia peľu cukrovej repy sa prudko znižuje rozptylom v ovzduší a sadaním peľu na povrch, kde sa rozkladá. Niektoré štúdie ukazujú, že hustota peľu cukrovej repy výrazne klesá so vzdialenosťou. V jednej štúdiu vo vzdialenosti 900 m od zdroja koncentrácia peľu cukrovej repy klesla na 0,3 % (Dark, 1971). Iný pokus, realizovaný v Nemecku (Jensen and Bogh, 1942) zaznamenal maximálny tok peľu meraný ako cudzoopelenie kompatibilnou cukrovou repou a cvikľou (*B. vulgaris*) na úrovni 0,1 % vo vzdialenosti viac ako 400 metrov.

Dlhodobé pokusy realizované vo Francúzsku s použitím CMS rastlín ako lapačov peľu ukazujú, že peľový oblak sa znižuje o 83% po 30 metroch (CETIOM, 1999).

V prípade dozrievania rastlín cukrovej repy H7-1, tvorby peľu a opelenia susednej rastliny vlastností prítomné v cukrovej repe H7-1 môžu byť prenesené, vrátane introdukovanej vlastnosti tolerancie ku glyfozátu, a táto sa môže preniesť na potomstvo prijímajúcej rastliny. Nakoľko genetická modifikácia nezmenila reprodukčné charakteristiky cukrovej repy H7-1 (viď časť 2.15 žiadosti), potenciálne vzdialené kríženie introdukovanej vlastnosti je charakteristikou GMVR, ktorá by teoreticky mohla spôsobiť nepriaznivé dopady na životné prostredie.

Ak by prenos (cudzoopelením) introdukovanej vlastnosti na sexuálne kompatibilné rastliny prinieslo akúkoľvek konkurenčnú výhodu a zlepšenie biologickej kondície prijímajúcej rastliny, mohla by sa táto rastlina stať invázivným druhom a rozšíriť sa v prostredí.

Cukrová repa sa prevažne pestuje pre jej vegetatívny koreň (bulvu) a jej životný cyklus je v poľnohospodárskej produkcii obmedzený na vegetatívne štádium. Potenciál cudzoopelenia pestovanej cukrovej repy je zanedbateľný, nakoľko bulvy cukrovej repy zberajú na konci pestovateľskej sezóny pred vytvorením semien. Je možné si predstaviť, že na poliach produkujúcich bulvy sa objaví niekoľko vybehlic a opelia iné vybehlice. Aj keby došlo k prekríženiu medzi cukrovou repou H7-1 a susednými rastlinami cukrovej repy, vlastnosť tolerancie ku glyfozátu prinesie selektívnu výhodu výhradne za podmienok, že sa cukrová repa ošetruje herbicídmi obsahujúcimi glyfozát, čo je predvídateľné, priestorovo obmedzené a krátkodobé, a nemá žiadne nepriaznivé dopady na poľnohospodárske prostredie.

K hybridizácii medzi pestovanou repou a príbuznými druhmi rodu *Beta* bežne dochádza za posledných 200 rokov. Odrody cukrovej repy môžu voľne hybridizovať so všetkými druhmi sekcie *Beta*, ak sú vhodné podmienky. Cukrová repa H7-1 môže teda hybridizovať s členmi sekcie *Beta* za vzniku plodného potomstva.

Pestovaná cukrová repa a voľne žijúca cukrová repa sú výrazne self-inkompatibilné rastliny, čo je faktor, ktorý zvyšuje možnosť prenosu génov, avšak všetky dôkazy svedčia o tom, že *B. vulgaris* sa voľne kríži iba s určitými členmi rodu *Chenopodiaceae* v rámci sekcie *Beta* (De Bock, 1986), akými sú jej voľne žijúci príbuzní *B. maritima*, *B. macrocarpa* a *B. atriplicifolia* (Abe *et al.*, 1986; De Bock, 1986) rastúce ako buriny na poliach alebo ako ruderalne druhy v rôznych častiach Stredomoria. Hybridy cukrovej repy s týmito druhmi sú za normálnych okolností plne fertily, okrem hybridov medzi *B. vulgaris* a *B. macrocarpa*, u ktorých sa vyskytuje čiastočná streilita peľu a dochádza k odumretiu embrya hybridu. Prenos génov bol preukázaný medzi pestovanou cukrovou repou a voľne žijúcou repou introgresiou jednoročného habitu do pestovanej repy (Boudry *et al.*, 1993) a introgresiou génov z pestovanej cukrovej repy do populácií voľne žijúcej repy (Bartsch *et al.*, 1999).

Potenciál hybridizácie a introgresie medzi pestovanou, burinnou a voľne žijúcou repou je vysoký v osivárskych oblastiach, kde dochádza k masívnej produkcii peľu. V takomto prípade môže peľ cukrovej repy H7-1 potenciálne opeliť voľne žijúcu repu, a vlastnosť sa môže preniesť do populácie voľne žijúcej repy. V skutočnosti je toto riziko minimalizované producentmi osív cukrovej repy, ktorí musia zabezpečiť súlad s určitými normami pre oblasti produkcie semien. Minimálne izolačné vzdialenosti pre osivárske polia sú povinné podľa pestovateľských noriem OECD pre cukrovú repu OECD (OECD, 2000) a oblasti produkcie semien sú prísne kontrolované z hľadiska prítomnosti rastlín voľne žijúcej repy. Polia a ich okolie sa pravidelne kontrolujú: v prípade výskytu voľne žijúcej alebo burinnej rastúcej repy sa tieto odstránia a lokalita sa naďalej monitoruje. Ak sa pri produkcii osiva cukrovej repy H7-1 ako materské rastliny používajú diploidné jedince so samčou sterilitou a opelia sa voľne

žijúcimi jednorročnými rastlinami za vzniku jednorročnej repy odolnej ku glyfozátu, kvitnúcej v prvom roku, alebo v prípade výskytu vybehlic tolerantných ku glyfozátu ich farmári odstránia ručne alebo herbicídmi na inej báze než glyfozát, aby zabránili rozptylu peľu a obmedzili straty výnosov cukru. Vo všeobecnosti je obvyklý podiel prítomných vybiehajúcich rastlín pri pestovaní cukrovej repy nižší než 1 %, preto je pravdepodobnosť významného peľom sprostredkovaného toku génov medzi plodinami minimálna.

Ďalším zdrojom produkcie peľu môžu byť burinne rastúce rastliny cukrovej repy H7-1, resp. jej hybridov s ne-GM líniami vzniknutých použitím konvenčného šľachtenia. V predošlom odstavci už bolo popísané, ako môžu pestovatelia kontrolovať takéto burinné rastliny repy ich zapracovaním do pôdy v skorom štádiu ich vývoja, alebo pomocou chemikálií. Prítomnosť zburinenej cukrovej repy tolerantnej ku glyfozátu sa dá minimalizovať zavedením Správnej poľnohospodárskej praxe. Ak však farmári nepostupujú podľa odporúčaných postupov a kontrola burinnej repy nie je účinná, môžu sa vyskytnúť prípady burinnej repy odolnej voči glyfozátu, ktoré bude potrebné kontrolovať tak ako bolo popsané v časti 9.2.1.10, bod b žiadosti.

Dokonca aj v prípade, že sa preniesie vlastnosť odolnosti voči glyfozátu do populácie voľne žijúcej repy, nedôjde k významnej selektívnej výhode vlastnosti odolnosti ku glyfozátu u populácie voľne žijúcej repy, nakoľko aplikácia glyfozátu v prirodzených stanovištiach je mimoriadne zriedkavá. Preto aj napriek tomu, že pravdepodobnosť prenosu introdukovanej vlastnosti tolerance ku glyfozátu cudzoopelením na voľne žijúcich príbuzných cukrovej repy H7-1 nie je zanedbateľná, pravdepodobnosť že by sa stala príčinou nepriaznivého dopadu na životné prostredie je zanedbateľná.

Z toho vyplýva, že cukrová repa H7-1 má rovnaké vlastnosti ako bežná cukrová repa okrem svojej tolerance ku glyfozátu, vrátane potenciálu pre cudzoopelenie. Avšak cudzoopelenie bude zanedbateľné, nakoľko predkladaná žiadosť sa týka pestovania derivátov cukrovej repy H7-1, t.j. línii a hybridov cukrovej odvodených z transformácie H7-1 konvenčným šľachtením v rámci skúšky, to znamená, že táto cukrová repa sa bude pestovať pre jej vegetatívny koreň (bulvu) a jej životný cyklus bude v poľnohospodárskej produkcii obmedzený na vegetívne štádium. V ostatných prípadoch, ak sa cukrová repa pestuje pre produkciu semena, sa nepredpokladá vyššia miera prenosu transgénnej vlastnosti aká je pri bežnej cukrovej repe, a na poliach sa bežne aplikujú postupy na obmedzenie transferu génov z rastliny na rastlinu. Environmentálne riziko, vyplývajúce z transferu génov, teda zo samotnej cukrovej repy H7-1 je zanedbateľné.

#### 1.10.4 Možný bezprostredný alebo oneskorený dopad na životné prostredie vyplývajúci z priamych a nepriamych vzájomných pôsobení medzi geneticky modifikovanými vyššími rastlinami a cieľovými organizmami (pokiaľ cieľový organizmus existuje)

Neboli identifikované žiadne znaky, ktoré by mohli spôsobiť nepriaznivé účinky na životné prostredie. Nakoľko cukrová repa H7-1 je odolná voči herbicídom s aktívnou zložkou glyfozátom, nemá cieľové organizmy, s ktorými by reagovala, priamo ani nepriamo.

#### 1.10.5 Možný bezprostredný alebo oneskorený dopad na životné prostredie vyplývajúci z priamych a nepriamych vzájomných pôsobení medzi geneticky modifikovanými vyššími rastlinami a cieľovými organizmami, vrátane vplyvu na úroveň populácií konkurentov, bylinožravcov, prípadne symbiontov, parazitov a patogénov

Nakoľko bolo preukázané, že cukrová repa H7-1 sa na poli správa rovnako ako bežná cukrová repa (s výnimkou vloženej vlastnosti tolerancie ku glyfozátu), jej východisková interakcia s ostatnými organizmami prostredia sa nepovažuje za odlišnú od interakcie konvenčnej cukrovej repy, s výnimkou dodatkovej potenciálnej expozície bylinožravých škodcov cukrovej repy proteínu CP4 EPSPS. Potenciálna expozícia necieľových organizmov tomuto proteínu v prijímajúcom prostredí je charakteristikou GMVR a môže teoreticky spôsobiť nepriaznivý dopad na životné prostredie. Necieľové organizmy predstávajú všetky živé organizmy, živočíchy či rastliny, ktoré môžu byť neúmyselne ovplyvnené prostredníctvom špecifického alebo nešpecifického mechanizmu ako výsledku novo exprimovaných proteínov.

Teoretickým následkom kontaktu necieľových organizmov s vloženým proteínom (ktorý preň môže byť toxický) môže byť dopad na ich populačné hladiny.

Cukrová repa H7-1 produkuje proteín CP4 EPSPS, ktorý zabezpečuje toleranciu ku glyfozátu. Spoločnosťou Monsanto boli podobne vyvinuté a uvedené na trh geneticky modifikované odrody sóje, kukurice, bavlníka a repky olejnej odolné voči glyfozátu, ktoré exprimujú prakticky identický proteín CP4 EPSPS. Tento proteín, aj keď sa jedná pri plodinách odolných ku glyfozátu o novo exprimovaný proteín, nie je pre prírodu novým proteínom. Kódujúca sekvencia génu *cp4 epsps* vo vektore, použitom na vytvorenie vyššie zmienených glyfozát-tolerantných rastlín je odvodená z genómu baktérie *Agrobacterium* sp. kmeňa CP4, bežnej v pôde sa vyskytujúcej baktérie. CP4 EPSPS je enzýmom, zapojeným do šikimátovej biosyntetickej dráhy, nie je cieleň proti žiadnemu organizmu a nemá toxické účinky. Proteín CP4 EPSPS je štrukturálne a funkčne podobný ostatným enzýmom EPSPS, ktoré sú prirodzene prítomné v bežne konzumovaných rastlinných a mikrobiálnych zdrojoch. Proteíny EPSPS majú bezpečnú históriu vo vzťahu k necieľovým organizmom, pretože akýkoľvek necieľový organizmus interagujúci s cukrovou repou vyvinul úzku interakciu so širokým spektrom zelených rastlín a mikroorganizmov, a teda historicky bol exponovaný členom tejto bezpečnej skupiny proteínov. Na základe všadeprítomnosti, histórie a bezpečnosti proteínov EPSPS, nie je *a priori* dôvod predpokladať, že by proteín EPSPS mohol vykazovať biologickú aktivitu smerom k necieľovým organizmom.

Zástupcovia opel'ovačov, pôdnych organizmov, užitočných článkonožcov a škodcov boli vystavené účinkom čistej bielkoviny CP4 EPSPS, ako aj pletivám glyfozát-tolerantných plodín obsahujúcich proteín CP4 EPSPS: *Plathypena scabra* (Green cloverworm), *Schizaphis graminum* (Greenbugs), *Diuraphis noxia* (Russian wheat aphids), *Aceria tosichella* (Wheat curl mites), *Ostrinia nubilalis* (vijačka kukuričná, European corn borer) a *Sesamia* spp., dážďovky (*Eisenia fetida*) a *Folsomia candida* z radu *Collembola*. Pri týchto organizmoch sa nezistili žiadne toxické účinky, ani rozdiely vo vývoji a schopnosti prežívania po použití rastlín tolerantných voči glyfozátu v porovnaní s konvenčnými odrodami.

Záverom je na základe dobre opísaného spôsobu účinku enzýmov EPSPS a absencie nepriaznivých účinkov potvrdených rôznymi štúdiami možné konštatovať, že riziko cukrovej repy H7-1 pre necieľové organizmy je vysoko nepravdepodobné. Nakoľko riziko priamych alebo nepriamych škodlivých účinkov je zanedbateľné, nie sú potrebné stratégie na riadenie rizika.

1.10.6 Možné okamžité alebo oneskorené účinky na ľudské zdravie vyplývajúce z možných priamych alebo nepriamych interakcií medzi geneticky modifikovanou vyššou rastlinou a osobami prichádzajúcimi s ňou do styku

Bolo preukázané, že cukrová repa H7-1 je zložením totožná s konvenčnou cukrovou repou, a že má rovnaké bezpečnostné charakteristiky, ako aj rovnaké agronomické a fenotypové charakteristiky okrem dedenej vlohy zabezpečujúcej toleranciu ku glyfozátu, poskytnutej expresiou proteínu CP4 EPSPS. Teoreticky by potenciálna toxicita alebo alergenita mohla byť spojená s novosyntetizovaným proteínom geneticky modifikovanej plodiny. Expresia proteínu CP4 EPSPS je teda charakteristikou GMVR, ktorá by teoreticky mohla spôsobiť zdravotný dopad pri profesionálnej expozícii. Ak by zavedený proteín mal toxický alebo alergénny potenciál, spôsobilo by to významné zmeny bezpečnostných aspektov manipulácie s cukrovou repou.

Nakoľko táto žiadosť sa týka pestovania línií a hybridov cukrovej repy odvodených z transformácie H7-1 pre skúšobné účely, osoby, ktoré prídu do kontaktu s touto cukrovou repou budú prevažne odborní pracovníci a poľní laboranti. Pravdepodobnosť kontaktu s cukrovou repou H7-1 nie je odlišná od profesionálnej expozície pri manipulácii s bežnou cukrovou repou.

Potenciál nepriaznivých účinkov novo exprimovanej bielkoviny na ľudské zdravie je opísaný v časti 2.18 žiadosti. Závery posúdenia bezpečnosti proteínu CP4 EPSPS pre ľudské zdravie boli preukázané na základe a) vyčerpávajúcej charakterizácie proteínu, b) chýbajúcej podobnosti so známymi proteínovými toxínmi a alergénmi, c) rýchlym rozkladom v simulovaných podmienkach žalúdočných a črevných štiav, a d) žiadnej akútnej toxicity proteínu podľa výsledkov štúdie akútnej toxicity na hlodavcoch pri podávaní sondou. V žiadnom z týchto prípadov nebol predložený žiaden dôkaz, ktorý by mohol vyvolať obavy z hľadiska nepriaznivých účinkov na ľudské zdravie.

Ani údaje zo skúšok v Európe nepriniesli žiadne dôkazy dopadov na zdravie po profesionálnej expozícii ľudí, manipulujúcich s cukrovou repou H7-1 ako výsledok potenciálnej toxicity alebo alergénnosti exprimovaných proteínov.

Na záver je možné konštatovať, že pravdepodobnosť akýchkoľvek nepriaznivých účinkov na ľudí ako výsledok ich kontaktu s touto cukrovou repou sa nijako nelíši od konvenčnej cukrovej repy, nakoľko cukrová repa H7-1 obsahuje vyššie uvedený proteín CP4 EPSPS, ktorý má zanedbateľný potenciál spôsobiť akékoľvek toxické alebo alergické prejavy u človeka. Riziko zmenených aspektov profesionálnej expozície tejto repe je preto zanedbateľné a nevyžaduje žiadne stratégie riadenia rizika.

1.10.7 Možné okamžité alebo oneskorené účinky na zdravie zvierat a dôsledky pre potravinový reťazec vyplývajúce z konzumácie geneticky modifikovaného organizmu alebo geneticky modifikovaného produktu, ktorý je určený pre použitie ako krmivo

Cukrová repa H7-1 je podstatne ekvivalentná s bežnou cukrovou repou, okrem vloženéj vlastnosti tolerancie ku glyfozátu. Vychádzajúc z niekoľkých storočí skúseností s bežnou domestikovanou cukrovou repou v Európe, potenciál vyvolania nepriaznivých zdravotných účinkov na hospodárske zvieratá cukrovou repou je zanedbateľný. Teoreticky je možná potenciálna toxicita alebo nutričná deficiencia ako dôsledok novo exprimovaných proteínov v plodine. Expresia proteínu CP4 EPSPS je preto charakteristikou GMVR, ktorá by teoreticky mohla spôsobiť nepriaznivý účinok. Ak by tento introdukovaný proteín cukrovej repy H7-1 mal akýkoľvek toxický či alergénny potenciál, alebo nepriaznivý účinok na užitočnosť tejto cukrovej repy, znamenalo by to významnú zmenu aspektov jej nutričnej

hodnoty a bezpečnosti použitia ako krmiva. Takáto zmena by mohla vyústiť do zmeny charakteristík zvierat, ako je zmena parametrov rastu, účinnosti kŕmenia, tvorby mlieka alebo zhoršeného zdravotného stavu.

Nakoľko predkladaná žiadosť sa týka realizácie skúšobného pestovania a neobsahuje využitie produkcie ako krmiva pre zvieratá, pravdepodobnosť objavenia nepriaznivého účinku na potravinový/krmivový reťazec či užitočnosť ako výsledku expozície hospodárskych zvierat krmivu s obsahom zdedeného proteínu je zanedbateľná.

Ako je diskutované v časti 2.18 žiadosti, exprimovaný proteín má dlhú históriu bezpečného používania. Bielkovina CP4 EPSPS nevykazuje žiadne príznaky toxicity po testovaní akútnej orálnej toxicity na hlodavcoch po podávaní sondou, rýchlo sa odbúrava v simulovanom prostredí žalúdočných a črevných štiav a neboli pozorované žiadne biologicky relevantné štrukturálne analógie s alergénmi alebo humánnymi či živočíšnymi toxínmi. Analytické štúdie okrem toho preukázali, že cukrová repa H7-1 je zložením a nutričnou hodnotou rovnaká ako bežná cukrová repa, a pre využitie ako potravinový alebo krmivový je teda rovnako bezpečná ako bežná cukrová repa.

Na záver je možné konštatovať, že pravdepodobnosť potenciálneho nepriaznivého účinku na zvieratá, kŕmené cukrovou repou H7-1, a na ľudí konzumujúcich produkty z týchto zvierat je zanedbateľná. Preto je aj riziko cukrovej repy H7-1 pre potravinový/krmivový reťazec zanedbateľné, a nie sú potrebné žiadne stratégie na riadenie rizika.

*1.10.8 Možné okamžité alebo oneskorené účinky na biogeochemické procesy vyplývajúce z možných priamych a nepriamych interakcií geneticky modifikovaného organizmu a cieľových a necieľových organizmov v blízkosti uvoľnenia geneticky modifikovaného organizmu do životného prostredia*

O pestovaní cukrovej repy je vo všeobecnosti známe, že má nepriame dopady na biogeochemické procesy prostredníctvom orby a aplikácie hnojív. Nakoľko bolo preukázané, že cukrová repa H7-1 je zložením rovnaká ako konvenčná cukrová repa a má aj totožné agronomické a fenotypové charakteristiky, (viď časť 2.15 a 2.18 žiadosti), nejestvuje dôkaz o tom, že by sa táto repa akokoľvek líšila od bežnej cukrovej repy z hľadiska jej vplyvu na hladinu živín v pôde.

Teoreticky expresia zdedeného proteínu CP4 EPSPS je charakteristikou GMVR, ktorá by mohla nepriamo spôsobiť nepriaznivý environmentálny dopad na biogeochemické procesy. Ak by vložený proteín vykazoval akýkoľvek potenciál vyvolania nepriaznivých účinkov na populácie dekompozítorov alebo detrit požírajúcich organizmov v pôde, mohli by byť ovplyvnené biogeochemické procesy, v ktorých tieto organizmy zohrávajú úlohu, čo by mohlo mať za následok zmeny kolobehu živín v životnom prostredí.

Nakoľko predkladaná žiadosť sa týka veci realizácie skúšobného pestovania cukrovej repy H7-1, resp. línií a hybridov cukrovej repy odvodených z transformácie H7-1, pravdepodobnosť akejkol'vek významnej expozície pôdneho ekosystému rastlinám tejto cukrovej repy, a radikálna zmena skladby pôdneho ekosystému je zanedbateľná.

Proteíny CP4 EPSPS patria medzi dobre známe, bezpečné skupiny proteínov EPSPS, bežne prítomné v baktériách, hubách, riasach a vo všetkých vyšších rastlinách. Väčšina samotných dekompozítorov exprimuje proteíny EPSPS. Preto nejestvuje *a priori* dôvod očakávať, že by proteín CP4 EPSPS mohol mať nepriaznivý účinok na funkciu dekompozície. Enzým CP4 EPSPS je súčasťou šikimátovej biochemickej dráhy, nie je cieleň proti žiadnym organizmom a nemá toxický mechanizmus účinku (viď časť 9.2.1.10, bod e žiadosti). Z toho

vyplýva, že potenciál aktivity tohto proteínu smerom k mikroorganizmom zapojeným do biochemických procesov v pôde je zanedbateľný. Okrem toho bolo preukázané, že tento proteín podlieha v pôde rýchlej degradácii (Dubelman *et al.*, 2005). Takáto rýchla degradácia výrazne podporuje tvrdenie o neexistujúcom škodlivom účinku proteínu EPSPS na organizmy, zapojené do dekompozičnej funkcie, a na necieľové pôdne organizmy všeobecne.

Na záver je možné konštatovať, že nepriaznivé účinky na kolobeh živín v pôde ako dôsledok potenciálnych nepriaznivých účinkov zdedených proteínov na cieľové či necieľové organizmy, zúčastňujúce sa biochemických procesov v pôde sú zanedbateľné, a nie sú potrebné žiadne stratégie na riadenie rizík.

*1.10.9 Možné okamžité alebo oneskorené priame a nepriame účinky na životné prostredie v dôsledku použitia špecifických kultivačných, pestovateľských a zberových techník použitých v súvislosti s geneticky modifikovanými vyššími rastlinami v prípade, že sa tieto techniky líšia od techník bežne používaných pri nakladaní so zodpovedajúcimi nemodifikovanými vyššími rastlinami*

Nakoľko cukrová repa H7-1 je totožná s bežnou cukrovou repou (okrem vlozenej vlohy zabezpečujúcej toleranciu ku glyfozátu), všetky v súčasnosti používané agronomické postupy pestovania cukrovej repy v EÚ sa môžu uplatniť aj na pestovanie cukrovej repy H7-1 a nie sú potrebné žiadne nové alebo špecifické technológie pestovania, menežmentu ani zberu.

V skutočnosti sa očakáva, že pestovanie cukrovej repy H7-1 bude mať pozitívny dopad na súčasné agronomické technológie pestovania cukrovej repy, a že prinesie úžitok farmárom aj životnému prostrediu. Výhody pestovania tejto cukrovej repy umožnia farmárom využiť priaznivé environmentálne a bezpečnostné vlastnosti herbicídov (viď Smernica Rady 91/414/EEC, Príloha I uvádzajúca glyfozát). Cukrová repa odolná voči glyfozátu zvyhodňuje pestovateľov tým, že poskytuje (1) dodatočnú možnosť širokospektrálnej kontroly burín pri pestovaní cukrovej repy, (2) nový mechanizmus účinku herbicídov pre kontrolu burín cukrovej repy počas sezóny, (3) vyššiu flexibilitu ošetrovania burín "podľa potreby", (4) nákladovo efektívne riešenie ochrany pred burinami, a (5) vynikajúcu zhodu so systémami obmedzenej orby. Z použitia ochrannej orby okrem toho vyplýva množstvo environmentálnych prínosov, ako je zlepšená kvalita pôdy, lepšia infiltrácia vody, znížená erózia a sedimentácia vodných zdrojov, znížené vyplavovanie živín a pesticídov do povrchových vôd, zlepšenie stanovišť pre voľne žijúce organizmy, zvýšené zadržiavanie uhlíka v pôde, zníženie spotreby palív a presadzovanie trvalo udržateľných poľnohospodárskych praktík (Bennett *et al.*, 2006; Bennett *et al.*, 2004; Brickley *et al.*, 2006; Elmgaard and Pedersen, 2001; May *et al.*, 2004; Petersen and Röver, 2005; Strandberg and Pedersen, 2002).

Na záver je možné konštatovať, že žiadna z charakteristík cukrovej repy H7-1 nebola posúdená ako možný zdroj nepriaznivých účinkov na životné prostredie cestou špecifických požiadaviek na zmeny pestovateľských postupov. Preto sa environmentálne dopady technológií pestovania, riadenia a zberu, použité v plánovanej skúške nepovažujú za odlišné od pestovania akejkoľvek inej cukrovej repy. Nakoľko riziko je zanedbateľné, nie je potrebné vypracovať žiadne stratégie pre riadenie rizík.

## **2. Zhrnutie hodnotenia rizika**

Hodnotenie rizika je v tejto žiadosti vykonané podľa Smernice 2001/18/ES, časti B, a zákona č. 151/2002 Z.z. v platnom znení.

Analýza vlastností cukrovej repy H7-1, s prihliadnutím ku skúsenostiam z poľných skúšok tejto cukrovej repy v rámci krajín EU, ako aj vo svete, ukázala, riziko potenciálnych nežiadúcich účinkov na zdravie ľudí, zvierat a smerom k životnému prostrediu, vyplývajúcim z plánovaných pokusov s vyššie uvedenými líniami a hybridmi GM cukrovej repy, je možné považovať za zanedbateľné.

Celkovo je možné konštatovať, že cukrová repa H7-1 je z hľadiska bezpečnosti pre životné prostredie, ľudí a živočíchy rovnako bezpečná ako konvenčná cukrová repa. Tento záver vychádza z podstatnej totožnosti cukrovej repy H7-1 s jej konvenčným náprotivkom a tiež z intenzívnej charakterizácie jedinej “novej” vlastnosti, t.j. zavedenej tolerancie k herbicídu Roundup, ktorej aktívnou zložkou je glyfozát. Vlastnosť tolerancie ku glyfozátu získala GM cukrová repa H7-1 expresiou enzýmu CP4 EPSPS, kódovanej genetickou transformáciou vloženou cudzorodou DNA.

Na základe podrobnej molekulárnej charakterizácie genetickej modifikácie, podrobnej charakterizácie exprimovaného enzýmu CP4 EPSPS, histórie bezpečného využívania skupiny proteínov EPSPS a hostiteľskej rastliny cukrovej repy, agronomickej, fenotypovej, kompozičnej a nutričnej totožnosti cukrovej repy H7-1 s konvenčnou cukrovou repou, ako aj absencie toxicity pre živočíchy je na záver možné konštatovať, že environmentálne či zdravotné riziko spojené so zámerným uvoľnením cukrovej repy H7-1, obsahujúcej vložený úsek génu *cp4 epsps* z baktérie *Agrobacterium* sp., do životného prostredia s cieľom realizovať poľné skúšky je zanedbateľné a nijako sa nelíši od rizika spojeného s pestovaním akejkoľvek inej cukrovej repy.

V Piešťanoch, dňa 7.12. 2009

.....  
doc. RNDr. Ján Kraic, PhD.  
riaditeľ CVRV-VÚRV Piešťany

### Literatúra

Tu je uvedený rozsiahly prehľad literatúry, ktorý môže slúžiť pre prípadné ďalšie štúdium problematiky. Text dokumentu neodkazuje na všetky v texte uvedené citácie, čo by nemalo byť považované za nedostatok, ale za výber z prehľadu literatúry relevantnej pre zostavenie dokumentu. Prehľad literatúry obsahuje 73 referencií.

- Abe, J., Yoshikawa, J.A.H. and Tsuda, C. (1986) Reproductive barriers in sugar beet and its wild relatives of the section *vulgaris*, the gene *Beta*. *Journal of faculty Hokkaido University*, **63**, 40-48.
- Alibhai, M.F. and Stallings, W.C. (2001) Closing down on glyphosate inhibition - with a new structure for drug discovery. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 2944-2946.
- Artschwager, E. and Starrett, R.C. (1933) The time factor in fertilization and embryo development in the sugar beet. *J. Agric. Res.*, **47**, 823-843.
- Barker, R.F., Idler, K.B., Thompson, D.V. and Kemp, J.D. (1983) Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octapine Ti Plasmid pTi15955. *Plant. Mol. Biol.*, **2**, 335-350.
- Bartsch, D., Lehnen, M., Clegg, J., Pohl-Orf, M., Schuphan, I. and Ellstrand, N.C. (1999) Impact of gene flow from cultivated beet on genetic diversity of wild sea beet populations. *Mol Ecol*, **8**, 1733-41.
- Bennett, R., Phipps, R. and Strange, A. (2006) An application of life-cycle assessment for environmental planning and management: the potential environmental and human health impacts of growing genetically modified herbicide-tolerant sugar beet. *Journal of Environmental Planning and Management*, **49**, 59-74.
- Bennett, R., Phipps, R., Strange, A. and Grey, P. (2004) Environmental and human health impacts of growing genetically modified herbicide-tolerant sugar beet: a life-cycle assessment. *Plant Biotechnology Journal*, **2**, 1-6.
- Bolivar, F., Rodriguez, R.L., Greene, P.J., Betlach, M.C., Heyneker, H.L. and Boyer, H.W. (1977) Construction and characterization of new cloning vehicles. II. A multipurpose cloning system. *Gene*, **2**, 95-113.
- Bosemark, N. O. (2006) Genetics and Breeding. In: Draycott, A. P. (ed.) *Sugar Beet*. Blackwell Publishing, pp. 50-88.
- Boudry, P., Mörchen, M., Saumitou-Laprade, P., Vernet, P. and Van Dijk, H. (1993) The origin and the evolution of weed beets: consequences for the breeding and release of herbicide resistant transgenic sugar beets. *Theor. Appl. Genet.*, **87**, 471-478.
- Brickley, R.S., Lawrence, R.L., Miller, P.R. and Battogtokh, N. (2006) Predicting tillage practices and agricultural soil disturbance in north central Montana with Landsat imagery. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, **114**, 210-216.
- Brouwer, W. (1976) Handbuch des speziellen Pflanzenbaues Band II. , **Parey Verlag Berlin**
- Cesareni, G., Muesing, M.A. and Polisky, B. (1982) Control of CoIE1 DNA replication: the *rop* gene product negatively affects transcription from the replication primer promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 6313-6317.
- CETIOM. (1999) Impact du développement des plantes transgéniques dans les systèmes de culture. Rapport final. *ACTA N°96/15-B*, 1-41.
- Cooke, D.A. and Scott, R.K. (1993) The sugar beet crop.

- Coruzzi, G., Broglie, R., Edwards, C. and Chua, N. (1984) Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *EMBO J*, **3**, 1671-1679.
- Dark, S.O.S. (1971) Experiments on the cross-pollination of sugar beet in the field. *Journal of the National Institute of Agricultural Botany*, **12**, 242-266.
- De Bock, T.S.M. (1986) The genus beta: domestication, taxonomy and interspecific hybridization for plant breeding. *Acta Horticult*, **182**, 335-343.
- Della-Cioppa, G., Bauer, S.C., Klein, B.K., Shah, D.M., Frayley, R.T. and Kishore, G.M. (1986) Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**, 6873-6877.
- Della-Cioppa, G., Bauer, S.C., Taylor, M.T., Rochester, D.E., Klein, B.K., Shah, D.M., Frayley, R.T. and Kishore, G.M. (1987) Targeting a herbicide-resistant enzyme from *Escherichia coli* to chloroplasts of higher plants. *Bio/Technology*, **5**, 579-584.
- Depicker, A., Stachel, S., Dhaese, P., Zambryski, P. and Goodman, H.M. (1982) Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. *J. Mol. Appl. Genet.*, **1**, 561-573.
- Dubelman, S., Ayden, B.R., Dudin, Y.A., Bookout, J.T. and Jiang, C. (2005) Aerobic Soil Degradation of the CP4 EPSPS Protein. *Monsanto Technical Report*, **MSL-19332**
- Eastham, K. and Sweet, J. (2002) Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer, *European Environment Agency*, 1-75.
- Elmegaard, N. and Pedersen, M.B. (2001) Flora and fauna in Roundup tolerant sugar beet fields. *National Environmental Research Institute (NERI)*, **Technical Report 349**, 40.
- Falconer, D.S. (1984) Einführung in die quantitative Genetik. *Ulmer Verlag Stuttgart*
- Fehr, W.R., Fehr, E.L. and Jessen, H.J. (1987) Principles of cultivar development. *Crop species*, **2**
- Fling, M.E., Kopf, J. and Richards, C. (1985) Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-O-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Res.*, **13**, 7095-7106.
- Gowda, S., Wu, F.C. and Shepard, R.J. (1989) Identification of promoter sequences for the major RNA transcripts of figwort mosaic and peanut chlorotic streak viruses (Caulimovirus group). *J. Cell Biochem*, **13D**, 301.
- Halldén, C., Lind, C., Sall, T., Bosemark, N.O. and Bengtsson, B.O. (1990) Cytoplasmic male sterility in beta is associated with structural rearrangements of the mitochondrial DNA and is not due to interspecific organelle transfer. *J Mol Evol*, **31**, 365-72.
- Haslam, E. (1974) The shikimate-pathway. John Wiley and sons, New York
- Haslam, E. (1993) Shikimic acid: metabolism and metabolites. Wiley, J. and Sons, Chichester, England
- Herrmann, K.M. (1983) The common aromatic biosynthetic pathway. In: Herrmann, K.M. and Somerville, R.L. (eds.), *Amino acids: biosynthesis and genetic regulation*. Addison-Wesley Publishing Company, Reading, Massachusetts, pp. 301-322.
- James, C. (2005) Global status of commercialized biotech/GM crops: 2005. *ISAAA*, **Brief 34**
- Jensen, I. and Bogh, H. (1942) Om forhold der haf inflydelse paa krydningsfaren hos vindbestövende kulturplanter. *Tidsskrift for planteavl*, **46**, 38-66.
- Kay, R., Chan, A., Daly, M. and McPherson, J. (1987) Duplication of CaMV 35S Promoter sequences creates a strong enhancer for plant genes. *Science*, **236**, 1299-1302.
- Kishore, G., Shah, D., Padgett, S., Della-Cioppa, G., Gasser, C., Re, D., Hironaka, C., Taylor, M., Wibbenmeyer, J., Eichholtz, D., Hayford, M., Hoffmann, N., Delannay, X.,

- Horsch, R., Klee, H., Rogers, S., Rochester, D., Brundage, L., Sanders, P. and Fraley, R.T. (1988) 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase: from biochemistry to genetic engineering of glyphosate-tolerance. In: Hollingworth, R.M. (ed.) *Biotechnology for crop protection*. American Chemical Society, pp. 37-48.
- Klee, H.J., Muskopf, Y.M. and Gasser, C.S. (1987) Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate- 3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Mol. Gen. Genet.*, **210**, 437-42.
- Larsen, K. (1977a) Pseudo-compatibility in *Beta vulgaris* L. A quantitative character, dependant on the degree of S-gene heterozygosity. *Incompatibility Newsletter*, **8**, 48-51.
- Larsen, K. (1977b) Self-incompatibility in *Beta vulgaris* L. I. four gametophytic, complementary S-loci in sugar beet. *Hereditas*, **85**, 227-248.
- Le Cochee, F. and Soreau, P. (1989) Mode d'action des gènes et hétérosis pour le caractère montée à raines dans le croisement de deux lignées fixées de betterave à sucre (*Beta Vulgaris* L.). *Agronomie*, **9**, 585-590.
- Lysgaard, C.P. (1991) Froalderens indflydelse på spireevne, spiringsenergi, platevækst og det endelige udbytte hos bederoe og kälroe samt på anden generation af kälroe. *Tidsskrift for plateavl*, **95**, 367-374.
- May, M.J., Champion, G.T., Dewar, A.M., Qi, A. and Pidgeon, J.D. (2004) Management of genetically modified herbicide tolerant sugar beet for spring and autumn environmental benefits. *Proceedings of the Royal Society*, **B 272**, 111-119.
- McFarlane, J.S., Price, C. and Owen, F.V. (1949) Strains of sugar beets extremely resistant to bolting. *Proceedings of the American Society of Sugar Beet Technologists*, **5**, 154-155.
- Milford, G. F. J. (2006) Plant structure and crop physiology. In: Draycott, A. P. (ed.) *Sugar Beet*. Blackwell Publishing, pp. 30-49.
- Morrelli, G., Nagy, F., Fraley, R.T., Rogers, S.G. and Chua, N. (1985) A short conserved sequence is involved in the light-inducibility of a gene encoding ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit of pea. *Nature*, **315**, 200-204.
- Odell, J.T., Nagy, F. and Chua, N.H. (1985) Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*, **313**, 810-812.
- OECD. (1993) Food safety and biotechnology: concepts and principles. *Safety evaluations of food derived by modern biotechnology: concepts and principles: OECD publications*
- OECD. (2000) OECD scheme for the varietal certification of sugar beet and fodder beet seed moving in the international trade. *OECD publications*
- OECD. (2001) Consensus document on the biology of *beta vulgaris* L. (sugar beet). *OECD, ENV/JM/MONO(2001)11*
- Owen, F.V. (1945) Cytoplasmically inherited male-sterility in sugar beets. *Journal of agriculture research*, **71**, 423-440.
- Owen, F.V. (1948) Utilisation of male-sterility in breeding superior yielding sugar beet. *Proceedings of the American society of sugar beet technologists*, **5**, 156-161.
- Padgett, S.R., Barry, G.F., Re, D.B., Eichholtz, D.A., Weldon, M., Kolacz, K. and Kishore, G.M. (1993) Purification, cloning and characterization of a highly glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4. *Monsanto Technical Report*, **MSL 12738**
- Padgett, S.R., Kolacz, K.H., Delannay, X., Re, D.B., La Vallee, B.J., Tinius, C.N., Rhodes, W.K., Otero, Y.I., Barry, G.F., Eichholtz, D.A., Peschke, V.M., Nida, D.L., Taylor, N.B. and Kishore, G.M. (1995) Development, identification and characterisation of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop science*, **35**, 1451-1461.

- Padgett, S.R., Re, D.B., Barry, G.F., Eichholtz, D.E., Delannay, X., Fuchs, R.L., Kishore, G.M. and Fraley, R.T. (1996a) New weed control opportunities: development of soybeans with a Roundup Ready gene. *CRC Handbook*, **4**, 53-84.
- Padgett, S.R., Taylor, N.B., Nida, D.L., Bailey, M.R., MacDonald, J., Holden, L.R. and Fuchs, R.L. (1996b) The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *J Nutr*, **126**, 702-16.
- Petersen, J. and Röver, A. (2005) Comparison of sugar beet cropping systems with dead and living mulch using a glyphosate resistant hybrid. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **191**, 55-63.
- Powling, A. (1982) Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from sugarbeet with normal and male-sterile cytoplasms. *Heredity*, **49**, 117-120.
- Richins, R.D., Scholthof, H.B. and Shepherd, R.J. (1987) Sequence of figwort mosaic virus DNA (caulimovirus group). *Nucleic Acids Res*, **15**, 8451-66.
- Rogers, S.G., Klee, H., Horsch, R. and Fraley, R.T. (1987) Improved vectors for plant transformation: Expression cassette vectors and new selectable markers. *Meth. Enzymol.*, **153**, 253-277.
- Sanger, M., Daubert, S. and Goodman, R.M. (1990) Characteristics of a strong promoter from Figwort Mosaic Virus: comparison with the analogous 35S promoter from Cauliflower Mosaic Virus and the regulated mannopine synthase promoter. *Plant Mol. Biol.*, **14**, 433-443.
- Savitsky, V.F. (1954) Self-sterility and self-sterility in monogerm beet. *Proceedings of the American society of beet technologists*, **8**, 29-33.
- Schonbrunn, E., Eschenburg, S., Shuttleworth, W.A., Schloss, J.V., Amrhein, N., Evans, J.N.S. and Kabsch, W. (2001) Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme EPSP synthase in atomic detail. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 1376-1380.
- Scott, R.K. and Longden, P.C. (1970) Pollen release by diploid tetraploid sugar beet plants. *Ann. Appl. Biol.*, **66**, 129-135.
- Shepherd, R.J., Richins, J.F., Duffus, J.F. and Handley, M.K. (1987) Figwort mosaic virus: properties of the virus and its adaptation to a new host. *The American Phytopathology society*, **77**, 1668-1673.
- Southern, E.M. (1975) Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, **98**, 503-517.
- Steinrücken, H.C. and Amrhein, N. (1980) The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochem Biophys Res Commun*, **94**, 1207-1212.
- Steinrücken, H.C. and Amrhein, N. (1984) 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur. J. Biochem.*, **143**, 351-357.
- Strandberg, B. and Pedersen, B.M. (2002) Biodiversity in glyphosate tolerant sugar beet fields. *National Environmental Research Institute (NERI), Technical Report 410*
- Sutcliffe, J.G. (1979) Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, **43**, 77-90.
- Timko, M.P., Herdies, L., de Alameida, E., Cashmore, A.R., Leemans, J. and Krebbers, E. (1988) Genetic engineering of nuclear-encoded components of the photosynthetic apparatus of *Arabidopsis*. In: Phillips, M., Shoemaker, S.P., Middlekauff, R.D. and Ottenbrite, R.M. (eds.), *The impact of chemistry on biotechnology - a multidisciplinary discussion*. ACS Books, Washington DC, pp. 279-295.

- Van Geyt, J.P.C., Lange, W., Oleo, M. and De Bock, T.S.M. (1990) Natural variation within the genus *Beta* and its possible use for breeding sugar beet: a review. *Euphytica*, **49**, 57-76.
- Vigouroux, Y., Darmency, H., Gestat de Garambe, T. and Richard-Molard, M. (1999) Gene flow between sugar beet and weed beet. , *BCPC Symposium Proceedings. Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops*, **72**, 83\_88.
- Zhong, H., Sun, B., Warkentin, D., Zhang, S., Wu, R., Wu, T. and Sticklen, M.B. (1996) The competence of maize shoot meristems for integrative transformation and inherited expression of transgenes. *Plant Physiol.*, **110**, 1097-1107.