

## 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 kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON810, s prihliadnutím ku skúsenostiam z pestovania tradičnej kukurice v rámci EU, ukázala, že riziko potenciálnych nežiadúcich účinkov na zdravie ľudí, zvierat a smerom k životnému prostrediu, vyplývajúcich z plánovaných pokusov s vyššie uvedenou GM kukuricou, je možné považovať za zanedbateľné.

Vzhľadom k skutočnosti, že celkové riziko vyplývajúce z použitia GM kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON810 smerom k životnému prostrediu je zanedbateľné, nie sú tu uplatňované žiadne špecifické stratégie pre menežment rizika alebo monitoring. To však nevyklučuje povinnosť sledovania výdrolu v nasledujúcom roku po zbere pokusov.

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

### MON 89034 × NK603

Pri hodnotení rizika sa porovnáva nakladanie s geneticky modifikovanou kukuricou MON 89034 × NK603 s nakladaním s geneticky nemodifikovanou, konvenčnou kukuricou. Sú posudzované možné priame a nepriame, bezprostredné a následné škodlivé účinky tohto nakladania, najmä pôsobenie na zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie.

### **Hodnotenie možných škodlivých účinkov nakladania s MON 89034 × NK603 v spojení s:**

#### 1. príjemcom

Kukurica je významnou plodinou pestovanou vo všetkých poľnohospodárskych oblastiach sveta. Nie je známe, že by kukurica, pri dodržiavaní všetkých štandardov kvality produkcie, mala škodlivé účinky na zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Je možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s príjemcom je možné považovať za zanedbateľné.

#### 2. s vloženým dedičným materiálom (pôvodom z darcovského organizmu)

Nie je známe, že by dedičný materiál, ktorý bol vnesený do rastlín kukurice, uvedený v tabuľkách č. 1 a 2, bod 2.5. v žiadosti firmy Monsanto, čj. 51991/2008-2.2-1-ZZP11 (časť žiadosti pre MON 89034 × NK603), mal škodlivé účinky na zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

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

### 3. s vektorom

MON 89034 × NK603 je produktom tradičného kríženia, obe rodičovské línie boli geneticky modifikované.

Pre transformáciu kukurice MON 89034 bol použitý vektorový plazmid PV-ZMIR245 (viď bod 2.4., obr.16 pre MON 89034, žiadosť 49822/2007-2.3-1-ZZP3), ktorý bol vyvinutý pomocou bežných techník molekulárnej biológie.

Pre transformáciu kukurice NK603 bol použitý vektorový plazmid PV-ZMGT32 (viď bod 2.5., obr.1, žiadosť 44818/2006-3.2.-1-ZZP1), ktorý bol vyvinutý pomocou bežných techník molekulárnej biológie.

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.

### 4. s vložením konštruktú

MON 89034 × NK603 je produktom tradičného kríženia, obe rodičovské línie boli geneticky modifikované. Konštrukt bol vložený do oboch rodičovských línií, kde línia MON 89034 získala vložením konštruktú novú vlastnosť tolerancie k cieľovým lepidopterám, línia NK603 zas vlastnosť tolerancie ku glyfozátu, účinnej látke herbicídu Roundup.

Nie je známe, že by vložením konštruktú do rodičovských línií 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.

### 5. so signálnymi a selekčnými génmi

#### MON 89034

Expresná kazeta *nptII* bola použitá behom počiatočného selekčného procesu po transformácii pre identifikáciu buniek, obsahujúcich insekticídny gén. Táto kazeta *nptII* potom bola segregovaná tradičným šľachtením pre získanie bezmarkerovej, insekt-tolerantnej kukurice. MON 89034 tedy gén *nptII* neobsahuje.

#### NK603

Vektorový plazmid PV-ZMGT32 obsahuje bakteriálny selektovateľný gén *nptII* kódujúci rezistenciu ku kanamycínu umožňujúci selekciu baktérií obsahujúcich plazmid a počiatok replikácie (*ori*) nutný pre replikáciu plazmidu v *E.coli* (Tab.1, viď bod 2.5., žiadosť 44818/2006-3.2.-1-ZZP1). Restrikčný fragment *MluI* vektorového plazmidu PV-ZMGT32L, ktorý bol použitý pre transformáciu NK603, obsahuje len expresné kazety génu *cp4 epsps* a neobsahuje selektovateľný gén *nptII* ani počiatok replikácie (Obr.2, viď bod 2.5., žiadosť 44818/2006-3.2.-1-ZZP1).

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

## 6. s inzertom

MON 89034 × NK603 obsahuje oba inzerty, tj. inzert z MON 89034 a inzert z NK603. Gény, ktoré boli zdedené z rodičovských línií sú uvedené v tabuľkách č. 1 a 2, bod 2.5. pre MON 89034 × NK603 v žiadosti firmy Monsanto, čj. 51991/2008-2.2-1-ZZP11.

Akákoľvek významná zmena molekulárnej charakteristiky týchto zdedených DNA inzertov v MON 89034 × NK603 je veľmi nepravdepodobná a to z nasledujúcich dôvodov:

- Neexistuje žiadny známy mechanizmus, prostredníctvom ktorého by oba dva inzerty lokalizované na odlišných miestach rôznych chromozómov, mohli stimulovať vzájomnú rekombináciu (neexprimujú proteíny zapojené do mechanizmov rekombinácie).

- Pri vyšších eukaryotických organizmoch (kukurica), prebieha potenciálna rekombinácia predovšetkým počas meiózy. Pokiaľ by však jeden z inzertov v MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810 bol behom meiózy skutočne nestabilný, bol by detekovaný pri hodnotení genetickej stability samostatných línií.

- Mitotická rekombinácia pri rastlinách je v rozsahu  $10^{-4}$  až  $10^{-5}$ , pokiaľ by existovali významné homológie medzi cieľovými úsekmi (t.j. > 500 nukleotidov) a pokiaľ by sekvencie pre rekombináciu boli fyzicky viazané. V kukurici MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810 s absenciou takých homológií a kde nie sú sekvencie vo väzbe, sú možnosti rekombinácie rádovo nižšie (Puchta, 1999). Početnosť mitotických rekombinácií medzi zdedenou DNA MON 89034, NK603 a MON 810 je v kukuriciach MON 89034 × NK603 a a NK603 × MON 810 zanedbateľná.

- Tieto rekombinácie, ktorých pravdepodobnosť je veľmi nízka (oba inzerty sú lokalizované na rôznych miestach odlišných chromozómov), by pravdepodobne spôsobili chromozomálnu translokáciu s letálnymi dôsledkami, alebo by minimálne znížili biologické fitness celej rastliny (meióza), prípadne by ovplyvnili bunkové potomstvá (mitóza).

Je teda možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s inzertom, je možné považovať za zanedbateľné.

## 7. s výsledným geneticky modifikovaným organizmom

Analýza charakteristík (viď body a-i, hodnotenia rizika pre MON 89034 × NK603) kukurice MON 89034 × NK603, s prihliadnutím na skúsenosti z pestovania konvenčnej kukurice v rámci E.U., ukázala, že riziko potenciálnych nežiadúcich účinkov na zdravie ľudí, zvierat a smerom k životnému prostrediu, je možné považovať za zanedbateľné.

## 8. s miestom a rozsahom nakladania s geneticky modifikovaným organizmom

Polné pokusy s MON 89034 × NK603 sú plánované na niekoľko málo lokalitách a na obmedzenej ploche (celková plocha cca 18 ha). Vzhľadom k tejto ploche, charakteru pokusov a charakteru lokalít (vedených výskumným pracoviskom SCPV – VÚRV Piešťany), je možné považovať riziko výskytu možných škodlivých účinkov, v spojení s miestom a rozsahom nakladania s geneticky modifikovaným organizmom za zanedbateľné.

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

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Životné prostredie v mieste nakladania s geneticky modifikovanou kukuricou tvorí poľnohospodársky využívané pozemky. Pre obmedzenie úniku geneticky modifikovanej kukurice do okolitého prostredia, prostredníctvom peľu, budú použité technické obmedzenia v podobe kombinácie izolačných vzdialeností a ochranných obsevov, obmedzenie úniku semien je limitované kontrolovanými postupmi pre zakladanie a zber pokusov. Všetko prevážané semeno je transportované v uzavretých a označených obaloch a je evidované. Je možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení so životným prostredím v mieste nakladania s geneticky modifikovaným organizmom je zanedbateľné.

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

Vzhľadom k fenotypovým a agronomickým charakteristikám (s výnimkou vnesených vlastností) je MON 89034 × NK603 podobná kukurici konvenčnej. Je teda možné konštatovať, že ekologické interakcie MON 89034 × NK603 ako s cieľovými organizmami životného prostredia, tak aj s jeho neživými zložkami, nie sú odlišné od interakcií kukurice konvenčnej (geneticky nemodifikovanej).

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

Kukurica bola do Európy introdukovaná pred viac ako päťsto rokmi, je jednoročnou plodinou bez vlastností perzistencie alebo schopnosti invázie v životnom prostredí. Vzhľadom k intenzívnej selekcii nie je kukurica schopná normálneho rastu a vývoja bez asistencie človeka.

Pokiaľ by vnesené vlastnosti zmenili fitness kukurice MON 89034 × NK603, mohlo by to mať následky v podobe zvýšenej perzistencie a invázivnosti tejto kukurice. Aspoň teoreticky, by vnesené vlastnosti (tolerancia k cieľovým lepidopterám a tolerancia ku glyfozátu), mohli mať nejaký nežiadúci účinok na životné prostredie.

Zvýšená persistencia kukurice by mohla znamenať jej zmenu v burinnú rastlinu rozširujúcu sa v životnom prostredí. Táto zmena by však bola pre rastliny *Zea mays* atypická. Po desaťročia intenzívneho šľachtenia vrátane využitia mutagenézy a ďalších metód rozširujúcich genetickú diverzitu kukurice, nebola žiadna takáto zmena nikdy opísaná. To platí aj pre rodičovské línie MON 89034 a NK603 a je vysoko nepravdepodobné, aby sa tieto zmeny objavili u hybridu MON 89034 × NK603

V štátoch E.U. sa pestuje ročne okolo šesť miliónov hektárov tejto plodiny, pozberané zrnó je transportované tisíce kilometrov po železnici, cestnou, alebo vodnou dopravou a napriek tomu kukurici nenachádzame rásť na okrajoch ciest, v priekopách, alebo na industriálnych miestach s výskytom celej rady burinných rastlín. Štúdie výskytu spontánnych populácií rastlín na neobrábaných poliach (v „set-aside“ režime) vo Francúzsku nepotvrdili výskyt kukurice na týchto pozemkoch (Bodet *et al.*, 1994; Mamarot a Rodriguez, 1994). Kukurica nie je považovaná za zaburiňujúcu plodinu osevného postupu. Je tomu preto, lebo semená kukurice nemajú dormanciu, špatne prežívajú v pôde, rastliny sú citlivé na mráz

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

a kultiváciu v rámci prípravy pôdy k siatiu následnej plodiny (Hick a Thomison 2004; OECD, 2003; Shaw, 1988).

Zrno kukurice je jedinou prežívajúcou formou tejto plodiny, regenerácia z vegetatívnych orgánov nie je v prírode známa. Kukurice je od burinných rastlín odlišná svojím oddeleným kvetenstvom, keď samičie kvetenstvo – šúľok, je uzavreté listeňmi. Semená tak nemajú potenciál samovoľného uvoľňovania, avšak môžu byť rozširované mechanicky behom zberu, divou zverinou alebo poliehaním rastlín spôsobenej škodcami a vetrom, keď šúľky spadnú na povrch pôdy. Aj keď časť semien môže za vhodných podmienok miernej a vlhkej zimy prezimovať a vyklíčiť na jar nasledujúceho roku, kukurice sa nestane perzistentnou burinou (Hallauer, 1995; OECD, 2003). Výskyt výdrolu kukurice v osevnom postupe býva v európskych podmienkach ojedinelý, lebo mladé rastliny bývajú likvidované mrazom alebo sú jednoducho likvidované kultiváciou pôdy a použitím herbicídov pri následných plodinách.

Vyššie uvedené závery nie sú odlišné pre MON 89034 × NK603. Ako je opisované v bode 2.16 žiadosti pre MON 89034 × NK603, vlastnosti kukurice MON 89034 × NK603 sú zhodné s vlastnosťami kukurice konvenčnej (nemodifikovanej), s výnimkou jej tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancie ku glyfozátu. Výsledky poľných pokusov, zameraných na hodnotenie fenotypových, agronomických, reprodukčných a ďalších znakov ukázali, že táto geneticky modifikovaná kukurica sa od kukurice tradičnej neodlišuje (viď bod 2.16. žiadosti pre MON 89034 × NK603). Vzhľadom k tomu, že genetická modifikácia rodičovských línií MON 89034 a NK603, rovnako ako zdedenie týchto vlastností kukuricou MON 89034 × NK603, nevyvolalo žiadne biologicky významné rozdiely fenotypu, ktoré by zmenili fitness tejto kukurice v porovnaní s kukuricou konvenčnou, je veľmi nepravdepodobné, aby MON 89034 × NK603 bola v poľných podmienkach viac perzistentná, alebo v prírode viac invazívna. Vnesené vlastnosti tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancia ku glyfozátu by nemali navodzovať nijakú významnú výhodu alebo nevýhodu, ktorá by mala vplyv na prežívanie kukurice v prostredí (viď nasledujúci bod b).

Pravdepodobnosť nezamýšľaného rozširovania MON 89034 × NK603 do nepoľnohospodárskeho prostredia je zanedbateľná. V porovnaní s tradičnou kukuricou, nie je perzistencia tejto kukurice v poľných podmienkach a jej invazívna schopnosť do okolitého prostredia zmenená. Pokiaľ by došlo k rastu rastlín MON 89034 × NK603 v „nepoľnohospodárskom“ prostredí, čo je veľmi nepravdepodobné, tak by dôsledky tohto rastu na životné prostredie boli zanedbateľné.

Riziko nezamýšľaného rozširovania MON 89034 × NK603 je vzhľadom k obmedzeným schopnostiam kukurice stať sa burinnou rastlinou zanedbateľné. Z tohoto dôvodu nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment rizika.

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

Vzhľadom k dlhodobým skúsenostiam s pestovaním kukurice v Európe, je obtiažne si predstaviť mechanizmus, ktorým by rastliny kukurice, rastúce mimo pestovateľskej plochy, negatívne ovplyvňovali biodiverzitu.

Pokiaľ by nové vlastnosti MON 89034 × NK603 prepožičiavali tejto kukurici nejakú v životnom prostredí významnú selekčnú výhodu, je treba to hodnotiť v porovnaní s konvenčnou kukuricou a vo vzťahu k ostatnej vegetácii. Významná zmena biologických

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

vlastností MON 89034 × NK603 by teoreticky mohla viesť k tomu, že by táto kukurica získala konkurenčnú výhodu nad ostatnými rastlinami práve z pohľadu jej známej nekonkurencieschopnosti v životnom prostredí. Týmto, aspoň teoreticky, by nové vlastnosti GM kukurice mohli vyvolať nejaký nežiadúci účinok.

Pokiaľ by uvažovaná selekčná výhoda MON 89034 × NK603 viedla až k zmene, keby sa stala z kukurice zaburiňujúca rastlina, vyústilo by to v jej invazívne rozširovanie do životného prostredia. To je ale veľmi nepravdepodobné, žiadne také správanie nebolo nikdy opísané pri oboch rodičovských líniách MON 89034 a NK603. Ako je uvádzané v bodoch 2.16. a 2.19. žiadosti pre MON 89034 × NK603, vložené sekvencie génov, pri porovnaní s konvenčnou kukuricou, nespôsobujú žiadne biologicky významné premeny ostatných fenotypových vlastností, ako sú napr. rast a vývoj rastlín, morfológia, agronomické vlastnosti, zloženie zásobných látok, nutričná hodnota alebo zdravotná nezávadnosť. Vyhodnotenie akejkoľvek konkurenčnej výhody či nevýhody tak bude vždy smerované na analýzu vložených vlastností (tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancie ku glyfozátu).

V porovnaní s konvenčnou kukuricou, by prítomnosť vlastností tolerancie k cieľovým lepidopterám mohla poskytovať určitú selekčnú výhodu v prostredí s vysokým výskytom cieľových škodcov a to len v prípade absencie omnoho dôležitejších environmentálnych a kultivačných faktorov, ktoré ovplyvňujú prežitie kukurice. Podobne aj vlastnosť tolerancie ku glyfozátu poskytuje kukurici výhodu, ktorá je aktuálna iba v prostredí, kde je aplikovaný glyfozát. Z pohľadu súčasne používaných pestovateľských praktík používaných pre kukuricu nemá táto „výhoda“ žiadny ekologický význam. Ochrana porastov proti burinám, či už pomocou herbicídov alebo mechanicky, je jedným zo základných technologických postupov rastlinnej výroby. V praxi sú tieto výhody relevantné len v poľnohospodárskom prostredí; pre nepoľnohospodárske prostredie predstavujú iba minimálne riziko, kde by každá táto výhoda mohla trvať len veľmi krátko a to z dôvodu veľmi nízkych schopností prežívania rastlín kukurice (viď predchádzajúci bod a). Viacmenej ojedinelý výdrol kukurice je možné ľahko eliminovať mechanicky, prípadne radou graminicídov, ktoré sú v rastlinnej výrobe k dispozícii.

Kukurica MON 89034 × NK603 je vo svojej podstate zhodná s kukuricou konvenčnou, s výnimkou vložených vlastností tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancie ku glyfozátu. Týmto je riziko MON 89034 × NK603, vzhľadom k poľnohospodárskemu a „nepoľnohospodárskemu“ prostrediu zanedbateľné. Nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre manažment rizika.

c) 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

MON 89034 × NK603, rovnako ako ostatné kukurice, nie je sexuálne kompatibilná so žiadnymi domácimi alebo introdukovanými divorastúcimi druhmi v Európe. Týmto je možnosť prenosu dedičného materiálu limitovaný len v rámci pestovanej kukurice.

Všetky kukurice pestované v Európe sa môžu medzi sebou krížiť. Peľ kukurice produkovaný nejakou špecifickou líniou alebo hybridom, môže byť prenášaný vetrom na krátke vzdialenosti a opeliť tak ďalšie materiály kukurice. Rovnako tak aj kukurica MON 89034 × NK603 produkuje normálny peľ, ktorým môžu byť opelené susediace rastliny

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

inej odrody. Na túto odrodu sa prenesú tiež vlastnosti tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancie ku glyfozátu, ktoré sa ďalej exprimujú v jej potomstve.

Potenciálne cudzoopelenie vlastností vložených v GM kukurici môže, aspoň teoreticky, spôsobiť nejaký nežiadúci environmentálny účinok. Pokiaľ by prenos genetickej informácie (vlastností GM kukurice) sexuálne kompatibilným rastlinám mal spôsobiť nejakú konkurenčnú výhodu a týmto vylepšiť biologické fitness rastlín príjemcu, tak by sa tieto rastliny mohli stať invazívnym druhom a potenciálne sa rozširovať v životnom prostredí.

Ako je uvedené v časti C, bode 1.5 tejto žiadosti, je potenciál prenosu dedičného materiálu medzi rastlinami kukurice limitovaný mobilitou peľu (Hansen, 1999; Sears a Stanley-Horn, 2000). Pravdepodobnosť prenosu dedičného materiálu medzi susediacimi porastmi kukurice ďalej ovplyvňuje synchronizácia kvitnutia, vzdialenosť medzi porastmi a ich lokalizácia, tj. ich umiestnenie po smeru prevládajúcich vetrov (Devos *et al.* 2005).

Ako už bolo zmienené, prenos vlastností tolerancie k cieľovým lepidopterám by spôsobil selekčnú výhodu iba v prostredí s mimoriadne vysokým výskytom druhov cieľových škodcov a s absenciou ďalších, omnoho dôležitejších faktorov ovplyvňujúcich prežívanie kukurice (viď bod b tohto hodnotenia rizika). Podobne aj prenos vlastnosti tolerancie ku glyfozátu by poskytoval selekčnú výhodu iba v prostredí s jeho aplikáciou. Tieto výhody sú čiste agronomického významu a pre nepoľnohospodárske prostredie predstavujú len zanedbateľné riziko; navyše by trvali len veľmi krátko a to z dôvodu veľmi nízkych schopností kukurice prežívať v prostredí. Potenciál uplatnenia výdrolu (zrn F2 generácie), tj. jeho schopnosti sa šíriť v životnom prostredí, je zanedbateľný (viď bod a tejto časti hodnotenia rizika).

Väčšina peľu kukurice zostáva v krátkych vzdialenostiach od zdroja, takže pravdepodobnosť prenosu vložených vlastností GM kukurice na susediace kukurice je nízka. Navrhované opatrenie v podobe izolačnej vzdialenosti a ochranného obsevu, ktoré sprevádzajú realizáciu poľných pokusov, ďalej významne redukuje potenciál tohto prenosu. Pravdepodobnosť prenosu dedičného materiálu GM kukurice MON 89034 × NK603 na okolitú kukuricu je v rámci definovaného režimu poľných pokusov zanedbateľná.

Záverom je možné konštatovať, že možnosť prenosu dedičného materiálu s MON 89034 × NK603 na divorastúce druhy je v podmienkach Európy nereálny. Prenos na ostatné materiály kukurice je obmedzený klimatickými podmienkami, synchronizáciou kvitnutia a vzdialeností. V prípade, že by došlo k prenosu vložených génov na ostatné materiály kukurice, potom by tento prenos nemal žiadne vážne dôsledky pre životné prostredie (viď bod b). Environmentálne riziko, spôsobené týmto prenosom je možné považovať za zanedbateľné, z tohoto dôvodu nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment rizika.

d) 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)

MON 89034 × NK603 sa od konvenčnej kukurice odlišuje len expresiou proteínov Cry1A.105 a Cry2Ab2, ktoré zabezpečujú ochranu pred cieľovými lepidopterami a CP4 EPSPS, ktorý zodpovedá za toleranciu ku glyfozátu (viď bod 2.20. žiadosti pre MON 89034 × NK603). Proteín CP4 EPSPS nemá žiadny cieľový organizmus, preto nie je možné v tomto ohľade definovať žiadne potenciálne škodlivé vlastnosti tohto proteínu. Vyhodnotenie možných škodlivých účinkov prostredníctvom priamych alebo nepriamych

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

interakcií GM kukurice a cieľových organizmov je tak vzťahované na zdedené insekticídne proteíny.

Insekticídny účinok proteínov Cry1A.105 a Cry2Ab2 na larvy cieľového hmyzu môže mať vplyv na úroveň jeho populácie. Teoreticky by tak mohol nepriamo pôsobiť na populačnú dynamiku organizmov, ktoré s cieľovým škodcom interagujú (napr. užitočný hmyz, parazitoidi, patogénne a toxigénne huby).

Význam možných dôsledkov, či už priamych účinkov na cieľové organizmy alebo nepriamych trofických účinkov na necieľové organizmy, by mal byť vždy chápaný v širšom kontexte a to v porovnaní s pôsobením a účinkami metód konvenčnej poľnohospodárskej produkcie. To znamená, že do úvahy by sa mali brať účinky tradičných, širokospektrálnych insekticídov používaných v kukurici a ďalších plodinách.

Pestovaná kukurica interaguje s radou herbivorných hmyzích škodcov, ktorí môžu spôsobovať vážne poškodenie porastu prejavujúcej sa nižšími výnosmi a zníženou kvalitou pozberaného produktu. Vijačka kukuričná (*Ostrinia nubilalis*) je na Slovensku ekonomicky významným škodcom rozšíreným vo všetkých hlavných oblastiach pestovania kukurice. Vzhľadom k endofytickému správaniu sa lariev škodcu je tradičná chemická ochrana často neefektívna. Akonáhle sa larvy zavrtajú do rastlín kukurice, stávajú sa pre aplikovaný insekticíd nedostupné. Navyše širokospektrálny účinok niektorých aplikovaných chemických insekticídov nepriaznivo pôsobí na necieľové organizmy životného prostredia. Tieto neselektívne insekticídy sú tak menej vhodné, alebo dokonca nekompatibilné s metódami biologickej ochrany používané v integrovanej ochrane rastlín (IPM).

Použitie kukurice s expresiou *delta*-endotoxínov odvodených od *Bt*, poskytuje z environmentálneho hľadiska trvale udržateľnú stratégiu pre kontrolu cieľového/škodlivého hmyzu (Rice a Pilcher, 1999).

Zdedená insekticídna vlastnosť v MON 89034 × NK603 pôsobí iba na larvy cieľového škodcu (*Lepidoptera*). Účinok tejto kukurice na cieľové organizmy je limitovaný špecifickými „poľnými“ podmienkami (obmedzenie priestorové a časové). Cieľové organizmy sú významnými škodcami agrofytocenózy, z tohto pohľadu nie je ich priama regulácia chápaná ako škodlivý environmentálny účinok.

V porovnaní so súčasnými spôsobmi regulácie škodcov, najmä s používaním širokospektrálnych chemických insekticídov, nie sú potenciálne nepriama alebo trofické účinky spojené s potlačením populácie cieľového škodcu, vzhľadom k možným interakciám s organizmami životného prostredia významné. Naopak, Cry proteíny sú špecifické (viď bod 2.20. žiadosti pre MON 89034 × NK603) a priamo nepôsobia na užitočný hmyz. Použitie kukurice MON 89034 × NK603 je úplne kompatibilné so zásadami integrovanej ochrany rastlín a s trvale udržateľným spôsobom hospodárenia v poľnohospodárstve. Rovnako aj kombinácia insekticídnych proteínov Cry1A.105 a Cry2Ab2 v jednej rastline, poskytuje lepšiu kontrolu škodlivého hmyzu a poskytuje ďalší nástroj riadenia vzniku rezistencie (IRM). Ďalší užitočný účinok ekologickej interakcie MON 89034 × NK603 s cieľovými organizmami, je daný nepriamou redukciou sekundárneho napadnutia bežnými patogénnymi alebo toxigénnymi hubami, ako sú *Fusarium spp.* (Bakan *et al.*, 2002; Magg *et al.*, 2002; Masoero *et al.*, 1999; Munkvold, 2002; Munkvold *et al.*, 1997; Wu, 2006). V dôsledku toho má táto kukurica potenciál obsahovať nižšie hladiny určitých nebezpečných mykotoxínov, ktoré pokiaľ sú obsiahnuté v krmivách, môžu spôsobiť vážne onemocnenia a dokonca smrť hospodárskych zvierat (Etzell, 2002; Hussein a Brasel, 2001; Huwig *et al.*, 2001).

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810



MON 89034 × NK603 predstavuje len zanedbateľné riziko nepriaznivých environmentálnych dopadov v dôsledku jej interakcie s cieľovými organizmami. Relevantné tejto diskusii o cieľových organizmoch sú potenciálne environmentálne prínosy pestovania tejto GM kukurice: 1) spoľahlivý prostriedok pre kontrolu špecifických škodcov kukurice - lepidopter pri zachovaní užitočných druhov; 2) potenciál pre zníženie používania širokospektrálnych chemických insekticídov; 3) mimoriadny súlad s metódami integrovanej ochrany (IPM) a udržateľnými systémami poľnohospodárskeho hospodárenia; 4) znížené riziko vzniku rezistencie voči *Bt* proteínom; 5) potenciálne znížené obsahy mykotoxínov, ako sú napr. fumonisíny kukuričného zrna, ktoré sú dôsledkom poškodení rastlín larvami s následnou infekciou hubovými chorobami.

Záverom je možné konštatovať, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na životné prostredie, spôsobené priamymi alebo nepriamymi interakciami medzi MON 89034 × NK603 a cieľovými organizmami je zanedbateľné, z toho dôvodu nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment rizika.

e) 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

Základné interakcie MON 89034 × NK603 s necieľovými organizmami životného prostredia sa neodlišujú od interakcií kukurice konvenčnej, s výnimkou priamej expozície herbivorných škodcov kukurice k proteínom Cry1A.105, Cry2Ab2 a CP4 EPSPS, ktoré sú exprimované rastlinou. Potenciálne expozície necieľových organizmov prostredia k týmto proteínom môže, apoň teoreticky, spôsobiť nejaký nežiadúci environmentálny účinok. Teoreticky by dôsledok takého kontaktu medzi necieľovými organizmami a exprimovanými proteínmi v GM kukurici (ktoré by boli organizmom toxické), mohol mať vplyv na úroveň populácie týchto organizmov.

Pravdepodobnosť prejavu nepriaznivých environmentálnych následkov vyplývajúcich z expozície necieľových organizmov novo exprimovaným Cry1A.105, Cry2Ab2 a CP4 EPSPS proteínom v MON 89034 × NK603, je považovaná za zanedbateľnú (viď bod 2.21 žiadosti pre MON 89034 × NK603). Hodnotenie zdravotnej nezávadnosti oboch rodičovských línii MON 89034 a NK603 (MON 89034 viď informácie v žiadosti 49822/2007-2.3.-1-ZZP3, NK603 viď informácie v žiadosti 44818/2006-3.2.-1-ZZP1), ktoré hodnotí environmentálne riziká ako zanedbateľné, spolu s bežnými šľachtiteľskými postupmi tvorby hybridov kukurice dokladujú, že neexistuje žiadne podozrenie, že by interakcia necieľových organizmov s MON 89034 × NK603, alebo zdedenými proteínmi, boli v porovnaní s rodičovskými líniami akokoľvek zmenené.

MON 89034 × NK603 exprimuje proteíny Cry1A.105 a Cry2Ab2, chrániace rastliny proti predácii herbivornými, dôležitými hmyzími škodcami kukurice. Insekticídna špecificita Cry proteínov môže byť vysvetlená niekoľkými mechanizmami v spôsobe účinku, ktorý je opísaný v bode 2.20. (časť pre MON 89034 × NK603). Rozhodujúcim krokom v mechanizme pôsobenia Cry proteínov je ich väzba na receptory, bez ktorých by sa toxický účinok nemohol prejavovať. Ireverzibilná väzba toxínov na receptory strednej časti tráviacej trubice je v korelácii s citlivosťou hmyzu. Toto je kľúčovým faktorom vysvetľujúcim nezávadnosť Cry proteínov pre necieľové organizmy ako sú ryby, vtáci, zvieratá, cicavce a necieľové bezstavovce.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Dodnes neboli identifikované receptory pre tieto proteíny ve črevných bunkách cicavcov (Noteborn a Kuiper, 1994; Sacchi *et al.*, 1986; Van Mellaert *et al.*, 1988).

Pre charakterizáciu spektra insekticídnej aktivity proteínů Cry1A.105 a Cry2Ab2 voči agronomicky dôležitým druhom hmyzu z rôznych rodov, bolo uskutočnené množstvo biologických kŕmnych testov s čistým proteínom alebo lyofylizovanými listovými pletivami z MON 89034. Tieto biotesty boli uskutočnené na reprezentatívnych škodlivých a neškodlivých druhoch hmyzu z piatich radov.

Proteín Cry1A.105 bol testovaný na nasledovných druhoch: v rámci radu Coleoptera, *Anthonomus g. grandis* (Curculionidae), *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Chrysomelidae), *Coleomegilla maculata* (Coccinellidae); v rámci radu Lepidoptera, *Agrotis ipsilon* (Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Ostrinia nubilalis* (Crambidae), *Diatraea grandiosella* (Crambidae); v rámci radu Hemiptera, *Lygus hesperus* (Miridae), *Myzus persicae* (Aphididae), *Orius insidiosus* (Anthocoridae); v rámci radu Hymenoptera, parazitoidná osička *Ichneumon promissorius* (Ichneumonidae) a včela medonosná *Apis mellifera* (Apidae); a v rámci radu Collembola, druh chvostoskoka *Folsomia candida* (Isotomidae).

Nasledujúce druhy boli testované s Cry2Ab2: v rámci radu Coleoptera, *Anthonomus g. grandis* (Curculionidae), *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Chrysomelidae), *Coleomegilla maculata* (Coccinellidae); v rámci radu Lepidoptera, *Agrotis ipsilon* (Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Ostrinia nubilalis* (Crambidae), *Diatraea grandiosella* (Crambidae); v rámci radu Hemiptera, *Lygus hesperus* (Miridae), *Myzus persicae* (Aphididae), *Orius insidiosus* (Anthocoridae); v rámci radu Hymenoptera, parazitoidné osičky *Ichneumon promissorius* (Ichneumonidae) a *Nasonia vetripennis* (Ichneumonidae), *Apis mellifera* (Apidae); a v rámci radu Collembola, druh chvostoskoka *Folsomia candida* (Isotomidae).

Biologicky významný insekticídny účinok byl pozorovaný iba pri druhoch z radu Lepidoptera.

Štúdiá hodnotiaca potenciálny vplyv proteínů Cry1A.105 a Cry2Ab2 na cieľové organizmy ukázala, že rovnako ako u ostatných *Bt* Cry proteínů, Cry1A.105 a Cry2Ab2 nevykazujú akékoľvek biologicky významné účinky na testovaných zástupcov vtákov (prepelica viržinská), vodných (mäkkýše, *Daphnia magna*) a terestrické užitočné druhy bezstavovcov (včela medonosná, *Apis mellifera*; Collembola, *Folsomia candida*; *Orius insidiosus*; *Coleomegilla maculata*; *Ichneumon promissorius*; a dážďovky). Zástupcovia týchto druhov boli vystavené umelej strave lyofylizovaných listov, peľu alebo zŕn obsahujúcich proteíny Cry1A.105 a Cry2Ab2, alebo vysokým koncentráciám čistých proteínů Cry1A.105 alebo Cry2Ab2 produkovaných fermentáciou v *B. thuringiensis* alebo *E. coli*.

MON 89034 × NK603 eprimuje tiež proteín CP4 EPSPS, ktorý spôsobuje toleranciu rastlín ku glyfozátu. Aj keď je CP4 EPSP novým proteínom exprimovaným v glyfozát tolerantných plodinách, nie je však novou látkou pre životné prostredie. Gén *cp4 epsps* je odvodený zo známej pôdnej baktérie *Agrobacterium sp.* (kmeň CP4). Ako endogénne rastlinné proteíny EPSPS, tak aj vložený CP4 EPSPS patrí do spoločnej rodiny EPSPS proteínů – enzýmov, ktoré sú prirodzenou súčasťou životného prostredia. Je možné ich nájsť v baktériách, hubách, riasách a vo všetkých vyšších rastlinách. V týchto organizmoch sa EPSPS podieľa na šikimátovej biosyntéze, teda na procese tvorby aromatických aminokyselín, ktorý je v rastlinách inhibovaný herbicídnom s účinnou látkou glyfozát. Vložený

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

proteín CP4 EPSPS je funkčne podobný endogénnym rastlinným enzýmom, s výnimkou jeho tolerancie k inhibičným účinkom glyfozátu. Akékoľvek necieľové organizmy životného prostredia, ktoré by boli vystavené CP4 EPSPS z rastlín kukurice MON 89034 × NK603, alebo z prípadného výdrolu, sa v prírode vyvíjali spoločne s širokým spektrom zelených rastlín a mikroorganizmov. Je teda možné konštatovať, že tieto organizmy majú za sebou dlhú históriu expozície voči týmto zdravotne nezávadným proteínom. Na základe prirodzeného výskytu EPSPS enzýmov v životnom prostredí, rovnako tak ako dlhej histórie bezpečného používania CP4 EPSPS v glyfozát tolerantných plodinách (napr. kukurica NK603 alebo glyfozát tolerantná sója), je veľmi nepravdepodobné, aby proteíny CP4 EPSPS, alebo akýkoľvek ďalší EPSPS proteín bol nejakým biologicky aktívnym a pôsobil na necieľové organizmy ako sú rastliny, mikroorganizmy, bezstavovce a stavovce.

Celý rad necieľových organizmov bol testovaný na citlivosť k proteínu CP4 EPSPS buď v jeho čistej forme, alebo podávaného v rastlinných pletivách získaných z glyfozát tolerantných plodín: *Plathypena scabra*, *Schyzaphis graminum*, *Diuraphis noxia*, *Aceria tosichella*, *Ostrinia nubilalis*, dážďovka *Eisenia fetida* a chvostoskok *Folsomia candida*. Neboli zaznamenané žiadne rozdiely vo vývoji alebo mortalite vyššie uvedených organizmov medzi glyfozát tolerantnými rastlinami a konvenčnou kontrolou.

Je veľmi nepravdepodobné, aby na základe veľmi dobre zdokumentovaného mechanizmu účinku proteínov Cry a CP4 EPSPS (selektivite toxínov Cry1A.105 a Cry2Ab2 voči cieľovým lepidopterám) a štúdií potvrdzujúcich absenciu škodlivých účinkov voči necieľovému hmyzu, vykazovala MON 89034 × NK603 nejaké škodlivé pôsobenie smerom k necieľovým organizmom či už priamo, alebo prostredníctvom nepriamych interakcií.

Riziko vyplývajúce z možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na životné prostredie, spôsobené priamymi alebo nepriamymi interakciami medzi MON 89034 × NK603 a necieľovými organizmami, vrátane vplyvu na úroveň populácií konkurentov, bylinožravcov, prípadne symbiontov, parazitov a patogénov, bolo vyhodnotené ako zanedbateľné, preto nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment tohto rizika.

f) 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

Kukurica MON 89034 × NK603 je z hľadiska agronomických a fenotypových charakteristík vo svojej podstate zhodná s kukuricou konvenčnou, od ktorej sa odlišuje iba vo vlastnostiach tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancie ku glyfozátu (vyvolaných expresiou proteínov Cry1A.105, Cry2Ab2, a CP4 EPSPS). Teoreticky by potenciálna toxicita, alebo alergénne vlastnosti mohli byť spojované s novými exprimovanými proteínmi GM plodiny. Týmto, môže expresia proteínov Cry a CP4 EPSPS predstavovať vlastnosti geneticky modifikovanej vyššej rastliny, ktoré aspoň teoreticky, môžu spôsobiť nejaké nežiaduce účinky osobám, ktoré s ňou prichádzajú do styku.

Pokiaľ by exprimované proteíny, zdedené v MON 89034 × NK603, mali nejaký toxický či alergénny potenciál, potom by mohli spôsobiť nejakú významnú zmenu z pohľadu bezpečnosti práce pri nakladaní s touto kukuricou. Akékoľvek negatívne účinky, spojené s bezpečnosťou práce - s nakladaním s MON 89034 × NK603 sú veľmi nepravdepodobné. Žiadne také účinky neboli nikdy pozorované u oboch rodičovských línií MON 89034

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

a NK603. Akákoľvek zmena podmienok bezpečnosti práce vyplývajúca z GM kukurice by mala byť chápaná a porovnávaná v kontexte nakladania s kukuricou konvenčnou.

Táto žiadosť je podávaná za účelom získania súhlasu k zavedeniu GM kukurice do životného prostredia. Osoby, ktoré budú v kontakte s touto kukuricou, budú pracovníci výskumu a technici. Kontakt s rastlinami alebo zrnom/materiálom kukurice MON 89034 × NK603 sa všeobecne neodlišuje od kontaktu (manipulácie) s kukuricou konvenčnou.

Zdravotná nezávadnosť novo exprimovaných proteínov je opísaná v bode 2.17. pre MON 89034 × NK603. Zdravotná nezávadnosť proteínov Cry1A.105, Cry2Ab1 a CP4 EPSPS je možné demonštrovať na základe a) charakterizácie proteínov, b) absencie podobnosti týchto proteínov so známymi alergénmi a toxínmi, c) rýchleho rozkladu proteínov v simulovaných tráviacich systémoch a d) absencie akútnej toxicity proteínov sledované na laboratorných potkanoch. V žiadnom z vyššie uvedených prípadoch neboli opísané žiadne negatívne účinky na ľudské zdravie.

Na základe skúseností s pokusným pestovaním tejto GM kukurice v U.S.A., neboli nikdy zaznamenané nijaké negatívne účinky (toxicita alebo alergenicita exprimovaných proteínov) na zdravie ľudí, spojené s nakladaním s MON 89034 × NK603.

Záverom je možné konštatovať, že pravdepodobnosť výskytu nejakých nežiadúcich účinkov na ľudské zdravie, vyplývajúce z kontaktu medzi GM kukuricou MON 89034 × NK603 (obsahujúcou vyššie zmienené proteíny Cry a CP4 EPSPS) a človekom, sa neodlišuje od pravdepodobnosti výskytu týchto účinkov pri kukurici konvenčnej.

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na ľudské zdravie, vyplývajúce z možných priamych alebo nepriamych interakcií medzi MON 89034 × NK603 a osobami prichádzajúcimi s ňou do styku je zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment tohto rizika.

g) Možné okamžité alebo oneskorené účinky na zdravie zvierat a dôsledky pre potravinový reťazec vyplývajúce z konzumácie geneticky modifikovaného organizmu a akýchkoľvek výrobkov, ktoré sú z nich odvodené ak sa plánujú použiť ako živočíšne krmivo

Okrem vložených vlastností tolerancie k cieľovým lepidopterám a tolerancie ku glyfozátu je MON 89034 × NK603 vo svojej podstate zhodná s kukuricou konvenčnou. Na základe storočí skúseností s tradičnou kukuricou v Európe, kukurica nemá potenciál nejakých škodlivých účinkov na zdravie chovaných zvierat.

Teoreticky, by novo produkované proteíny tejto GM kukurice mohli pôsobiť toxicky a spôsobovať tak problémy s výživou zvierat. Z tohto pohľadu je expresia proteínov Cry1A.105, Cry2Ab2 a CP4 EPSPS vlastnosťou GM vyššej rastliny, ktorá by aspoň teoreticky, mohla spôsobiť nejaký škodlivý účinok. Pokiaľ by tieto zdedené proteíny v MON 89034 × NK603 mali nejaký toxický, alebo alergénny potenciál, alebo by nejakým spôsobom negatívne ovplyvňovali užitočnosť využitia tejto kukurice, potom by toto mohlo spôsobiť významnú zmenu z hľadiska nutričných vlastností alebo zdravotnej nezávadnosti. Táto zmena by mohla nastoliť problémy s využiteľnosťou krmiva, so znížením prírastkov, s produkciou mlieka alebo s celkovým zhoršením zdravotného stavu zvierat. Prejav akýchkoľvek negatívnych účinkov MON 89034 × NK603 smerom k zdraviu zvierat je vysoko

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

nepravdepodobný. Žiadne také účinky neboli nikdy pozorované u oboch rodičovských línií MON 89034 a NK603.

Táto žiadosť je určená pre nakladanie s geneticky modifikovanou kukuricou v režime zavádzania do životného prostredia (poľné pokusy) a nezahŕňa bežné krmivárske využitie vyprodukovaného zrna (príp. ďalších produktov tejto kukurice). Týmto je možné považovať riziko akýchkoľvek nežiadúcich prejavov MON 89034 × NK603 v potravinovom, alebo krmivárskom reťazci plynúce z expozície zvierat voči vloženým proteínom za zanedbateľné.

Zdravotná nezávadnosť exprimovaných proteínov je opísaná v bode 2.18. žiadosti pre MON 89034 × NK603. Proteíny Cry1A.105, Cry2Ab1 a CP4 EPSPS nevykazujú žiadne známky akútnej toxicity sledované na myšiach, sú rýchlo rozkladané v simulovaných tráviacich systémoch a nie sú štrukturálne podobné alergénom alebo toxínom. Analýzy obsahových látok kukurice ukazujú, že MON 89034 je z hľadiska zloženia zásobných látok a nutričných vlastností zhodná s kukuricou konvenčnou, týmto je pre potravinové a kŕmne využitie rovnako tak bezpečná, ako kukurica konvenčná.

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na zdravie zvierat a dôsledky pre potravinový reťazec, vyplývajúce z konzumácie MON 89034 × NK603 bolo vyhodnotené ako zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment tohto rizika.

h) 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

Pestovanie kukurice všeobecne nepriamo ovplyvňuje biogeochemické procesy, napr. prostredníctvom spracovania pôdy, hnojením, alebo pestovaním monokultúry. Bolo konštatované, že MON 89034 × NK603 je z hľadiska obsahového zloženia, agronomických a fenotypových vlastností zhodná s kukuricou konvenčnou (viď bod 2.15. a 2.18. žiadosti pre MON 89034 × NK603). Nebolo nikde zistené alebo opísané, že by sa táto kukurica odlišovala od jej konvenčnej formy, vzhľadom k jej pôsobeniu na biogeochemické procesy a na úroveň živín v pôde.

Teoreticky je možné konštatovať, že novo exprimované proteíny Cry1A.105, Cry2Ab2 a CP4 EPSPS sú vlastnosťami GM vyššej rastliny, ktoré by mohli, alpoň teoreticky, spôsobiť nejaký škodlivý environmentálny účinok na biogeochemické procesy. Pokiaľ by tieto proteíny (zdedené v MON 89034 × NK603) mali potenciál negatívne pôsobiť na populácie pôdnych dekompozítorov a detritofágov, potom by mohlo dôjsť k ovplyvneniu biogeochemických procesov, v ktorých tieto organizmy pôsobia. To by mohlo viesť k zmene nutričných cyklov životného prostredia. Toto je však vysoko nepravdepodobné; MON 89034 × NK603 je produktom tradičného kríženia medzi MON 89034 a NK603, kde u oboch týchto rodičovských línií neboli takéto účinky (exprimovaných proteínov) nikdy zaznamenané.

Táto žiadosť je podávaná za účelom pokusného pestovania MON 89034 × NK603 v režime uvoľnenia do životného prostredia; pravdepodobnosť významnej expozície organizmov pôdneho ekosystému voči tejto kukurici s následnými zmenami ich zloženia je zanedbateľná.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Aj keď proteíny Cry, prítomné v rozkladajúcej sa hmote MON 89034 × NK603, sú považované za nové látky produkované kukuricou, tak nie sú v pôde novými proteínmi. Dekompozítori a interagujúce pôdne detritofágy sú dlhodobo vystavené rôznym, prirodzene sa vyskytujúcim *Bt* proteínom, odvodených z genómu známej pôdnej baktérie *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* a *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Proteíny CP4 EPSP patria do dobre charakterizovanej skupiny proteínov EPSPS, ktoré sú bežne prítomné v baktériách, hubách, riasach a všetkých vyšších rastlinách. Väčšina dekompozítorov produkuje vlastné proteíny EPSPS. Nie je teda dôvod sa domnievať, že by nejaký z týchto proteínov (Cry, CP4 EPSPS) mohol negatívne ovplyvňovať procesy dekompozície.

Toxíny Cry majú špecifický spôsob účinku voči cieľovým lepidopterám, kde necieľové organizmy nedisponujú špecifickými väzobnými miestami pre toxíny. Enzým CP4 EPSPS je enzým funkčný v biosyntéze šikimátu; nemá žiadny cieľový organizmus a nemá žiadne toxické účinky (viď bod e). Z týchto dôvodov je potenciálna aktivita týchto proteínov, smerom k mikroorganizmom zahrnutým v biogeochemických pôdnych procesoch nevýznamná. Navyše bolo preukázané, že tieto proteíny podliehajú v pôde rýchlemu rozkladu (Palm *et al.*, 1996; Dubelman *et al.*, 2005, Pruett *et al.*, 1980; Sims a Holden, 1996; West, 1984; West *et al.*, 1984). Táto rýchla degradácia je dôležitým faktorom podporujúcim absenciu škodlivých účinkov proteínů Cry a CP4 EPSPS na organizmy zapojené v rozkladných funkciách a na necieľové organizmy nachádzajúcim sa v pôde všeobecne.

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na biogeochemické procesy, vyplývajúce z možných priamych a nepriamych interakcií MON 89034 × NK603 a cieľových a necieľových organizmov v okolí zavádzania GMO do životného prostredia, je možné považovať za zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment tohto rizika.

i) 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

MON 89034 × NK603 je zhodná s kukuricou konvenčnou (s výnimkou vlastností tolerance k cieľovým lepidopterám a tolerance ku glyfozátu) a tak nevyžaduje žiadne špecifické pestovateľské, zberové alebo spracovateľské techniky.

Očakáva sa, že pestovanie MON 89034 × NK603 pozitívne ovplyvní súčasné pestovateľské postupy v kukurici a bude prínosom ako pre pestovateľov, tak aj pre životné prostredie. Možné výhody vyplývajúce z pestovania tejto GM kukurice, ktoré sú spojené s jej insekticídnu vlastnosťou: (1) účinný spôsob regulácie cieľového škodcu – Lepidoptera (vijačky kukuričnej); (2) kontrola cieľového škodcu pri zachovaní užitočného hmyzu; (3) potenciál zníženia množstva používaných širokospektrálnych insekticídov (Rice a Pilcher, 1999), vrátane zníženia expozície obsluhy pri aplikácii týchto insekticídov; (4) vhodnosť v systéme integrovanej ochrany rastlín (IPM), v súlade s udržateľnými spôsobmi poľnohospodárskeho hospodárenia, (5) potenciál pre zníženie obsahu fumonizínových mykotoxínov v kukuričnom zrne (Masoero *et al.*, 1999; Munkvold *et al.*, 1999); (6) znížená pravdepodobnosť vzniku rezistencie lepidopter voči *Bt* proteínom a (7) úspora času a mechanizácie, to všetko znamená maximalizáciu výnosového potenciálu.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Na druhej strane pestovanie glyfozát tolerantnej kukurice ponúkne pestovateľom nový spôsob regulácie burín využívajúcich účinnú látku prijateľných environmentálnych vlastností (viď zápis glyfozátu na Annex I, podľa smernice 91/414/EEC). Glyfozát tolerantná kukurica poskytuje tieto možnosti: (1) spôsob regulácie zaburinenia pomocou širokospektrálneho herbicídu; (2) nová účinná látka pre ošetrovanie behom rastu plodiny; (3) zvýšená flexibilita ošetrovania (podľa aktuálneho stavu zaburinenia); (4) nákladovo efektívny spôsob ochrany, a (5) unikátna kompatibilita so systémami minimálneho spracovania pôdy (pôdoochranné technológie). Pôdoochranné technológie pozitívne ovplyvňujú kvalitu pôdy, vodný režim, znižujú riziko pôdnej erózie, vyplavenie živín a pesticídov do povrchových vod, vylepšujú prostredie pre rad organizmov, znižujú produkciu oxidu uhličitého a spotrebu pohonných hmôt (Chevrier a Barbier, 2002; Dies Jambrino a Fernandez-Anero, 1997; Edwards *et al.*, 1988; Hebblethwaite, 1995; Reicosky *et al.*, 1995; Ruiz *et al.*, 2001; Warburton a Klimstra, 1984).

Záverom je možné konštatovať, že neboli identifikované žiadne vlastnosti geneticky modifikovanej kukurice, ktoré by boli škodlivé voči životnému prostrediu, spôsobené zmenou špecifických pestovateľských, zberových alebo spracovateľských techník. Kultivácia, vedenie alebo zber plánovaných poľných pokusov s MON 89034 × NK603 bude pôsobiť na životné prostredie rovnako ako kultivácia akejkoľvek inej kukurice.

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených priamych a nepriamych účinkov na životné prostredie, v dôsledku použitia špecifických pestovateľských, zberových alebo spracovateľských techník pre MON 89034 × NK603 je zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna špecifická stratégia pre menežment tohto rizika.

### **NK603 × MON 810**

Pri hodnotení rizika sa porovnáva nakladanie s geneticky modifikovanou kukuricou NK603 × MON 810 s nakladaním s geneticky nemodifikovanou, konvenčnou kukuricou. Sú posudzované možné priame a nepriame, bezprostredné a následné škodlivé účinky tohto nakladania, najmä pôsobenie na zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie.

### **Hodnotenie možných škodlivých účinkov nakladania s NK603 × MON 810 v spojení s:**

#### **1. príjemcom**

Kukurica je významnou plodinou pestovanou vo všetkých poľnohospodárskych oblastiach sveta. Nie je známe, že by kukurica, pri dodržiavaní všetkých štandardov kvality produkcie, mala škodlivé účinky na zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie. Je možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s príjemcom je možné považovať za zanedbateľné.

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

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Nie je známe, že by dedičný materiál, ktorý bol vnesený do rastlín kukurice, uvedený v tabuľke č. 3., v časti 2.5. žiadosti firmy Monsanto, čj. 51991/2008-2.2-1-ZZP11 (pre NK603 × MON 810), 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 možno považovať za zanedbateľné.

### 3. s vektorom

NK603 × MON 810 je produktom tradičného kríženia, geneticky modifikované boli obidve rodičovské línie.

Kukurica NK603 vznikla použitím mikrobalistického transformačného systému a z gélu izolovaného restričného fragmentu *MluI* plazmidu PV-ZMGT32L (viď bod 2.4. pre NK603, žiadosť 44818/2006-3.2.-1-ZZP1), obsahujúceho gén *epsps* (pre 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntázu) z *Agrobacterium sp.* kmeň CP4 (CP4 EPSPS). Gén *cp4 epsps* kóduje tolerantnú formu EPSPS, ktorá vytvára toleranciu ku glyfozátu v rastlinách.

Kukurica MON 810 bola vytvorená použitím mikrobalistického transformačného systému s roztokom DNA obsahujúcim dva vektory (plazmidy), PV-ZMBK07 a PV-ZMGT10. Plazmid PV-ZMBK07 obsahuje gén *cryIAb* odvodený z *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, PV-ZMGT10 obsahuje gény *cp4 epsps* a *gox*. Do genómu kukurice bol prenesený len fragment plazmidu PV-ZMBK07, obsahujúci gén *cryIAb*. Z druhého plazmidu PV-ZMGT10, neboli do genómu kukurice prenesené žiadne sekvencie DNA (viď bod 2.4. žiadosti pre NK603 × MON 810).

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

### 4. s vložením konštruktú

Konštrukt bol vložený do oboch rodičovských línií, keď línia NK603 získala vložením konštruktú novú vlastnosť, tj., toleranciu ku glyfozátu a línia MON 810 toleranciu k cieľovým lepidopterám.

Nie je známe, že by vložením konštruktú do rodičovských línií 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.

### 5. so signálnymi a selekčnými génmi

NK603:

Vektorový plazmid PV-ZMGT32 obsahuje bakteriálny selektovateľný gén *nptII* kódujúci rezistenciu ku kanamycínu umožňujúci selekciu baktérií obsahujúcich plazmid a počiatok replikácie (*ori*) nutný pre replikáciu plazmidu v *E.coli* (Tab.1, viď bod 2.5. pre NK603, žiadosti 44818/2006-3.2.-1-ZZP1). Restričny fragment *MluI* vektorového plazmidu PV-ZMGT32L, ktorý bol použitý pre transformáciu NK603, obsahuje iba expresné kazety génu

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810



*cp4 epsps* a neobsahuje selektovateľný gén *nptII* ani počiatok replikácie (Obr.2, vid' bod 2.5. pre NK603, žiadosti 44818/2006-3.2.-1-ZZP1).

MON 810:

Vektorový plazmid PV-ZMBK07 obsahuje okrem génu Cry1Ab tiež bakteriálny selektovateľný gén *nptII* kódujúci rezistenciu ku kanamycínu umožňujúceho selekciu baktérií obsahujúcich plazmid a počiatok replikácie (*ori*) nutný pre replikáciu plazmidu v *E.coli*. Kukurica MON 810 však vyššie uvedené gény *nptII*, počiatok replikácie pre pUC plazmidy (*ori-pUC*) neobsahuje.

#### 6. s inzertom

Časti vektorových plazmidov v kukurici NK603 × MON 810, vytvorenou konvenčným krížením inbredných línií NK603 a MON 810, sú identické s vnesenou DNA do rodičovských línií. Gény, ktoré boli zdedené z rodičovských línií sú uvedené v tabuľke č. 3. v časti 2.5. žiadosti firmy Monsanto, čj. 51991/2008-2.2-1-ZZP11 (pre NK603 × MON 810). Akákoľvek významná zmena molekulárnej charakteristiky týchto zdedených inzertov DNA v NK603 × MON 810 je veľmi nepravdepodobná a to z nasledovných dôvodov:

- Neexistuje žiadny známy mechanizmus, prostredníctvom ktorého by oba dva inzerty lokalizované na odlišných miestach rôznych chromozómov, mohli stimulovať vzájomnú rekombináciu (neexprimujú proteíny zapojené do mechanizmov rekombinácie).
- Pri vyšších eukaryotických organizmoch (kukurica), prebieha potenciálna rekombinácia predovšetkým počas meiózy. Pokiaľ by však jeden z inzertov v NK603 × MON 810 bol behom meiózy skutočne nestabilný, bol by detekovaný pri hodnotení genetickej stability samostatných línií.
- Mitotická rekombinácia pri rastlinách je v rozsahu  $10^{-4}$  až  $10^{-5}$ , pokiaľ by existovali významné homológie medzi cieľovými úsekmi (t.j. > 500 nukleotidov) a pokiaľ by sekvencie pre rekombináciu boli fyzicky viazané. V kukurici NK603 × MON 810 s absenciou takých homológií a kde nie sú sekvencie vo väzbe, sú možnosti rekombinácie rádovo nižšie (Puchta, 1999). Početnosť mitotických rekombinácií medzi zdedenou DNA NK603 a MON 810 je v kukurici NK603 × MON 810 zanedbateľná.
- Tieto rekombinácie, ktorých pravdepodobnosť je veľmi nízka (oba inzerty sú lokalizované na rôznych miestach odlišných chromozómov), by pravdepodobne spôsobili chromozomálnu translokáciu s letálnymi dôsledkami, alebo by minimálne znížili biologické fitness celej rastliny (meióza), prípadne by ovplyvnili bunkové potomstvá (mitóza).

Je teda možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení so zdedenými inzertmi v kukurici NK603 × MON 810, je možné považovať za zanedbateľné.

#### 7. s výsledným geneticky modifikovaným organizmom

Analýza charakteristík hybridu GM kukurice NK603 × MON 810 a samostatných rodičovských línií, s prihliadnutím ku skúsenostiam z pestovania tradičnej kukurice v rámci EU, ukázala, že riziko potenciálnych nežiadúcich účinkov na zdravie ľudí, zvierat a smerom k životnému prostrediu, je možné považovať za zanedbateľné.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

### 8. s miestom a rozsahom nakladania s geneticky modifikovaným organizmom

Poľné pokusy s hybridom kukurice NK603 × MON 810 sú plánované na niekoľko málo lokalitách a na obmedzenej ploche (celková plocha cca 18 ha). Vzhľadom k tejto ploche, charakteru pokusov a skúsenostiam výskumných pracovísk je možné považovať riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s miestom a rozsahom nakladania s geneticky modifikovaným organizmom za zanedbateľné.

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

Životné prostredie v mieste nakladania s geneticky modifikovanou kukuricou tvorí poľnohospodársky využívané pozemky. Pre obmedzenie úniku geneticky modifikovanej kukurice do okolitého prostredia prostredníctvom peľu budú použité technické obmedzenia v podobe kombinácie izolačných vzdialeností a ochranných obsevov, obmedzenie úniku semien je limitované kontrolovanými postupmi pre zakladanie a zber pokusov. Všetko prevážané semeno je transportované v uzavretých a označených obaloch a je evidované. Je možné konštatovať, že riziko výskytu možných škodlivých účinkov v spojení s životným prostredím v mieste nakladania s geneticky modifikovaným organizmom je zanedbateľné.

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

Vzhľadom k fenotypovým a agronomickým charakteristikám (s výnimkou vnesených vlastností) je NK603 × MON 810 podobná kukurici konvenčnej. Je teda možné konštatovať, že ekologické interakcie NK603 × MON 810 ako s necieľovými organizmami životného prostredia, tak aj s jeho neživými zložkami, nie sú odlišné od interakcií kukurice konvenčnej (geneticky nemodifikovanej).

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

Na základe viacročných skúseností s konvenčnou kukuricou domestikovanou v Európskej únii, kukurica nemá potenciál stať sa invazívnou rastlinou v prírodných podmienkach a bez asistencie človeka nie je schopná pretrvávajúť ani v poľných podmienkach. Kukurica je slabý konkurent, ktorý nemá významný vplyv na biodiverzitu alebo životné prostredie (s výnimkou kultivácie).

Pokiaľ by vložené vlastnosti zmenili biologické fitness hybridu NK603 × MON 810, táto zmena by mohla spôsobiť zvýšenie perzistencie alebo invazívnosti kukurice v porovnaní s konvenčnými odrodami kukurice. Vzhľadom k tomu, predstavujú vložené gény nové vlastnosti geneticky modifikovanej vyššej rastliny (GMVR), ktoré môžu, aspoň teoreticky, zapríčiniť nežiadúce účinky na životné prostredie, ktoré sú hodnotené v tejto časti.

Zvýšená perzistencia v poľných podmienkach by mohla kukuricu postaviť do role buriny a spôsobiť agronomické problémy. Výsledkom zvýšenej invazívnosti by mohlo byť rozšírenie nového invazívneho druhu do prostredia. Avšak takéto zmeny alebo pôsobenie nie sú pre plodinu *Zea mays* typické, a neboli pri kukurici zaznamenané ani v priebehu desaťročí šľachtenia, mutagenézy a ďalších spôsobov rozširovania genetickej diverzity. Navyše, žiadne

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

také zmeny neboli pozorované pri geneticky modifikovaných rodičovských líniách NK603 a MON 810, a teda je veľmi nepravdepodobné, že by sa objavili pri výslednom hybride NK603 × MON 810.

Kukurica bola do Európy introdukovaná pred viac ako päťsto rokmi, je jednoročnou plodinou bez vlastností perzistencie alebo schopnosti invázie v životnom prostredí. Vzhľadom k intenzívnej selekcii kukurice nie je táto schopná normálneho rastu a vývoja bez asistencie človeka. V krajinách EU sa pestuje ročne okolo šesť miliónov hektárov tejto plodiny, pozberané zrno je transportované tisíce kilometrov po železnici, cestách, alebo riečnou či námornou dopravou a napriek tomu kukuricu nenachádzame rásť na okrajoch ciest, v priekopách, alebo na industriálnych miestach s výskytom radu burinných rastlín. Štúdia výskytu spontánnych populácií rastlín na neobrábaných poliach (v „set-aside“ režime) vo Francúzsku nepotvrdila výskyt kukurice na týchto pozemkoch (Bodet *et al.*, 1994; Mamarot and Rodriguez, 1994). Kukurica nie je považovaná za zaburňujúcu plodinu osevného postupu. Je tomu tak preto, lebo semená kukurice nemajú dormanciu, špatne prežívajú v pôde, rastliny sú citlivé na mráz a kultiváciu v rámci prípravy pôdy k sejbe následnej plodiny.

Zrno kukurice je jedinou prežívajúcou formou tejto plodiny, regenerácia z vegetatívnych orgánov nie je v prírode známa. Kukurica je od burinných rastlín odlišná svojím oddeleným kvetenstvom, keď samičie kvetenstvo – šúl'ok, je uzavreté listeňmi. Semená tak nemajú potenciál samovoľného uvoľňovania, avšak môžu byť rozširované mechanicky behom zberu, divou zverinou alebo poliehaním rastlín spôsobenými škodcami a vetrom, keď šúl'ky spadnú na povrch pôdy. Aj keď časť semien môže za vhodných podmienok miernej a vlhkej zimy prezimovať a vyklíčiť na jar nasledujúceho roku, kukurica sa nestane perzistentnou burinou (Hallauer, 1995). Výskyt výdrolu kukurice v osevnom postupe býva v európskych podmienkach ojedinelý, lebo mladé rastliny bývajú likvidované mrazom alebo sú jednoducho likvidované spracovaním pôdy a použitím herbicídov v následných plodinách.

Vyššie uvedené závery nie sú odlišné pre kukuricu NK603 × MON 810. Ako už bolo zmienené, vlastnosti kukurice NK603 × MON 810 sú zhodné s vlastnosťami kukurice tradičnej (nemodifikovanej) s výnimkou zdedených vlastností tolerancie ku glyfozátu a tolerancie k cieľovým lepidopterám. Výsledky poľných pokusov, zameraných na hodnotenie fenotypových, agronomických, reprodukčných a ďalších znakov ukázali, že táto geneticky modifikovaná kukurica sa od kukurice tradičnej neodlišuje. Toto zároveň potvrdzujú aj praktické skúsenosti z krajín, kde sa NK603 × MON 810 komerčne pestuje (USA, Kanada od r.2002). Vzhľadom k tomu, že genetická modifikácia nevyvolala žiadne biologicky významné rozdiely fenotypu, ktoré by zmenili fitness tejto kukurice v porovnaní s kukuricou tradičnou, je veľmi nepravdepodobné, aby NK603 × MON 810 bola v poľných podmienkach viac perzistentná alebo viac invazívna v prírode.

Ďalej je možné konštatovať, že pokiaľ dôjde k vzídeniu rastlín zo zrn F2 generácie, je možné očakávať, že fitness týchto rastlín bude horšia než u hybridov, rastlín z osiva F1 generácie. (viď tzv. hybridný efekt). Rast, vývoj a výnos výsledných (F2) rastlín je odlišný od rastlín F1 generácie, tieto rastliny často pripomínajú svojou morfológiou menej vitálne inbredné línie, z ktorých bolo vytvorené osivo F1. Navyše, pretože oba vložené znaky segregujú v potomstve Mendelisticky, tak každý znak bude v zrnách F2 prítomný len v podiele 75 %.

Z vyššie uvedeného vyplýva, že je veľmi nepravdepodobné, že by kukurica NK603 × MON 810 mala väčšie schopnosti stať sa burinou než konvenčná kukurica. To

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

znamená, že pravdepodobnosť rozšírenia tejto kukurice mimo poľnohospodárske prostredie, kde je pestovaná, je zanedbateľná.

Je možné konštatovať, že rovnako ako pri konvenčnej kukurici, je pravdepodobnosť neúmyselného rozšírenia kukurice NK603 × MON 810 do nepoľnohospodárskeho prostredia zanedbateľná, vzhľadom k tomu, že ako perzistencia v poľnohospodárskych podmienkach, tak aj jej invazívnosť v prirodzených podmienkach sa nelíši od konvenčnej kukurice. Vo veľmi nepravdepodobnej situácii, keď by v prírodnom prostredí vzišli prípadné rastliny kukurice NK603 × MON 810, tak by nové vlastnosti tejto kukurice predstavovali len časovo a priestorovo obmedzenú selekčnú výhodu (tolerancia ku glyfozátu, ochrana pred hmyzími škodcami z radu motýľov *Lepidoptera*), ktoré majú zanedbateľné dôsledky pre životné prostredie. Pravdepodobnosť, že sa za podmienok zavádzania do životného prostredia stane kukurice NK603 × MON 810 odolnejšia než tradičná kukurica v poľnohospodárskom prostredí, alebo invazívnejšia v prírodnom prostredí, je zanedbateľná. Z tohto dôvodu nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment rizika.

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

Zo skúseností s pestovaním kukurice v EU vyplýva, že je ťažké definovať spôsob, ktorým by rastliny kukurice mohli negatívne ovplyvňovať biodiverzitu mimo plochy, kde sa kukurice pestuje.

Pokiaľ by zdedené vlastnosti kukurice NK603 × MON 810 mali predstavovať pre životné prostredie významnú selekčnú výhodu, je treba to hodnotiť v porovnaní s ostatnou kukuricou a ďalšou vegetáciou. Významné zmeny v biologických vlastnostiach kukurice NK603 × MON 810 by mohli predstavovať konkurenčnú výhodu tejto kukurice nad ostatnými rastlinami vzhľadom k tomu, že kukurica v prirodzenom prostredí nie je považovaná za konkurencieschopnú. Z tohto dôvodu, predstavujú vložené genetické informácie určité vlastnosti GMVR, ktoré môžu, aspoň teoreticky, zapríčiniť nežiadúce účinky na životné prostredie. Tieto účinky sú hodnotené v tejto časti žiadosti.

Pokiaľ by selekčná výhoda kukurice NK603 × MON 810 znamenala premenu kukurice v burinu, potom by mohlo byť najväčším dôsledkom rozšírenia nového invazívneho druhu do prostredia. Toto je veľmi nepravdepodobné, a to vzhľadom k tomu, že žiadne také účinky nie sú u rodičovských línií NK603 a MON 810 známe.

V porovnaní s netransgénnou kukuricou, podmieňujú nové vlastnosti kukurice NK603 × MON 810 expresia enzýmov CP4 EPSPS so zníženou afinitou k inhibítoru glyfozátu a expresia proteínu Cry1Ab, ktorý chráni kukuricu pred cieľovými lepidopterami. Vložené príslušné sekvencie DNA do kukurice NK603 × MON 810 (resp. do rodičovských línií NK603 a MON 810) nevedly k žiadnym biologicky významným zmenám ostatných fenotypových vlastností. Všetky skúmané aspekty ako sú napr. rast, vývoj, morfológia, agronomické vlastnosti, zloženie a zdravotná nezávadnosť neboli u tejto kukurice zmenené. Z toho vyplýva, že kukurica NK603 × MON 810 je v podstate rovnocenná konvenčnej kukurici, s výnimkou dvoch pridaných vlastností: tolerancie ku glyfozátu a tolerancie proti cieľovým lepidopterám.

Exprimované proteíny CP4 EPSPS a Cry1Ab sú dobre opísané. Patrí do skupiny proteínov 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntáz, teda enzýmov, ktoré sú v prírode veľmi rozšírené. Je

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

známe, že tieto enzýmy nemajú toxické účinky, nespôsobujú žiadnu selekčnú výhodu či nevýhodu organizmom, ktoré ich produkujú (rastliny, vodné riasy, huby, mikroorganizmy). V prostredí bez prítomnosti glyfozátu táto vlastnosť nevytvára žiadnu selekčnú výhodu/nevýhodu a nemá žiadny význam pre konkurencieschopnosť voči divorastúcim rastlinám ani nepriamo pre ďalšie organizmy, ktoré interagujú s týmito divorastúcimi rastlinami. Insekticídny účinok Cry1Ab je zameraný na konkrétnych cieľových škodcov, hmyz z radu motýľov (*Lepidoptera*), a to v našich podmienkach na larvy vijačky kukuričnej (*Ostrinia nubilalis*). Tento proteín nemá žiadne významné nežiadúce účinky na necieľové organizmy životného prostredia (viď bod e tohto hodnotenia). Expressia tohto proteínu neprináša kukurici žiadnu selekčnú výhodu alebo nevýhodu v prirodzenom prostredí, a to vzhľadom k tomu, že kukurica NK603 × MON 810 nie je považovaná za burinnú rastlinu (viď bod a tohto hodnotenia rizika). Pravdepodobnosť, že by výdrol kukurice NK603 × MON 810 mohol prežiť v prirodzenom prostredí, je v európskych klimatických podmienkach zanedbateľná.

V poľnohospodárskom prostredí znamená tolerancia tejto kukurice ku glyfozátu (na rozdiel od burín, ktoré sú v poraste kukurice a ktoré sú na glyfozát citlivé), výhodu pre kukuricu, čo je základnou charakteristikou glyfozát-tolerantnej technológie. Táto výhoda sa samozrejme uplatní len tam, kde sú porasty ošetrené herbicídmi, ktorého účinnou látkou je glyfozát. Ochrana proti škodcom predstavuje pre kukuricu NK603 × MON 810 selekčnú výhodu oproti (neošetrenej) konvenčnej kukurici len v prostredí, kde je kukurica skutočne napadnutá vijačkou. Obe tieto vnesené "konkurenčné výhody" sa uplatnia iba v poľnohospodárskych podmienkach (t.j. na poli) a sú časovo obmedzené na dobu od sejby do zberu, pretože prípadné nepozberané rastliny kukurice NK603 × MON 810 nemôžu v poľných podmienkach prežiť (viď bod a tohto hodnotenia rizika). Ojedinele sa vyskytujúci výdrol je možné ľahko regulovať mechanicky alebo chemicky (napr. graminicidy).

Pravdepodobnosť, že by novo vložené vlastnosti do kukurice NK603 × MON 810 mohli tejto kukurici priniesť akúkoľvek významnú konkurenčnú výhodu alebo nevýhodu, ktorá by mohla mať vplyv na životné prostredie, je zanedbateľná.

Riziko, že vlastnosti vložené do kukurice NK603 × MON 810 (resp. do ich rodičovských línií) by mohli byť príčinou akejkoľvek významnej konkurenčnej výhody alebo nevýhody v prírodnom prostredí, je zanedbateľné. V podmienkach komerčného pestovania na poli (t.j. pod ošetrením herbicídmi na báze glyfozátu, alebo v prostredí, kde je kukurica skutočne napadnutá cieľovými škodcami), majú rastliny tejto kukurice selekčnú výhodu proti burinám citlivým na glyfozát a proti vijačkou napadnutým rastlinám konvenčnej kukurice. Tieto 'výhody' majú význam pre poľnohospodárstvo a pre životné prostredie predstavujú zanedbateľné riziko. Vzhľadom k tejto skutočnosti nie je uplatňovaná žiadna stratégia pre menežment rizika.

c) Možnosť prenosu dedičného materiálu do takých istých alebo iných pohlavne zlučiteľných druhov rastlín za podmienok pestovania geneticky modifikovaných vyšších rastlín a akákoľvek výberová výhoda alebo nevýhoda, ktorá môže byť na takýto druh rastlín prenesená

Kukurica NK603 × MON 810, rovnako ako ostatné kukurice, nie je sexuálne kompatibilná so žiadnymi domácimi alebo introdukovanými divorastúcimi príbuznými druhmi v Európe. Týmto je možnosť prenosu dedičného materiálu NK603 × MON 810 limitovaná v rámci pestovanej kukurice.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Všetky kukurice pestované v Európe sa môžu medzi sebou krížiť. Peľ kukurice, produkovaný nejakou špecifickou líniou alebo hybridom, môže byť prenášaný vetrom na krátke vzdialenosti a opeliť tak ďalšie materiály kukurice. Rovnako tak aj kukurica NK603 × MON 810 produkuje normálny peľ, ktorým môžu byť opelené susediace rastliny inej odrody. Na túto odrodu sa prenesú tiež vlastnosti tolerancie ku glyfozátu a tolerancie k cieľovým lepidopterám, ktoré sa exprimujú v jej potomstve. Možnosť prenosu vložených znakov cuzoopelením predstavuje vlastnosť GMVR, ktorá môže, aspoň teoreticky, zapríčiniť nežiadúce účinky na životné prostredie.

Pokiaľ by prenesenie vložených znakov do pohlavne príbuzných rastlín mohlo spôsobiť akúkoľvek významnú konkurenčnú výhodu a tým zvýšiť biologické fitness príjemcu, potom by sa tento príjemca mohol stať invazívnym druhom s potenciálom rozširovania do prostredia.

Potenciál prenosu dedičného materiálu medzi rastlinami kukurice je limitovaný mobilitou peľu. Čo sa týka peľu kukurice, väčšina ho zostáva v mieste pestovania plodiny vzhľadom k jeho špecifickej veľkosti (90 až 100µm). Časť peľu potom môže byť distribuovaná po smere vetru (Raynor *et al.*, 1972). Vzhľadom k jeho veľkosti a hmotnosti, peľ „necestuje“ ďalej vo významnom množstve než pár metrov. Najväčšie množstvo kukuričného peľu zostáva do piatich metrov od okraje poľa (Pleasants *et al.*, 2001; Sears a Stanley–Horn, 2000). Hansen (1999) opísal, že na susedných listoch kukurice, ktoré boli vo vzdialenostiach 0, 1 a 3 m od Bt porastu sa významne znižovalo i množstvo peľu. Ďalšie štúdie poukazovali na 99% kumulácie peľu kukurice do vzdialenosti 50 m a 100% kumuláciu do vzdialenosti 100 m od zdroja peľu (Sears a Stanley–Horn, 2000). Vo francúzskej štúdii s prenosom peľu pri kukurici (AGPM, 1999) bol pri susediacich rastlinách kukurice nameraný podiel cudzoopelenia v množstve 1 % vo vzdialenosti 10m od zdroja.

Ďalšie výskumy potvrdili, že v priemere, takmer všetok peľ kukurice zostáva do vzdialenosti 100 m, hoci presná hranica (vzdialenosť) nie je jednoznačná (Devos *et al.*, 2005). Cudzoopelenie je možné detekovať až do vzdialenosti 200 m (<0,1%) (Halsey *et al.* 2005), zatiaľ čo žiadne nebolo detekované vo vzdialenosti 300 m (Luna *et al.*, 2001). Je možné konštatovať, že celé potenciálne cudzoopelenie medzi porastmi s kukuricou je realizované do 30 m od zdroja peľu (Ma *et al.*, 2004; Messeguer, 2003).

Pravdepodobnosť prenosu dedičného materiálu medzi susediacimi porastmi kukurice ďalej ovplyvňuje synchronizácia kvitnutia, vzdialenosť medzi porastmi, veľkosť/plocha pozemkov a ich lokalizácia, tj. ich umiestnenie po smere prevládajúcich vetrov (Devos *et al.*, 2005).

Väčšina peľu kukurice zostáva v krátkych vzdialenostiach od zdroja, takže pravdepodobnosť prenosu vlozenej vlastnosti na susediace kukurice je nízka.

Navrhované opatrenia v podobe izolačnej vzdialenosti a ochranného obsevu, ktoré sprevádzajú realizáciu poľných pokusov, ďalej významne redukujú potenciál tohto prenosu. Pravdepodobnosť prenosu dedičného materiálu NK603 × MON 810 na okolitú kukuricu v rámci definovaného režimu poľných pokusov je zanedbateľná.

Záverom je možné konštatovať, že možnosť prenosu dedičného materiálu s NK603 × MON 810 na divorastúce druhy je v podmienkach Európy a Slovenska nereálny. Prenos na ostatné materiály kukurice je obmedzený klimatickými podmienkami, synchronizáciou kvitnutia a vzdialenosťou. V prípade, že by došlo k prenosu vnesených génov na ostatné materiály kukurice, tak by tento prenos nemal žiadne vážne dôsledky pre životné prostredie (viď informácie v bode b tohto hodnotenia rizika). Environmentálne riziko,

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

spôsobené týmto prenosom, je možné považovať za zanedbateľné, z tohto dôvodu nie je navrhovaná žiadna stratégia pre manažment rizika.

d) Možný bezprostredný alebo oneskorený dopad na životné prostredie vyplývajúci z priamych a nepriamych vzájomných pôsobení medzi geneticky modifikovanými vyššími rastlinami a cieľovými organizmami

Expresia nového proteínu v GMVR by mohla aspoň teoreticky, spôsobiť nežiadúce účinky na životné prostredie prostredníctvom priamych alebo nepriamych interakcií medzi GMVR a cieľovými organizmami.

Expresiou Cry1Ab v NK603 × MON 810 je táto kukurica chránená pred napadnutím špecifickými lepidopterami (vijačkou kukuričnou). Možné nežiadúce účinky tejto kukurice na životné prostredie s ohľadom na interakcie s cieľovými organizmami sú opísané a vyhodnotené v nasledovnom texte. Tieto nežiadúce účinky na životné prostredie sú však veľmi nepravdepodobné, a to vzhľadom k tomu, že rozsiahle laboratórne a poľné testovanie rodičovskej línie MON 810 nepotvrdilo žiadne významné okamžité alebo oneskorené nežiadúce účinky na životné prostredie. Kukurica MON 810 obsahuje rovnakú vlastnosť ochrany proti cieľovým škodcom a pôsobí na rovnaké cieľové organizmy ako hybridná NK603 × MON 810, ktorá je produktom jednoduchého konvenčného kríženia s inbrednou líniou NK603.

Žiadne ďalšie potenciálne škodlivé vlastnosti nemôžu byť definované, a to vzhľadom k tomu, že ďalší vložený znak, tolerancia ku glyfozátu, nemá cieľový organizmus.

Zamýšľaný insekticídny účinok proteínu Cry1Ab, napr. na larvy cieľovej vijačky môže ovplyvniť veľkosť populácie tohto cieľového organizmu v prostredí a môže, v prípade toho najhoršieho scenára nežiadúcich dôsledkov, nepriamo ovplyvniť dynamiku populácií necieľových organizmov, ktoré interagujú s týmto cieľovým škodcom (napr. užitočné článkonožce, parazitoidi a patogénne alebo toxigénne plesne).

Pestovaná kukurica interaguje s radom herbivorných hmyzích škodcov, ktorí môžu spôsobiť závažné poškodenie porastu, nižšie výnosy a zníženú kvalitu zberaného produktu. Vijačka kukuričná, *Ostrinia nubilalis* (Hubner), je ekonomicky významný kukuričný škodca, ktorý je rozšírený v pestovateľsky najvýznamnejších európskych oblastiach kukurice (Dicke a Guthrie, 1988). Tiež *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre), je jedným z najvýznamnejších kukuričných škodcov ve stredomorí (Castañera, 1986; Anglade, 1972; Melamed-Madjar a Tam, 1980). Expresia  $\delta$ -endotoxínov, odvodených z *B. thuringiensis*, v geneticky modifikovanej kukurici ponúka ďalší spôsob regulácie vijačky kukuričnej (*Ostrinia nubilalis*) a *Sesamia spp.*, pri znížení záťaže životného prostredia, vyplývajúceho z používania konvenčných insekticídov (Rice a Pilcher, 1999). Prostredníctvom systemickej expresie Cry1Ab, je kukurica NK603 × MON 810 efektívne chránená pred napadnutím týmito škodcami.

Insekticídny účinok Cry1Ab sa špecificky viaže na larvy cieľového škodcu. Vzhľadom k tomu, že tento cieľový hmyz predstavuje v poľnohospodárskom prostredí významný problém, je priama regulácia jeho populácie v poľnohospodárskom prostredí dôležitá a teda nie je považovaná za priamy nežiadúci účinok na prostredie.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

Vzhľadom k tomu, že povrch cicavčích črevných buniek nemá špecifické väzbové miesta nutné pre realizáciu účinkov Cry1Ab, tak cicavce a človek nie sú citliví na toxické účinky tohto proteínu (Hofmann *et al.*, 1988b; Noteborn a Kuiper, 1995; Sacchi *et al.*, 1986).

Množstvo poľných štúdií ukazuje, že kukurica chránená expresiou Cry1Ab, môže významne znížiť riziko jej sekundárneho napadnutia bežnými patogénnymi a toxigénnymi hubami ako je *Fusarium spp.*, a tým prípadne znížiť obsah niektorých mykotoxínov ako je napr. fumonizín (Bakan *et al.* 2002; Magg *et al.*, 2002; Masoero *et al.*, 1999; Munkvold, 1997, 2002). Vzhľadom k tomu, že krmivo obsahujúce mykotoxíny môže spôsobiť vážne choroby a dokonca aj úhyn chovaných zvierat (Etzel, 2002; Hussein a Brasel, 2001; Huwig *et al.*, 2001), je zníženie výskytu týchto kontaminantov v kukurici NK603 × MON 810 významnou nepriamou výhodou, skôr než rizikom pre ekologické interakcie tejto kukurice s cieľovými organizmami.

Rovnako ako rodičovská línia MON 810, nepredstavuje kukurica NK603 × MON 810 nijaké mimoriadne riziko prejavu nežiadúcich environmentálnych účinkov v dôsledku ich interakcií s cieľovými organizmami. Z pestovania tejto kukurice odolnej voči škodcom vyplývajú tieto potenciálne výhody: 1) bezpečný spôsob regulácie cieľového škodcu, pri zachovaní užitočného hmyzu; 2) potenciál zníženia množstva používaných chemických širokospektrálnych insekticídov; 3) vhodnosť v systéme integrovanej ochrany rastlín a udržateľných spôsobov poľnohospodárskej výroby; 4) možné zníženie obsahu mykotoxínov v kukuričnom zrne ako sú napr. fumonizíny, ktoré sú dôsledkom poškodení rastlín larvami s následnou infekciou hubovými chorobami.

Riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na životné prostredie spôsobené priamymi alebo nepriamymi interakciami medzi NK603 x MON 810 a cieľovým organizmom je zanedbateľné, z tohto dôvodu nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment rizika.

e) 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

Základné interakcie NK603 × MON 810 s necieľovými organizmami životného prostredia sa neodlišujú od interakcií kukurice konvenčnej, s výnimkou priamej expozície herbivorných organizmov kukurice k proteínom CP4 EPSPS a Cry1Ab, ktoré sú exprimované rastlinou. Necieľové organizmy zahŕňajú všetky organizmy, zvieratá a rastliny, ktoré môžu byť neúmyslné ovplyvnené prostredníctvom špecifických či nešpecifických mechanizmov spôsobených novo exprimovanými proteínmi. Teoreticky by možná toxicita novo exprimovaných proteínov mohla ovplyvniť populačnú dynamiku necieľových organizmov daného prostredia.

Pravdepodobnosť škodlivých environmentálnych účinkov kukurice NK603 × MON 810, vyplývajúcich z expozície necieľových organizmov voči proteínom CP4 EPSPS a Cry1Ab, je zanedbateľná. Hodnotenie rizika, spoločne s komerčnými skúsenosťami z pestovania rodičovských línií NK603 a MON 810, ukázalo, že riziko pre životné prostredie je zanedbateľné. S ohľadom na poznatky v oblasti šľachtenia, testovania nových hybridov kukurice a skúšania vlastností NK603 × MON 810 na poli, neexistuje dôvodné podozrenie, že by interakcie tejto kukurice, alebo jej novo exprimovaných proteínov s necieľovými organizmami, boli odlišné od interakcií samotných rodičovských línií. Neexistuje žiadny

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*



známy mechanizmus, ktorý by umožňoval, aby napr. jeden z exprimovaných proteínov mohol ovplyvniť interakciu druhého proteínu s necieľovými organizmami, pokiaľ sú oba proteíny exprimované na jednej rastline (NK603 × MON 810).

#### *Necieľové bezstavovce*

##### 1) Proteíny CP4 EPSPS

Hybridy kukurice NK603 × MON 810 zdedili genetickú modifikáciu vnesenú do rodičovskej línie NK603 a tým exprimujú rovnaké proteíny CP4 EPSPS, ktoré zodpovedajú za toleranciu ku glyfozátu. Rovnaké proteíny produkujú ďalšie typy plodín vyvinutých spoločnosťou Monsanto ako sú glyfozát-tolerantná sója, cukrová repa, bavlník a repka olejná.

CP4 EPSPS je síce novým proteínom exprimovaným glyfozát-tolerantnými plodinami, nie je však novou látkou pre životné prostredie. Gén *cp4 epsps*, ktorý je súčasťou vektorov, použitých pre genetickú modifikáciu, je odvodený od pôdnej baktérie *Agrobacterium sp.* (kmeň CP4). CP4 EPSPS je enzým, ktorý sa podieľa na šikimátovej biosyntéze a nemá žiadny cieľový organizmus a nemá žiadne toxické účinky. Proteíny CP4 EPSPS sú štrukturálne a funkčne podobné ostatným endogénnym enzýmom EPSPS v konzumovaných rastlinách a mikroorganizmoch. Dostupné informácie o bezpečnosti proteínov CP4 EPSPS poukazujú na ich nezávadnosť a na zanedbateľný potenciál vzniku škodlivých účinkov na necieľové organizmy. Vzhľadom k ich prirodzenému výskytu, spoločne s dlhou históriou expozície necieľových organizmov k CP4 EPSPS a ďalším enzýmom EPSPS, je možné konštatovať, že tieto proteíny patria do skupiny bezpečných proteínov, ktoré nemajú žiadnu biologickú aktivitu smerom k ďalším organizmom. Pre viac informácií vid' hodnotenie rizika NK603 žiadosti 44818/2006-3.2.-1-ZZP1.

##### 2) Proteín Cry1Ab

Hybridy kukurice NK603 × MON 810 zdedili tiež druhú genetickú modifikáciu, ktorá bola vnesená do rodičovskej línie MON 810. Výsledkom tejto modifikácie je expresia proteínu Cry1Ab, ktorý zabezpečuje ochranu proti cieľovým hmyzím škodcom z radu motýľov (*Lepidoptera*). Aj keď Cry1Ab môže byť novo exprimovaným proteínom v kukurici (a v ďalších geneticky modifikovaných rastlinách), má za sebou už dlhú históriu bezpečného používania. Proteín Cry1Ab, kódovaný génom *cry1Ab*, ktorý bol použitý pre vytvorenie kukurice odolnej proti hmyzu, spoločne s insekticídne aktívnym kmeňovým proteínom, aktivovaným v tráviacom ústrojenstve lariev, sú štrukturálne identické s trypsín-rezistentnými kmeňovými („core“) proteínmi nachádzajúcimi sa v mikrobiálnych prípravkoch, bezpečne používaných po mnoho desaťročí. Absenciu škodlivých účinkov týchto mikrobiálnych prípravkov (*Btk*, obsahujúcich Cry1Ab) voči necieľovým organizmom dokladujú informácie (Melin a Cozzi, 1990). Proteíny *Btk* Cry1A sú vysoko selektívne na hmyz z radu motýľov (*Lepidoptera*) (Dulmage, 1981; Klausner, 1984; Aronson *et al.*, 1986; Whiteley a Schnepf, 1986; MacIntosh *et al.*, 1990). Tieto proteíny sa viažu na špecifické receptory tráviaceho ústrojenstva škodcov, hmyzu z radu motýľov (*Lepidoptera*) (Wolfersberger *et al.*, 1986; Hofmann *et al.*, 1988a; Hofmann *et al.*, 1988b; Van Rie *et al.*, 1989; Van Rie *et al.*, 1990) a nemajú žiadne zdravie škodlivé účinky na užitočný alebo ďalší necieľový hmyz, vrátane predátorov a parazitoidov lepidopter alebo na včely (*Apis mellifera*) (Cantwell *et al.*, 1972; Krieg a Langenbruch, 1981; Flexner *et al.*, 1986; EPA, 1988; Vinson, 1989; a Melin a Cozzi, 1990).

Pre potvrdenie a rozšírenie výsledkov pochádzajúcich z testov s mikrobiálnymi prípravkami (obsahujúcimi rovnaký proteín Cry1Ab aký sa nachádza v kukurici MON 810 a

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

kukurici NK603 × MON 810), bol vyhodnotený možný vplyv tohto proteínu na niekoľkých reprezentatívnych necieľových organizmoch. Testované necieľové druhy zahŕňali larvy a dospelé včely (*Apis mellifera* L.), larvy zlatoočky (*Chrysoperla carnea*) - užitočný predátor; blanokrídlovce (*Brachymeria intermedia*) - užitočný hmyz, ktorý parazituje na muche domácej; *Hippodamia convergens* - užitočný dravý hmyz, a dážd'ovky (*Eisenia fetida*) - predstaviteľ detritovorných organizmov v pôde. Listy MON 810 boli tiež použité pre hodnotenie vplyvu na necieľové pôdne organizmy - chvostoskoky (*Folsomia candida*). Kvôli novej expozícii vodných bezstavovcov voči účinkom peľu kukurice obsahujúceho proteín Cry1Ab, bol test toxicity uskutočnený tiež na perloočke (*Daphnia magna*). Výsledky týchto štúdií ukázali, že mortalita testovaných druhov (nepatrili medzi lepidoptery), ktoré boli vystavené proteínu Cry1Ab, sa významne nelíši od mortality kontrolnej skupiny. Neboli tiež zaznamenané žiadne významné škodlivé účinky na tri predátory (*Coleomegilla maculata*, *Orius insidiosus* a *Chrysoperla carnea*), ktorí boli vystavení pôsobeniu peľu rastlín obsahujúcich proteín Cry1Ab (Pilcher *et al.*, 1997). Neboli zaznamenané žiadne účinky pri kŕmení *Folsomia candida* a *Oppia nitens* listami bavlníka, ktorý obsahoval proteíny Cry1A(c) a Cry1Ab (Yu *et al.*, 1997). Z výsledkov poľných pokusov z r. 1994 vyplýva absencia rozdielov medzi rastlinami kukurice, ktoré obsahovali proteín Cry1Ab a kontrolnými rastlinami v kladení vajícok a predácii/parazitizme prirodzených nepriateľov vijačky kukuričnej (Orr a Landis, 1997). Tieto výsledky demonštrujú bezpečnosť proteínu Cry1Ab pre necieľové organizmy.

Podľa laboratórnej štúdie (Losey *et al.*, 1999) bola spozorovaná citlivosť lariev motýľa monarcha sťahovavého (*Danaus plexippus*) na Cry1Ab proteín. V reakcii na túto štúdiu prezentoval behom ďalších rokov celý rad vedcov svoje výsledky na seminároch a konferenciách zameraných priamo na túto problematiku. K lepšiemu porozumeniu vplyvu *Bt* peľu na motýľa *Danaus plexippus* bolo vybraných päť oblastí výskumu: 1) biológia motýľa, 2) mobilita peľu kukurice, 3) koncentrácia peľu vzhľadom k jeho účinku na larvy, 4) distribúcia hostiteľskej rastliny mliečnika *Asclepias curassavica*, 5) vplyv počasia. Bolo konštatované, že expozícia motýľov *Danaus plexippus* a *Papilio podalirius* peľu kukurice je v poľných podmienkach veľmi nízka (Sears *et al.*, 2000a; Wraight *et al.*, 2000). Závery výskumných prác boli nasledujúce: 1) migrácia motýľa monarcha sťahovavého a uvoľňovanie peľu sa nemusí zhodovať, 2) monarch sťahovavý preferuje kladenie vajícok na rastliny mliečnika na iných miestach, než v blízkosti rastlín kukurice, 3) peľ kukurice je ťažký a má nízku mobilitu (>90 % zostáva vo vzdialenosti do 5 metrov od zdroja peľu; Sears *et al.*, 2000a), 4) peľ inšekt-tolerantnej kukurice ležiaci na listoch hostiteľskej rastliny v koncentrácii do 1100 zrn/cm<sup>2</sup> nemal žiadny účinok na hmotnosť vyvíjajúcich sa lariev alebo na ich prežívanie (Helmich *et al.*, 2000a), 5) hustota populácie mliečnika je najvyššia pozdĺž poľných ciest; vo vnútri alebo v bezprostrednej blízkosti kukuričných polí je jej výskyt slabší. Výsledky poľných štúdií uskutočnených v r. 2000 demonštrujú, že húsenice motýľa monarcha sťahovavého prežili a vyvíjali sa normálne na hostiteľských rastlinách vo vnútri polí s *Bt* kukuricou behom obdobia uvoľňovania peľu (Anderson *et al.*, 2000; Helmich *et al.*, 2000b; Sears *et al.*, 2000). Tieto výsledky podporujú záver, že je veľmi nepravdepodobné, že by peľ *Bt* kukurice mal významný vplyv na redukciu populácie motýľa *Danaus plexippus*.

### 3) Necieľové bezstavovce, zhrnutie

Záverom je možné konštatovať, že možné nežiadúce environmentálne účinky kukurice NK603 × MON 810 na necieľové bezstavovce, prostredníctvom ich priamej alebo nepriamej ekologickej interakcie s touto kukuricou, alebo prostredníctvom kontaktu s proteínmi CP4 EPSPS a Cry1Ab sú zanedbateľné. Rozsah testovaných druhov je možné považovať za

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

dostatečne reprezentatívne spektrum predstaviteľov bezstavovcov všetkých častí pod- i nadzemných ekosystémov, ktoré interagujú s kukuricou.

#### *Necieľové rastliny*

Kukurica NK603 × MON 810 je ekvivalentná konvenčnej kukurici s výnimkou vložených vlastností, tolerancie voči glyfozátu a ochranou proti hmyzu. Tieto vlastnosti predstavujú len zanedbateľné riziko smerom k perzistencii, invazívnosti alebo väčšej konkurencieschopnosti kukurice NK603 x MON 810. Je veľmi nepravdepodobné, aby sa táto kukurica líšila od konvenčnej kukurice, napr. jej priamym alebo nepriamym súperením o prírodné zdroje, akými sú pôda, voda alebo svetlo. Je možné konštatovať, že potenciál kukurice NK603 × MON 810 spôsobiť škodlivé environmentálne účinky na necieľové rastliny, prostredníctvom súperenia o prírodné zdroje, je zanedbateľný.

#### *Necieľové stavovce*

Ako už bolo diskutované v predchádzajúcom bode d, potenciál možných priamych či nepriamych, okamžitých alebo oneskorených škodlivých účinkov, prostredníctvom interakcie s necieľovými bezstavovcami, necieľovými rastlinami, alebo cieľovými organizmami, je zanedbateľný. Nie sú očakávané žiadne nepriame škodlivé trofické účinky na populačnú dynamiku stavovcov, ktorí by mohli interagovať alebo akokoľvek ináč závisieť na týchto (vyššie uvedených) organizmoch. Zanedbateľný potenciál priamych škodlivých účinkov na stavovce bol už skôr demonštrovaný na základe rozsiahlych údajov o zdravotnej nezávadnosti proteínov CP4 EPSPS a Cry1Ab (Harrison *et al.*, 1996; Naylor, 1992). Toto potvrdzujú tiež výsledky kŕmnej štúdie, uskutočnené na rýchlo rastúcich brojleroch, ktoré boli kŕmené zrnom kukurice NK603 × MON 810 (Taylor *et al.*, 2003). Výsledky zhodne dokazujú absenciu priamych alebo oneskorených škodlivých účinkov CP4 EPSPS alebo Cry1Ab na testovaných zvieratách. Je veľmi nepravdepodobné, že by kukurica NK603 × MON 810 alebo jej exprimované proteíny CP4 EPSPS a Cry1Ab mohli pôsobiť akékoľvek okamžité, alebo oneskorené škodlivé účinky na voľne žijúcich zvieratách, ktoré sú v blízkosti pokusných plôch, alebo dokonca konzumujúcich kukuričné rastliny.

Kukurice NK603 × MON 810 a konvenčná kukurica, sú s ohľadom na ich biologické a agronomické vlastnosti ekvivalentné. Je možné teda konštatovať, že ekologické interakcie kukurice NK603 × MON 810, s necieľovými organizmami prostredia, sa nelíšia od interakcií konvenčnej kukurice. Potenciálna expozícia necieľových organizmov CP4 EPSPS nevytvára mechanizmus, ktorý by mohol spôsobovať škodlivé účinky. Vzhľadom k vysoko selektívnej insekticídnej vlastnosti proteínu Cry1Ab na larvy cieľových lepidopter, je možné považovať potenciál škodlivých účinkov na necieľové organizmy za zanedbateľný. Environmentálne riziká vyplývajúce z ekologických interakcií necieľových organizmov s kukuricou NK603 × MON 810 sú týmto zanedbateľné. Niektoré štúdie s glyfozát-tolerantnou kukuricou uvádzajú, že vlastnosť tolerancie ku glyfozátu môže pozitívne pôsobiť na výskyt užitočného hmyzu vzhľadom k nárastu množstva hmoty burín v parcelách, kde sa aplikoval glyfozát neskôr po vzídení burín (Hough-Goldstein *et al.*, 2002). Podobne aj selektívna vlastnosť ochrany proti škodlivému hmyzu v kukurici NK603 x MON 810 môže priniesť významné výhody, (skôr než riziká pre necieľové organizmy) v rámci „poľného“ a susediaceho ekosystému. Táto vlastnosť kukurice umožňuje pestovateľom znížiť množstvo používaných širokospektrálnych insekticídov, čo pozitívne ovplyvňuje prítomnosť užitočných druhov hmyzu daného ekosystému.

Riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na životné prostredie spôsobené priamymi alebo nepriamymi interakciami medzi NK603 x MO810 a necieľovými

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

organizmami je zanedbateľné, z tohto dôvodu nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment rizika.

f) 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

Kukurica NK603 × MON 810 je z hľadiska jej zloženia a zdravotnej nezávadnosti, v podstate rovnocenná odrodám konvenčnej kukurice. Agronomické a fenotypové vlastnosti tejto GM kukurice sa neodlišujú od kukurice konvenčnej s výnimkou jej genetickej modifikácie (tolerancia voči glyfozátu a tolerancia voči hmyzu). Tieto nové vlastnosti sú podmienené expresiou proteínov CP4 EPSPS a Cry1Ab. Teoreticky môže prípadná toxicita alebo alergenicita súvisieť s týmito novými proteínmi, ktoré boli vložené do rodičovských línií kukurice NK603 x MON 810. Expresia proteínov CP4 EPSPS a Cry1Ab predstavuje teda vlastnosť GMVR, ktorá môže, aspoň teoreticky, pôsobiť nežiadúce účinky na bezpečnosť zdravia pri práci, čo je hodnoteno v tejto časti.

Pokiaľ by proteíny exprimované kukuricou NK603 × MON 810 mali mať toxický alebo alergénny potenciál, malo by to dôsledky z hľadiska zmien pravidiel bezpečnosti práce pri manipulácii s kukuricou. Všetky možné zmeny bezpečnosti zdravia pri práci s modifikovanou kukuricou musia byť vyhodnotené v porovnaní s kukuricou konvenčnou. Akékoľvek účinky kukurice NK603 × MON 810 na bezpečnosť zdravia pri práci sú veľmi nepravdepodobné, a to aj vzhľadom k tomu, že žiadne také účinky nie sú známe pre rodičovské línie NK603 a MON 810.

Táto žiadosť je podávaná za účelom získania súhlasu k zavádzaniu kukurice NK603 x MON 810 do životného prostredia. Osoby, ktoré budú v kontakte s touto kukuricou budú pracovníci výskumu a technici. Kontakt s rastlinami alebo zrnom kukurice NK603 × MON 810 sa neodlišuje od kontaktu (manipulácie) s kukuricou tradičnou. Zdravotná nezávadnosť proteínov CP4 EPSPS a Cry1Ab bola demonštrovaná na základe a) charakterizácie každého proteínu, b) porovnanie týchto proteínov so známymi alergénmi a toxínmi, c) rýchleho rozkladu proteínov v simulovaných tráviacich systémoch, a d) hodnotenia akútnej toxicity proteínov na laboratórnych potkanoch. V každom vyššie uvedenom prípade neboli nájdené žiadne pripomienky vzhľadom k možným škodlivým účinkom na zdravie človeka.

Popri rozsiahlych testovaní kukurice NK603 × MON 810 v rámci poľných pokusov v USA a v EU, bola od roku 2002 pestovaná táto kukurica v Severnej Amerike v komerčných podmienkach. Všetky tieto skúsenosti potvrdzujú, že riziká bezpečnosti zdravia pri práci, ktorá by súvisela s pestovaním, skladovaním, manipuláciou, spracovaním a skrmovaním kukurice NK603 × MON 810, vrátane ich rodičovských línií, sa neodlišujú od rizík spojených s konvenčnou kukuricou.

Na základe skúseností z oblastí, kde je NK603 × MON 810 komerčne využívaná, je možné konštatovať, že riziko pre človeka, ktorý príde do kontaktu s touto GM kukuricou sa neodlišuje od rizika, vyplývajúceho z kontaktu s kukuricou tradičnou.

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na ľudské zdravie vyplývajúce z možných priamych alebo nepriamych interakcií medzi NK603 × MON 810 a osobami prichádzajúcimi s ňou do styku je zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment tohto rizika.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

g) Možné okamžité alebo oneskorené účinky na zdravie zvierat a dôsledky pre potravinový reťazec vyplývajúce z konzumácie geneticky modifikovaného organizmu a akýchkoľvek výrobkov, ktoré sú z nich odvodené ak sa plánujú použiť ako živočíšne krmivo

Nové proteíny CP4 EPSPS a Cry1Ab v kukurici NK603 x MON 810, predstavujú pre geneticky modifikovanú vyššiu rastlinu vlastnosti, ktoré môžu, apoň teoreticky, spôsobiť škodlivé účinky smerom k zdravotnej nezávadnosti krmiva. Táto žiadosť je podávaná pre získanie povolenia k uskutočneniu poľných pokusov a nezahŕňa použitie vyprodukovaného materiálu pre bežné kŕmenie.

Významné zmeny nutričnej hodnoty, alebo zdravotnej nezávadnosti vyplývajúce z použitia tejto kukurice ako krmiva, môžu mať potenciálne za následok zmenu vlastností zvierat ako je napr. zmena rastu, úžitkovosti, produkcia mlieka alebo zhoršenie zdravia chovaných zvierat. Akékoľvek nežiaduce účinky kukurice NK603 x MON 810 s ohľadom na zdravotnú nezávadnosť krmiva sú veľmi nepravdepodobné; žiadne také účinky neboli pozorované ani u rodičovských línií NK603 a MON 810.

Na základe storočí skúseností s tradičnou kukuricou v Európe je možné považovať potenciál vzniku škodlivých účinkov kukurice, na zdravie kŕmených zvierat, za zanedbateľný. NK603 x MON 810 je vo svojej podstate zhodná s kukuricou tradičnou, s výnimkou vnesených vlastností – tolerancie ku glyfozátu a škodcom. Nezávadnosť proteínov CP4 EPSPS a Cry1Ab, ktoré sú nositeľmi týchto vlastností, už bola zodpovedaná v rámci žiadostí Monsanto pre NK603 (C/ES/00/01) a MON 810 (C/FR/95/12-02).

Hybrid kukurice NK603 x MON 810 obsahuje vlastnosti vložené do kukurice NK603 a MON 810. Vzhľadom k tomu, že nie sú preukázané významné interakcie medzi CP4 EPSPS a Cry1Ab, je možné vyvodiť záver, že zdravotná nezávadnosť proteínov, ktoré sú exprimované samostatne v rodičovských líniách NK603 a MON 810, nie je u hybridu NK603 x MON 810 zmenená. Z toho vyplýva, že kukurice NK603 x MON 810 použitá ako krmivo, je rovnako bezpečná ako konvenčná kukurice. Výsledky 42-dennej štúdie na brojleroch potvrdzujú bezpečnosť kukurice NK603 x MON 810 (vrátane jej obsahových zložiek) ako krmiva, vrátane proteínov CP4 EPSPS a Cry1Ab, ktorých nízky obsah bol nájdený v zrnách kukurice NK603 x MON 810 (Taylor *et al.*, 2003). Skúsenosti s chovanými zvieratami, ktoré boli kŕmené kukuricou NK603 x MON 810 (napr. v Severnej Amerike od roku 2002), neposkytujú žiadne informácie o potenciálnych škodlivých účinkoch na tieto zvieratá.

Táto žiadosť je určená pre nakladanie s geneticky modifikovanou kukuricou v režime zavádzania do životného prostredia (poľné pokusy) a nezahŕňa bežné krmivárske využitie vyprodukovaného zrna (prípadne iného biologického materiálu kukurice). Aj tak však riziko NK603 x MON 810, pre krmivárske, ale i potravinárske využitie, je možné považovať za zanedbateľné. Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených účinkov na zdravie zvierat a dôsledky pre potravinový reťazec vyplývajúce z konzumácie NK603 x MON 810 bolo vyhodnotené ako zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment tohto rizika.

h) 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

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 x NK603 a NK603 x MON 810*

Pestovanie kukurice má priamy vplyv na biogeochemické procesy prostredníctvom kultivácie pôdy, hnojenia a prípadne aj založením monokultúry. NK603 × MON 810 sa neodlišuje od tradičnej kukurice, má rovnakú morfológiu, vývoj, výnos, schopnosť rozširovania, citlivosť k chorobám a škodcom. Vplyv NK603 × MON 810 na úroveň živín v pôde je tiež rovnaký ako pri kukurici tradičnej, geneticky nemodifikovanej. Teoreticky by potenciálna expozícia necieľových organizmov, ktoré sú súčasťou biogeochemických procesov, voči proteínom CP4 EPSPS a Cry1Ab v NK603 × MON 810, mohla byť vlastnosťou GMVR, ktorá môže mať priamy škodlivý účinok na biogeochemické procesy.

Potenciálna toxicita proteínov zdedených v kukurici NK603 × MON 810 pre dekompozítory alebo detritivorné organizmy môže ovplyvňovať biogeochemické procesy, na ktorých sa tieto organizmy zúčastňujú a zmeniť kolobeh živín daného prostredia. Toto je však veľmi nepravdepodobné, hybrid NK603 × MON 810 bol vytvorený konvenčným krížením línií NK603 a MON 810, každá exprimujúca daný proteín samostatne; žiadne také účinky pre tieto rodičovské línie neboli opísané.

V priebehu svojho životného cyklu na poli, kukurica NK603 × MON 810 interaguje s množstvom necieľových bezstavovcov, ktorí sa podieľajú na biogeochemických procesoch v pôde. Bolo demonštrované, že proteíny CP4 EPSPS a Cry1Ab, ktoré sú exprimované v kukurici NK603 × MON 810, predstavujú zanedbateľné riziko škodlivých účinkov prostredníctvom priamych alebo nepriamych interakcií s necieľovými organizmami, vrátane predstaviteľov detritivorných organizmov, ktoré sa zúčastňujú rozkladacích procesov v pôde (viď body d, e).

Populácie baktérií a húb sú veľmi dôležité pre udržanie dobrého zdravotného stavu a kvality pôdy. Spoločenstvá pôdnych mikroorganizmov, ktoré sprostredkovávajú biogeochemické procesy sú vysoko komplexné a často charakterizované vysokou diverzitou mikroorganizmov (Tiedje *et al.*, 1999). Diverzita a abundancia týchto organizmov, ich mikrobiálne procesy sú významne ovplyvňované biotickými faktormi (dynamika a vlastnosti spoločenstiev), abiotickými faktormi (druh a štruktúra pôdy, vodná kapacita, environmentálne podmienky, pH) a využívaním pôdy (technológie obrábania pôdy, plodina a predplodiny). Agronomické operácie ako napr. hnojenie alebo spôsoby pestovania majú obrovský vplyv na populácie mikroorganizmov, skladbu druhov, kolonizáciu a biochemické procesy (Alexander, 1961). Poľnohospodárske prostredie sa vyznačuje veľkou variabilitou mikrobiálnych populácií.

Aj keď proteíny CP4 EPSPS a Cry1Ab, prítomné v rozkladajúcej sa hmote NK603 × MON 810 sú považované za novo produkované proteíny v kukurici, nie sú nové pre pôdne prostredie. Gény *cp4 epsps* a *Cry1Ab*, ktoré boli použité pre genetickú modifikáciu tejto kukurice, boli získané z genómu dvoch známych pôdnych baktérií: *Agrobacterium sp.* (kmeň CP4) a *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Proteíny CP4 EPSPS patria do dobre charakterizovanej skupiny proteínov EPSPS, ktoré sú bežne prítomné v baktériách, hubách, riasach a všetkých vyšších rastlinách. Väčšina dekompozítorov vlastne produkuje vlastné proteíny EPSPS. Dekompozítory a interagujúce pôdne detritofágy sú tak vystavené dlhodobo rôznym prirodzene sa vyskytujúcim EPSPS proteínom, takže nie je dôvod sa domnievať, že by nejaký EPSPS proteín mohol negatívne ovplyvňovať procesy dekompozície. Toxický mechanizmus proteínu Cry1Ab bol dôkladne opísaný a je známe, že je vysoko špecifický pre larvy konkrétneho hmyzu, škodcov z radu motýľov (*Lepidoptera*). Potenciálna účinnosť tohto proteínu voči mikroorganizmom je zanedbateľná. Navyše je možné konštatovať, že proteín Cry1Ab sa v pôde rýchlo rozkladá (Sims a Holden, 1996, Palm *et al.*, 1994, West *et al.*, 1984;

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

West, 1984; a Pruett *et al.*, 1980). Rýchlosť rozkladu je ďalším podporným faktorom absencie škodlivých účinkov Cry1Ab na organizmy, podieľajúce sa na dekompozícii, a na necieľové organizmy v pôde všeobecne. Komerčné skúsenosti z pestovania rôznych CP4 EPSPS produkujúcich glyfozát tolerantných plodín a Cry1Ab produkujúcich insekt-tolerantných plodín neodhalili žiadne škodlivé alebo nežiadúce účinky na biogeochemické procesy alebo na úrodnosť pôdy.

Je veľmi nepravdepodobné, že by existoval akýkoľvek rozdiel medzi NK603 × MON 810 a konvenčnou kukuricou s ohľadom na ich priamy vplyv na úrodnosť pôdy. Je tiež veľmi nepravdepodobné, že by priama alebo nepriama interakcia medzi touto kukuricou a dekompozítormi alebo detritivornými organizmami v prostredí, mohla spôsobiť akékoľvek priame alebo oneskorené škodlivé účinky na procesy dekompozície alebo na kolobeh živín v pôde. Environmentálne riziko prejavu nežiadúcich účinkov na biogeochemické procesy, spôsobené interakciou NK603 × MON 810 s cieľovými alebo necieľovými (pôdnymi) organizmami, je zanedbateľné.

Glyfozát tolerantné plodiny (vrátane NK603 × MON 810) poskytujú pestovateľom možnosť novej kontroly zaburinenia prostredníctvom použitia glyfozátu v kultivovanej plodine. Glyfozát je známy ako častý nástroj používaný v technológiách minimálneho spracovania pôdy, ktoré majú pozitívny vplyv na životné prostredie. Je známe, že tieto minimalizačné technológie napr. znižujú riziko erózie pôdy a vyplavovanie živín do okolitého prostredia. Je možné predpokladať, že vplyv minimalizačných technológií na biogeochemické procesy bude skôr pozitívny. Je možné tiež predpokladať, že použitie glyfozátu v plodinách ako je NK603 × MON 810 podporí rozšírenie týchto pôdochranných technológií.

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých, alebo oneskorených účinkov na biogeochemické procesy vyplývajúce z možných priamych a nepriamych interakcií NK603 × MON 810 a cieľových a necieľových organizmov v okolí zavádzania GMO do životného prostredia je možné považovať za zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment tohto rizika.

i) 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 s zodpovedajúcimi nemodifikovanými vyššími rastlinami

V porovnaní s konvenčnou kukuricou, je akákoľvek z nových vlastností hybridu kukurice NK603 × MON 810 obmedzená len na toleranciu voči glyfozátu a ochranu proti hmyzu tak, ako boli tieto vlastnosti zdedené z rodičovských línií NK603 a MON 810. Pokiaľ by genetické informácie vložené do GMVR mohli zmeniť jej agronomické alebo environmentálne vlastnosti a to spôsobom, že by testovanie týchto plodín v poľných podmienkach vyžadovalo použitie nejakých špecifických postupov pestovania, následnej starostlivosti či spôsobe zberu, odlišné od bežne používaných agronomických postupov, potom by tieto nové alebo špecifické techniky mohli spôsobiť nežiadúce účinky na životné prostredie.

Pokiaľ by bolo nezvyhnutné zabezpečiť iný spôsob pestovania, následnej starostlivosti a techniky zberu pre zabezpečenie úspešnej realizácie plánovaných pokusov, potom by také nové techniky mohli ovplyvniť, aspoň teoreticky, biotické alebo abiotické vlastnosti prostredia, v ktorom je plodina pestovaná.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

Kukurice NK603 × MON 810 je zhodná s kukuricou tradičnou (s výnimkou vlastnosti tolerancie ku glyfozátu a ochrany proti škodlivému hmyzu) a tak nevyžaduje žiadne špecifické pestovateľské, zberové alebo spracovateľské techniky. Možnosť použitia glyfozátu v rastúcej plodine je možné považovať za nový nástroj regulácie zaburinenia. V súlade so smernicou Rady 91/414 EHS je možné definovať potenciál možných okamžitých alebo oneskorených, priamych alebo nepriamych účinkov na životné prostredie vzhľadom k použitiu tohto herbicídu v NK603 za zanedbateľný. Z informácií poskytnutých v Annexe II súboru údajov pre účinnú látku glyfozát podľa smernice 91/414/EHS vyplýva, že doporučované aplikácie tohto produktu v glyfozát tolerantných plodinách nevytvárajú žiadne nové riziká, ktoré by boli neakceptovateľné ako pre človeka, tak aj pre životné prostredie. Glyfozát bol preto zaradený do „európskeho“ zoznamu účinných látok používaných v ochrane rastlín (podľa smernice 91/414/EHS, Annex I).

Záverom je možné konštatovať, že neboli identifikované žiadne vlastnosti geneticky modifikovanej kukurice, ktoré by boli škodlivé voči životnému prostrediu, spôsobenému zmenou špecifických pestovateľských, zberových alebo spracovateľských techník. Kultivácia, vedenie alebo zber spojené s plánovanými poľnými pokusmi s NK603 × MON 810 pôsobia na životné prostredie rovnako ako kultivácia akejkoľvek inej kukurice.

Pestovanie NK603 x MON 810 môže mať pozitívny vplyv ako v oblasti herbicídnej ochrany tak aj smerom k životnému prostrediu (viď bod h, v spojení s pôdoochrannými minimalizačnými technológiami spracovania pôdy). Glyfozát má prijateľné ekotoxikologické vlastnosti (viď zápis glyfozátu na Annex I, v rámci smernice 91/414/EHS).

Glyfozát-tolerantná kukurica môže priniesť pestovateľom:

- spôsob regulácie zaburinenia pomocou širokospektrálneho herbicídu
- novú účinnú látku pre ošetrovanie behom rastu plodiny
- zvýšenú flexibilitu ošetrovania ( podľa aktuálneho stavu zaburinenia)
- nákladovo efektívny spôsob ochrany
- unikátnu kompatibilitu so systémami minimálneho spracovania pôdy (pôdoochranné technológie).

Pôdoochranné technológie pozitívne ovplyvňujú kvalitu pôdy, vodný režim, znižujú riziko pôdnej erózie, vyplavovanie živín a pesticídov do povrchových vôd, vylepšujú prostredie pre rad organizmov, znižujú produkciu oxidu uhličitého a spotrebu pohonných hmôt (Chevrier a Barbier, 2002; Dies Jambrino a Fernandez-Anero, 1997; Edwards *et al.*, 1988; Hebblethwaite, 1995; Reicosky *et al.*, 1995; Ruiz *et al.*, 2001; Warburton and Klimstra, 1984). Ďalšie možné vlastnosti vyplývajúce z pestovania tejto kukurice prostredníctvom jej odolnosti voči škodlivému hmyzu zahŕňajú: 1) bezpečný spôsob regulácie cieľného škodcu, pri zachovaní užitočného hmyzu; 2) potenciál zníženia množstva používaných chemických širokospektrálnych insekticídov (Rice a Pilcher, 1999); 3) vhodnosť v systéme integrovanej ochrany rastlín a udržateľnými spôsobmi poľnohospodárskeho hospodárenia; 4) možné zníženie obsahu mykotoxínov ako sú fumonísíny v kukuričnom zrne (Munkvold *et al.*, 1999; Masoero *et al.*, 1999).

Vzhľadom k tomu, že riziko možných okamžitých alebo oneskorených priamych a nepriamych účinkov na životné prostredie v dôsledku použitia špecifických pestovateľských, zberových alebo spracovateľských techník pre NK603 × MON 810 je zanedbateľné, nie je navrhovaná žiadna stratégia pre menežment tohto rizika.

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*



V Piešťanoch, dňa 21.1. 2009

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

*Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810*

## Literatura

Tu je uvedený rozsiahly prehľad literatúry, ktorý môže slúžiť pre prípadné ďalšie štúdium problematiky. Text dokumentu sa neodvoláva na všetky tu uvedené citácie, čo by nemalo byť považované za nedostatok, ale za vyber z prehľadu literatúry relevantnej pre zostavenie dokumentu. Prehľad literatúry obsahuje 128 referencií.

AGPM. (1999) Dispersion du pollen en production de maïs consommation. *Etude réalisée dans le cadre de comité de biovigilance.*

Alexander, M. (1961) Introduction to soil microbiology. *John Wiley and Sons.*

Anderson, P., Hellmich, R. and Lewis, L. (2000) Bt pollen and monarch butterflies: research update. Joint Annual Meeting: Entomological Society of Canada and Entomological Society of America, To be published.

Anglade, P. (1972) Les Sesamia. Entomologie appliqué à l'agriculture. II, Lépidoptères, II, 1389-1400.

Aronson, A.I., Beckman, W. and Dunn, P. (1986) *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiol. Rev.* 50, 1, 1-24.

Bakan, B., Mecion, D., Richard-Molard, D. and Cahagnier, B. (2002) Fungal growth and *Fusarium Mycotoxin* content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 728-731.

Baum, J.A. (1998) Transgenic *Bacillus thuringiensis*. *Phytoproction*, 79, 127-130.

Baum, J.A., Johnson, T.B. and Carlton, B.C. (1999) *Bacillus thuringiensis* natural and recombinant bioinsecticide products. *Methods in biotechnology*, 5: **Biopesticides: use and delivery**, 189-209.

Betz, F.S., Hammond, B.G. and Fuchs, R.L. (2000) Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Reg. Toxicology and Pharmacology*, 32, 156-173.

Beck, E., Ludwig, G., Auerswald, E.A., Reiss, B. and Schaller, H. (1982) Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. *Gene*, 19, 327-36.

Bevan, M., Barnes, W.M. and Chilton, M.D. (1983) Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic Acids Res.*, 11, 369-385.

Bodet, J.M., Straebler, M. and Broucqsault, L.M. (1994) Type de jachère et couvert. *Receuil des communications du colloque "Jachères 94"*, 19-41.

Brown, S.M. and Santino, C.G. (1995) Enhanced expression in plants. *United States Patent*, **Patent number 5.424.412.**

Bulla, L.A., Kramer, K.J. and Davidson, L.I. (1977) Characterization of the entomocidal parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Bacteriology*, 375-383.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

- Cantwell, G.E., Lehnert, T. and Fowler, J. (1972) Are biological insecticides harmful to the honey bee? *American bee journal*, 294-296.
- Castanera, P. (1986) Plagas del Maiz. IV Jornadas Técnicas sobre el Maiz, Lérida, Plaga, 1-24.
- Chevrier, A. and Barbier, S. (2002) Performances économiques et environnementales des techniques agricoles de conservation des sols. *Création d'un référentiel et premiers résultats (Mémoire de fin d'études)*. Institut National de la Recherche Agronomique de Versailles-Grignon. Association pour la Promotion d'une Agriculture Durable.
- Commission Decision. (2004) Commission Decision of 19 July 2004 concerning the placing on the market, in accordance with Directive 2001/18/EC of the European Parliament and the Council, of a maize product (*Zea mays* L. line NK603) genetically modified for glyphosate tolerance. *Official Journal* 295/35, 2004/643/EC.
- Commission Decision. (2005) Commission Decision of 3 March 2005 authorising the placing on the market of foods and food ingredients derived from genetically modified maize line NK603 as novel foods or novel food ingredients under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council. *Official Journal* 2005/448/EC.
- Craig, W.F. (1977) Production of hybrid corn seed. *Corn and Corn Improvement*, 671-719.
- Crickmore, N., Zeigler, D.R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J. and Daen, D.H. (1998) Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**, 807-813.
- Devos, Y., Reheul, D. and De Schrijver, A. (2005) Review: The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross fertilization. *Environ. Biosafety Res.*, **4**, 71-87.
- Dicke, F.F. and Guthrie, W.D. (1988) The most important corn insects. *Corn and Corn Improvement*, Third edition, 769-880.
- Dulmage, H.T. (1981) Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* and their potential for pest control. *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. Burger, H.D., Vol. 11, pp. 193-222.
- Dies Jambriño, J.I. and Fernandez-Anero. (1997) Resultados en la recuperación de la biodiversidad en el Raco de l'Olla (Albufera de Valencia) tras la aplicación selectiva de un herbicida de baja peligrosidad. *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**, 27-37.
- Donovan, W.P. (1991) CryIIIB crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis*. *United States Patent*, **5.073.632**.
- 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**.
- Edwards, W.M., Norton, L.D. and Redmond, C.E. (1988) Characterizing macropores that affect infiltration into notilled soil. *J. Soil Sci.*, **52**, 483-487.
- EFSA. (2003a) Opinion of the Scientific Panel on genetically modified organisms on a request from the Commission related to the notification (reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto. *The EFSA Journal*, Question No EFSA-Q-2003-003, 1-14.

- EFSA. (2003b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto. *The EFSA Journal*, Question No EFSA-Q-2003-002, 1-14.
- EPA. (1988) Guidance for the reregistration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as the active ingredient. *NTIS PB 89-164198*, 1-70.
- English, L. and Slatin, S.L. (1992) Mode of action of delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*: a comparison with other bacterial toxins. *J. Biochem. Molec. Biol.*, **22**, 1-7.
- Etzel, R.A. (2002) Mycotoxins. *JAMA*, **287**, 425.
- Flexner, J.L., Lighthart, B. and Croft, B.A. (1986) The effects of microbial pesticides on non-target, beneficial arthropods. *Agriculture, ecosystems and environment*, **16**, 203-254.
- Fraley, R.T., Rogers, S.G., Horsch, R.B., Sanders, P.R., Flick, J.S., Adams, S.P., Bittner, M.L., Brand, L.A., Fink, C.L., Fry, J.S., Galluppi, G.R., Goldberg, S.B., Hoffmann, N.L. and Woo, S.C. (1983) Expression of bacterial genes in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 4803-7.
- Goss, J.A. (1968) Development, physiology and chemistry of corn and wheat pollen. *The botanical review*, 333-358.
- Granval, P., Aliaga, R. and Soto, P. (1993) Effets des pratiques agricoles sur les lombriciens (Lumbricidae), les bécassines des marais (*Gallinago gallinago*) et dans la valeur pastorale du marais de la Dives (Calvados). *Gibier Faune Sauvage*, **10**, 59-73.
- Hallauer, A.R. (1995) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn.
- Halsey, M.E., Remund, K.M., Davis, C.A., Qualls, M., Eppard, P.J. and Berberich, S.A. (2005) Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. *Crop Sci.*, **45**, 2172-2185.
- Hansen, L. (1999) Non-target effects of Bt corn pollen on the monarch butterfly (*Lepidoptera Danaidae*). *Abstracts from the 54th Annual meeting North Central Branch of the Entomological Society of America*.
- Harrison, L. A., M. R. Bailey, et al. (1996). "The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4, is rapidly digested *in vitro* and is not toxic to acutely gavaged mice." *Journal of Nutrition* **126**(3): 728-740.
- Hebblethwaite, J.F. (1995) The contribution of no-till to sustainable and environmentally beneficial crop production: a global perspective. *Conservation technology information center*, 1-11.
- Hellmich, R.L., Lewis, L.C. and Pleasants, J.M. (2000a) Monarch feeding behavior and Bt pollen exposure risks to monarch in Iowa. *Presented at the USDA Monarch Workshop*, To be published.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

- Hellmich, R.L., Lewis, L.C. and Pleasants, J.M. (2000b) Survival of monarch larvae in Bt and non-Bt field corn. *Presented at the USDA Monarch Data Review*, To be published.
- Herrero, M.P. and Johnson, R.R. (1980) High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Science*, **20**, 796-780.
- Hillyard, J.R., Deng, M.Y. and Lirette, R.P. (2000) Molecular analysis to determine the genetic stability of Roundup Ready® corn event NK603 across additional generations. *Monsanto Technical Report*, MSL 17062.
- Hicks, D. A. and P. R. Thomison (2004). "Corn Management." Corn: Origin, History, Technology, and Production **Chapter 3.2**: 481-522.
- Hoekstra, F.A., Crowe, L.M. and Crowe, J.H. (1989) Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. *Plant. cell and environment*, **12**, 83-91.
- Hofmann, C., P. Lüthy, et al. (1988). "Binding of the delta endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush- border membrane vesicles of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*)." Eur J Biochem **173**(1): 85-91.
- Hofmann, C., H. Vanderbruggen, et al. (1988). "Specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts." Proc. Natl. Acad. Sci. USA **85**(21): 7844-7848.
- Hough-Goldstein, J., VanGessel, M. and Witmar, J. (2002) Manipulation of weed communities to enhance ground-dwelling predator populations in corn. *Poster presentation at 2002 National meeting for the Entomological Society of America, Ft. Lauderdale, FL*.
- Huber, H.E. and Lüthy, P. (1981) *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin: composition and activation. *Pathogenesis of invertebrate microbial diseases*, 209-234.
- Hussein, S. and Brasel, J.M. (2001) Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, **167**, 101-134.
- Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O. and Dutler, H. (2001) Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*, **122**, 179-188.
- Ignoffo, C.M. (1973) Effects of entomopathogens on vertebrates. *Ann N Y Acad Sci*, 217, 141-72.
- Jones, M.D. and Newell, L.C. (1948) Longevity of pollen and stigmas of grasses: buffalo grass, *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm, and corn, *zea mays* L. *Journal of Am. Soc. of Agronomy*, **40**, 195-204.
- Kania, J., Keck, P., Levine, E. and Sanders, P. (1995) Molecular Analysis of insect protected maize line MON 810. *Monsanto Technical Report*, MSL 14382.
- 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.
- Kiesselbach, T.A. (1949) The structure and reproduction of corn. *Nebraska agricultural experiment station bulletin*, **161**, 1-66.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

- 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.
- Klausner, A. (1984) Microbial insect control. *Biotechnology*, 408-419.
- Krieg, A. and Langenbruch, G.A. (1981) Susceptibility of arthropod species to *Bacillus thuringiensis*. In Burges, H.D. (ed.) *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*, pp. 837-896.
- Lamppa, G.K., Morelli, G. and Chua, N.H. (1985) Structure and developmental regulation of a wheat gene encoding the major chlorophyll a/b-binding polypeptide. *Mol. Cell. Biol.*, **5**, 1370-8.
- Lonnquist, J.H. and Jugenheimer, R.W. (1943) Factors affecting the success of pollination in corn. *Journal of the American society of agronomy*, 923-933.
- Losey, J.E., Rayor, L.S. and Carter, M.E. (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399, 214.
- Luna, V., Figueroa, J.M., Baltazar, B.M., Gomez, R.L., Townsend, R. and Schoper, J.B. (2001) Maize pollen longevity and distance isolation requirement for effective pollen control. *Crop Sci.*, **41**, 1551-1557.
- Ma, B.L., Subedi, K.D. and Reid, L.M. (2004) Crop ecology, management & quality - extent of cross-fertilization in maize by pollen from neighboring transgenic hybrids. *Crop Sci*, **44**, 1273-1282.
- MacIntosh, S.C., Stone, T.B., Sims, S.R., Hunst, P.L., Greenplate, J.T., Marrone, P.G., Perlak, F.J., Fischhoff, D.A. and Fuchs, R.L. (1990) Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important insects. *J. Invertebr. Pathol.*, **56**, 258-66.
- Magg, T., Melchinger, A.E., Klein, D. and Bohn, M. (2002) Relationship between European corn borer resistance and concentration of mycotoxins produced by *Fusarium* spp. in grains of transgenic Bt maize hybrids, their isogenic counterparts, and commercial varieties. *Plant Breeding*, **121**, 146-454.
- Mamarot, J. and Rodriguez, A. (1994) Etude du salissement des sols par la jachère en région Midi-Pyrénées. *Recueil des communications du colloque "Jachères"*, 107-111.
- Masoero, F., Moschini, M., Rossi, F., Prandini, A. and Pietri, A. (1999) Nutritive value, mycotoxin contamination and *in vitro* rumen fermentation of normal and genetically modified corn (Cry1A(B)) grown in northern Italy. *Maydica*, **44**, 205-209.
- Matsuoka, M., Ka, Y., Tanaka, Y., Ozeki, Y. and Moto, N. (1987) Nucleotide sequence of cDNA encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase from maize. *J. Biochem*, **102**, 673-676.
- Melamed-Madjar, V. and Tam, J. (1980) Safety to nontarget invertebrates of Lepidopteran strains of *Bacillus thuringiensis* and their beta-exotoxins. *Safety of Microbial Insecticides*, 149-168.
- Melin, B.E. and Cozzi, E.M. (1990) Safety to nontarget invertebrates of lepidopteran strains of *Bacillus thuringiensis* and their *Beta exotoxins*. *Safety of microbial insecticides*, 149-167.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

- McElroy, D., Blowers, A.D., Jenes, B. and Wu, R. (1991) Construction of expression vectors based on the rice actin 1 (Act1) 5' region for use in monocot transformation. *Mol Gen Genet*, **231**, 150-60.
- McElroy, D., Zhang, W., Cao, J. and Wu, R. (1990) Isolation of an efficient actin promoter for use in rice transformation. *Plant Cell*, **2**, 163-171.
- McElwain, E.F. and Spiker, S. (1989) a wheat cDNA clone which is homologous to the 17 kd heat-shock protein gene family of soybean. *Nucleic Acids Res.*, **17**, 1764.
- Messeguer, J. (2003) Gene flow assessment in transgenic plants. *Review of Plant Biotechnology and Applied Genetics*, **73**, 201-212.
- Munkvold, G. (2002) Nontarget effects of Bt corn on pathogenic and toxigenic fungi. *Leopold Center for sustainable Agriculture*, **11**, 42-44.
- Munkvold, G.P., Hellmich, R.L. and Rice, L.G. (1999) Comparison of fumonisin concentrations in Kemels of transgenic Bt Maize hybrids and non-transgenic hybrids. *Plant disease*, **83**, 130-138.
- Munkvold, G.P., Hellmich, R.L. and Showers, W.B. (1997) Reduced Fusarium ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology*, **87**, 1071-1077.
- Noteborn, H.P. and Kuiper, H.A. (1994) Safety assessment strategies for genetically modified plant products: a case study of *Bacillus thuringiensis*-toxin tomato. *Biosafety of foods derived by modern biotechnology*, *BATS*.
- Naylor, M.W. (1992) Acute oral toxicity study of *Btk* HD-1 tryptic core protein in albino mice. *Monsanto Technical Report*, MSL 11985.
- 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. (2002) Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. *Organization of European Cooperation and Development, Series on the Safety of Novel Foods and Feeds*, **OECD ENV/JM/MONO (2002)25**.
- OECD. (2003) Series on harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 27. Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). *OECD document*, **ENV/JM/MONO(2003)11**.
- Orr, D.R. and Landis, D.A. (1997) Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *Biological and microbiological control*, **90**, 905-909.
- Padgett, S.R., Re, D.B., Barry, G.F., Eichholtz, D.E., Delannay, X., Fuchs, R.L., Kishore, G.M. and Fraley, R.T. (1996) New weed control opportunities: development of soybeans with a Roundup Ready gene. *CRC Handbook*, **4**, 53-84.
- Palm, C.J., Schaller, D.L., Donegan, K.K. and Seidler, R.J. (1996) Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* delta-endotoxin. *Can.J.Microbiol.*, **42**, 1258-1262.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810

- Palm, C.J., Donegan, K., Harris, D. and Seidler, R.J. (1994) Quantification in soil of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* delta-endotoxin from transgenic plants. *Molecular Ecology*, **3**, 145-151.
- Pleasants, J.M., Hellmich, R.L., Dively, G.P., Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E., Mattila, H.R., Foster, J.E., Clark, T.L. and Jones, G.D. (2001) Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 11919-11924.
- Pilcher, C.D., Obrycki, J.J., Rice, M.E. and Lewis, L.C. (1997) Preimaginal development, survival and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis*. *Biological control*, **26**, 446-454.
- Pruett, C.J.H., Burges, H.D. and Wyborn, C.H. (1980) Effect of exposure to soil on potency and spore viability of *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, **35**, 168-174.
- Puchta, H. (1999) Double-strand break-induced recombination between ectopic homologous sequences in somatic plant cells. *Genetics*, **152**, 1173-1181.
- Raynor, G.S., Ogden, E.C. and Hayes, J.V. (1972) Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agronomy Journal*, **64**, 420-427.
- Reicosky, D.C., Kemper, W.D., Langdale, G.W., Douglas, C.L. and Rassmussen, P.E. (1995) Soil organic matter changes resulting from tillage and biomass production. *J. Soil and Water Cons.*, **50**, 253-261.
- Rice, M.E. and Pilcher, C.D. (1999) Bt corn and insect resistance management: farmer perceptions and educational opportunities. a poster presented at the 1999 meeting of the Entomological Society of America.
- Rochester, D.A., Winer, J.A. and Shah, D.M. (1986) The structure and expression of maize genes encoding the major heat shock protein, *hsp 70*. *The EMBO journal*, **5**, 451-458.
- Rogers, S.G. (2000) Promoter for transgenic plants. *United States Patent*, **Patent number 6.018.100**.
- Rossmann, E.C. (1949) Freezing injury of inbred and hybrid maize seed. *Agronomy Journal*, **574-583**.
- Ruiz, P., Novillo, C., Fernandez-Anero, J. and Campos, M. (2001) Soil arthropods in glyphosate tolerant and isogenic maize lines under different soil/weed management practices. *1st World Congress on Conservation Agriculture*.
- Sacchi, V.F., Parenti, P., Hanozet, G.M., Giordana, B., Lüthy, P. and Wolfersberger, M.G. (1986) *Bacillus thuringiensis* toxin inhibits K<sup>+</sup> -gradient-dependent amino acid transport across the brush border membrane of *Pieris brassicae* midgut cells. *FEBS Letters*, **204**, 213-218.
- Sears, M. and Stanley-Horn, D. (2000) Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations. *6th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*.
- Shaw, R.H. (1988) Climate requirement. *Corn and Corn Improvement*, 609-638.
- Sims, S.R. and Holden, L.R. (1996) Insect bioassay for determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIA(b) protein in corn tissue. *Environmental entomology*, **25**, 659-664.

Žiadosť o udelenie povolenia k zavedeniu do životného prostredia  
kukurice MON 89034 × NK603 a NK603 × MON 810



- Southern, E.M. (1975) Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98, 503-517.
- Taylor, M.L., Hartnell, G.F., Riordan, S.G., Nemeth, M.A., Karunanandaa, K., George, B. and Astwood, J.D. (2003) Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from Roundup Ready (NK603), YieldGard x Roundup Ready (MON 810 x NK603), non-transgenic control, or commercial corn. *Poultry Science*, 82, 443-453.
- Tiedje, J.M., Asuming-Brempong, S., Nusslein, K., Marsh, T.L. and Flynn, S.J. (1999) Opening the black box of soil microbial diversity. *Appl. Soil Ecol.*, 13, 109-122.
- Van Rie, J., S. Jansens, et al. (1989). "Specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins-importance of specific receptors on the brush border membrane of the mid-gut of target insect." *Eur. J. Biochem.* **186**: 239-247.
- Van Rie, J., S. Jansens, et al. (1990). "Receptors on the brush border membrane of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* Delta-endotoxins." *Applied and environmental microbiology*: 1378-1385.
- Van Mellaert, H., Van Rie, J., Hofmann, C. and Reynaerts, A. (1988) Insecticidal crystal proteins from *Bacillus thuringiensis*: mode of action and expression in transgenic plants. *Conference on biotechnology, Biological pesticides and novel plant-pest resistance for insect pest management*.
- Vinson, S.B. (1989) Potential impact of microbial insecticides on beneficial arthropods in the terrestrial environment. *Safety of Microbial Insecticides*, 43-64.
- Vieira, J. and Messing, J. (1987) Production of single-stranded plasmid DNA. *Methods Enzymol*, 153, 3-11.
- Warburton, D.B. and Klimstra, W.D. (1984) Wildlife use of no-till and conventionally tilled corn fields. *J. Soil and Water Cons*, **39**, 327-330.
- West, A.W. (1984) Fate of the insecticidal, proteinaceous parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis* in soil. *Soil Biol. Biochem*, **16**, 357-360.
- West, A.W., Burges, H.D., White, R.J. and Wyborn, C.H. (1984) Persistence of *Bacillus thuringiensis* parasporal crystal insecticidal activity in soil. *J. Invertebr. Pathol.*, **44**, 128-133.
- Whiteley, H.R. and Schnepf, H.E. (1986) The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. *Annu Rev Microbiol*, 40, 549-76.
- Wilkes, G. (1989) Maize: domestication, racial evolution, and spread. *Foraging and farming-the evolution of plant exploration*, 440-455.
- Wilkes, H.G. (1972) Maize and its wild relatives. *Science*, 177, 1071-1077.
- White, P.J. and Pollack, L.M. (1995) Corn as a food source in the United States: Part II. Processes, Products, Composition, and nutritive values. *Cereal Foods World*, **40**, 756-762.
- Wolfersberger, M. G., C. Hofmann, et al. (1986). "Interaction of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin with membrane vesicles isolated from lepidoteran larval midgut." *Bacterial protein toxins*: 237-238.

- Wraight, C.L., Zangerl, A.R., Carroll, M.J. and Berenbaum, M.R. (2000) Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *PNAS*, **97**, 7700-7703.
- Widner, W.R. and Whiteley, H.R. (1989) Two highly related insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* possess different host range specificities. *J Bacteriol*, **171**, 965-74.
- Wu, F. (2006) Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health, and regulatory impacts. *Transgenic Research*, **15**, 277-289.
- Wych, R.D. (1988) Production of hybrid seed corn. *Corn and Corn Improvement: Agronomy Monograph*, **18**, 565-607.
- Yamamoto, T. and Powell, G.K. (1993) Structure and function of the insecticidal protein produced by *Bacillus thuringiensis*. *Recent Adv. Mol. Biochem. Res. Proteins, Proc. IUBMB Symp. Protein Struct. Funct.*, 137-144.
- Yu, L., Berry, R.E. and Croft, B.A. (1997) Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Orbatidae). *Ecotoxicology*, **90**, 113-118.
- 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