

Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu

Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany

Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika

Tel.: +421-33-7722311, +421-33-7722312, +421-33-7722326, +421-33-7722327,

Fax.: +421-33-7726306

ŽIADOSŤ

**O VYDANIE SÚHLASU SO ZAVEDENÍM GENETICKY
MODIFIKOVANÝCH VYŠŠÍCH RASTLÍN DO ŽIVOTNÉHO
PROSTREDIA ZA ÚČELOM REALIZÁCIE POĽNÝCH POKUSOV**

Kukurica Bt11 × MIR604 × GA21

Kukurica Bt11 × GA21

Splnomocnená osoba:

doc. RNDr. Ján Kraic, PhD.
Riaditeľ SCPV – VÚRV Piešťany

OBSAH

Časť A: Všeobecné náležitosti žiadosti	3
1. Názov projektu	3
2. Žiadateľ	4
3. Poverený zástupca žiadateľa	6
4. Charakteristika nakladania s geneticky modifikovaným organizmom	6
5. Doba zavádzania do životného prostredia	6
6. Zavádzanie rovnakého GMO do životného prostredia v EU alebo mimo EU	7
7. Podané žiadosti do životného prostredia rovnakého GMO v EU	7
8. Podané žiadosti do životného prostredia rovnakého GMO mimo EU	7
9. Hodnotenie rizika zavádzania GMO do životného prostredia	7
Časť C: Ďalšie náležitosti žiadosti pre geneticky modifikované vyššie rastliny	14
1. Údaje o príjemcovi, prípadne (kde je to aplikovateľné) o rodičovskom organizme	14
2. Údaje týkajúce sa geneticky modifikovanej rastliny	17
3. Údaje o množstve geneticky modifikovaných vyšších rastlín, ktoré majú byť použité, a o celkovej rozlohe pozemkov	38
4. Pracoviská a pozemky, na ktorých bude zavádzanie do životného prostredia prebiehať	39
5. Opis nakladania s geneticky modifikovanými vyššími rastlinami	45
6. Opatrenia na ochranu zdravia ľudí, zvierat, životného prostredia a biologickej rozmanitosti a nakladanie s odpadom	46
7. Zhrnutie informácií o plánovaných poľných pokusoch uskutočňovaných za účelom získania nových údajov o vplyve zavádzania geneticky modifikovaných vyšších rastlín do životného prostredia na zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie	50
Zoznam literatúry	51
Prílohy	
č. 1 Mapa Borovce	
č. 2 Mapa Špačince	
č. 3 Mapa Sokolce	
č. 4 Mapa Tekovské Lužany	
č. 5 Mapa Milhostov	
č. 6 Havarijný plán Borovce	
č. 7 Havarijný plán Špačince	
č. 8 Havarijný plán Sokolce	
č. 9 Havarijný plán Tekovské Lužany	
č. 10 Havarijný plán Milhostov	
č. 11 Posudok z hodnotenia rizika	
č. 12 Informácia o spracovaní odpadu	
č. 13 Summary Notification Information Format for the release of GMHP	

ČASŤ A VŠEOBECNÉ NÁLEŽITOSTI ŽIADOSTI

1. Názov projektu

Žiadosť podľa smernice 2001/18/ES, časť B a zákona č.151/2002 Z.z. v platnom znení o udelení povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike.

Realizácia poľných štúdií s Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sa plánuje za účelom získania informácií týkajúcich sa agronomických vlastností a účinnosti GM kukuríc proti cieľovým škodcom v Európe v podmienkach Slovenska.

Zavádzanie GMVR do životného prostredia sa uskutoční v rámci úlohy „Poľné pokusy s kukuricami spoločnosti Syngenta Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 v podmienkach Slovenska“.

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 vznikli konvenčným krížením medzi nasledovnými geneticky modifikovanými (GM) rodičovskými líniami kukurice:

- Bt11 kukurica exprimuje skrátenú Cry1Ab bielkovinu pre kontrolu určitých škodcov z radu *Lepidoptera* a bielkovinu fosfinotricín acetyltransferázu, ktorá zabezpečuje toleranciu k herbicídom obsahujúcim glufosinát amónny,

- MIR604 kukurica exprimuje modifikovanú bielkovinu Cry3A (mCry3A) pre kontrolu určitých škodcov z radu *Coleoptera* a bielkovinu fosfomannóza izomerázu (PMI), ktorá pôsobí ako selekčný marker umožňujúci transformovaným bunkám využívať mannózu ako primárny zdroj uhlíka,

- GA21 kukurica exprimuje modifikovanú bielkovinu z kukurice 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntázu (mEPSPS), enzým, ktorý zabezpečuje toleranciu k herbicídom obsahujúcim glyfozát.

Preto kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 produkujú „transgénne“ bielkoviny zdedené z individuálnych GM línii kukurice (Bt11: Cry1Ab, PAT; MIR604: mCryA, PMI; GA21: mEPSPS).

Zamýšľané použitie kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je na kontrolu určitých druhov škodcov z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera* a tolerancia k herbicídom obsahujúcim glufosinát amónny alebo glyfozát podľa konkrétneho transgénneho výsledku (línie), tak ako je opísané vyššie:

- kukurica Bt11 × MIR604 × GA21 na kontrolu určitých škodcov z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera* a poskytnutie tolerancie k herbicídom obsahujúcim glufosinát amónny alebo glyfozát,

- kukurica Bt11 × GA21 na kontrolu určitých škodcov z radu *Lepidoptera* a poskytnutie tolerancie k herbicídom obsahujúcim glyfozát.

Jednoznačné identifikačné kódy (podľa databázy OECD, Biotrack) sú

- pre Bt11 × MIR604 × GA21 je SYN-BTØ11-1 × SYN-IR6Ø4-5 × MON-ØØØ21-9 a
- pre Bt11 × GA21 je SYN-BTØ11-1 × MON-ØØØ21-9.

Pre uskutočnenie zamýšľaných poľných pokusov bolo vykonané hodnotenie environmentálneho rizika. Kukurica nie je invazívna v prirodzených podmienkach Európy a tiež nemá pohlavne kompatibilné divorastúce príbuzné druhy, ktoré by mali potenciál

hybridizovať s týmto druhom v tejto oblasti. Cudzoopelenie s konvenčnými odrodami kukurice sa môže vyskytovať, avšak usporiadanie a plán zamýšľaných maloparcelkových poľných pokusov zabezpečuje minimalizáciu tejto možnosti. Na konci pokusov všetok rastlinný materiál bude zničený, žiadna GM kukurica sa nedostane do potravinového a krmovinového reťazca a v nasledujúcom roku akákoľvek planá rastlina kukurice bude odstránená. Žiadne nepriaznivé účinky kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na ľudské zdravie alebo životné prostredie nie sú očakávané. Dodnes bolo uskutočnených veľa poľných pokusov s kukuricami Bt11, MIR604 a GA21 ako aj ich hybridmi Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, pričom žiadne nepriaznivé vplyvy neboli zaznamenané.

Poľné pokusy sú plánované na roky 2009-2012.

Kukurica Bt11 bola schválená na komerčné pestovanie v USA, Kanade a Japonsku. Kukurica MIR604 bola schválená na komerčné pestovanie v USA, Kanade a Japonsku. Kukurica GA21 bola schválená na komerčné pestovanie v USA, Kanade, Argentíne, Brazílii a Japonsku a v súčasnosti sa pestuje v USA, Kanade a Argentíne.

Ako Bt11, tak aj GA21 kukurice boli predtým hodnotené Vedeckou komisiou pre geneticky modifikované organizmy (GMO Panel) Európskeho úradu pre bezpečnosť potravín (EFSA, European Food Safety Authority) a prijaté rozhodnutia sú dostupné na stránke EFSA¹. Žiadosť na import a použitie GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21, Bt11 × MIR604, Bt11 × GA21, MIR604 × GA21 a MIR604 podľa Smernice 1829/2003/ES je v súčasnosti hodnotená EFSA.

Kukurice Bt11 a GA21 sú schválené na import a použitie ako potravy a krmiva v EÚ podľa predchádzajúcej Smernice 90/220/ES a Smernice 2001/18/ES.

Navyše žiadosť o pestovanie kukurice Bt11 je v procese registrácie a bola hodnotená EFSA. Vedecký posudok bol prijatý 20. apríla 2005, a v r. 2006 a 2008. Žiadosť o povolenie úplného použitia GA21 kukurice, vrátane pestovania, bola podaná spoločnosťou Syngenta v súlade s Článkami 5 a 17 Smernice 1829/2003/ES 30. júna 2008.

2. Žiadateľ:

2.1. Názov inštitúcie alebo spoločnosti

Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu – Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany

2.2 Sídlo

Sídlo SCPV: Hlohovská 2, 949 92 Nitra

Sídlo VÚRV Piešťany: Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany

2.3 IČO (pokiaľ je pridelené)

42041333

2.4 DIČ (pokiaľ je pridelené)

2022094844

¹ Vid' http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620771029.htm a http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620785956.htm

2.5 Predmet činnosti (podľa zakladateľského dokumentu alebo zápisu v obchodnom registri)

V oblasti výskumu zabezpečuje:

- tvorbu efektívnejších technologických systémov v rastlinnej výrobe vrátane integrovaných a ekologických so zohľadňovaním osobitostí regiónov a výrobných podmienok;
 - pestovateľské technológie hlavných poľných plodín pre rôzne agroekologické podmienky Slovenska (výskum dominantných faktorov tvorby, regulácie úrod a kvality primárnych produktov);
 - reguláciu prvkov pestovateľských technológií liečivých a aromatických rastlín;
 - výskum zdrojov fyto-masy na energetické a priemyselné účely;
 - výskum vplyvov a dôsledkov globálnej klimatickej zmeny na priebeh produkčného procesu poľných plodín a možnosti adaptácie poľnohospodárstva na klimatické zmeny;
 - výskum tvorby úrod v sťažených pôdno-klimatických podmienkach Východoslovenskej nížiny;
 - štúdium vplyvu imisií na biologické a chemické vlastnosti pôdy a na rastlinnú produkciu, monitoring cudzorodých látok v hlavných zložkách životného prostredia a poľnohospodárskej produkcii a možnosti ich eliminácie;
 - výskum mimoprodukčných funkcií rastlinnej výroby;
 - zhromažďovanie, štúdium a ochrana genofondu kultúrnych rastlín;
 - vývoj a aplikovanie progresívnych metód šľachtenia, tvorbu nových, zlepšených biologických materiálov s vyššou kvalitou a odolnosťou proti nepriaznivým faktorom prostredia;
 - získavanie poznatkov o genotypoch rastlín, charakterizovanie ich znakov a vlastností klasickými aj modernými postupmi, aplikovanie molekulárnych markerov v tvorbe a selekcii fenotypov;
 - štúdium, vývoj a aplikovanie biotechnologických postupov v rastlinnej výrobe, vrátane modifikácií genómov rastlín;
 - charakterizovanie a využitie geneticky podmienenej rezistencie a ochrany hlavných poľných plodín proti nepriaznivým faktorom prostredia;
 - získavanie poznatkov a ich aplikovanie v oblasti zlepšovania kvality, bezpečnosti (zdravotnej) a funkčnosti primárnych potravinových zdrojov.
- Koordinuje Národný program ochrany genofondu, prevádzka génovej banky semenných kultúr (na ústave je lokalizovaná Génová banka pre potreby SR).
 - Šľachtí a udržiava nové odrody obilnín, krmovín, maku (prípadne aj ďalších druhov).
 - Pripravuje koncepcie, prognózy, expertízy a syntézy v oblasti rastlinnej výroby, návrhy systémov hospodárenia na ornej pôde a návrhy uplatnenia nových technologických postupov.
 - Vykonáva poradenskú a projekčnú činnosť pre uplatňovanie progresívnych prvkov v rastlinnej výrobe.
 - Z poverenia zriaďovateľa vykonáva kontrolnú činnosť v rozsahu predmetu činnosti.
 - Vykonáva vedľajšiu hospodársku činnosť s cieľom tvorby vlastných zdrojov.
 - V oblasti svojej pôsobnosti navrhuje normy, zmeny noriem a iné legislatívne úpravy.
 - Zabezpečuje vedecko-technické informácie pre potreby výskumu, šľachtenia a poradenstva v rozsahu pôsobnosti ústavu.
 - Vykonáva edičnú činnosť a zabezpečuje vydávanie vedeckej a odbornej tlače v oblasti predmetu činnosti.

- V spolupráci s univerzitami zabezpečuje vedeckú a odbornú výchovu a ďalšie vzdelávanie vedecko-výskumných pracovníkov a študentov riadneho a postgraduálneho štúdia.

2.5 Štatutárny orgán žiadateľa

Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, sídlo Hlohovská 2, 949 92 Nitra, pracovisko

Generálny riaditeľ SCPV: Ing. Janka Beresecká

Telefón/Fax: 037 6546 122

E-mail: Sekretariát GR SCPV riaditel@scpv.sk

Zapísaný do obchodného registra: štátna príspevková organizácia, zriaďovacia listina vydaná MP SR č. 6698/2005 – 250 zo dňa 28. 11. 2005

3. Poverený zástupca žiadateľa

Ján Kraic, doc., RNDr., PhD.

Riaditeľ, Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu – Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany

4. Charakteristika nakladania s geneticky modifikovaným organizmom

4.1. Účel zavádzania do životného prostredia, prípadne názov a označenie projektu, zadávateľ

Realizácia poľných štúdií s kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sa plánuje za účelom získania informácií týkajúcich sa agronomických vlastností a účinnosti GM kukuríc proti cieľovým škodcom v Európe v podmienkach Slovenska.

Žiadateľ, SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany (VÚRV), plánuje zavádzanie kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia v spolupráci so spoločnosťou Syngenta. VÚRV bude garantom realizácie poľných pokusov. Spoločnosť Syngenta, v súlade so zákonom č. 151/2002 Z. z. v platnom znení, podá svoju vlastnú žiadosť na schválenie zavádzania GM kukuríc do životného prostredia.

4.2 Predpokladaný výsledok zavádzania do životného prostredia

Získanie dát týkajúcich sa agronomických vlastností geneticky modifikovaných kukuríc a hodnotenie účinnosti GM kukuríc proti cieľovým škodcom v Európe v podmienkach Slovenska.

5. Doba zavádzania do životného prostredia

5.1 Celková doba zavádzania geneticky modifikovaného organizmu do životného prostredia a dátum jeho predpokladaného zahájenia

Zavádzanie Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia je plánované v období rokov 2009-2012.

5.2 Závazný harmonogram (rozpis jednotlivých čiastkových etáp, dátum ich predpokladaného zahájenia a doba ich trvania)

Na každý rok, tj. v rokoch 2009, 2010, 2011 a 2012 sa plánujú nasledovné aktivity:

- získanie dát týkajúcich sa agronomických vlastností geneticky modifikovaných kukuríc,
- hodnotenie účinnosti GM kukuríc proti cieľovým škodcom v Európe v podmienkach Slovenska.

Môže sa stať, že v danom roku, alebo v celom období 2009 – 2012 bude realizovaná iba časť hore uvedených aktivít. V súlade so zákonom č. 151/2002 Z.z. v platnom znení, bude MŽP každoročne informované o realizovaných aktivitách.

Každý rok je predpokladaný dátum zahájenia (sejby): po 10.4., trvanie pestovania do 30.11. (zber).

6. Plánuje žiadateľ zavádzanie rovnakého geneticky modifikovaného organizmu do životného prostredia v niektorom členskom štáte Európskych spoločenstiev alebo mimo jeho územia?

CZ, ES, RO.

7. Podal žiadateľ žiadosť pre zavádzanie rovnakého geneticky modifikovaného organizmu do životného prostredia v niektorom členskom štáte Európskych spoločenstiev ?

Bt11 x MIR604 x GA21 kukurica: B/ES/08/34, Bt11 x GA21 kukurica: B/ES/08/32

8. Podal žiadateľ žiadosť pre zavádzanie rovnakého geneticky modifikovaného organizmu do životného prostredia alebo do obehu mimo územia Európskych spoločenstiev ?

Bt11 x MIR604 x GA21 kukurica: B/RO/08/04, Bt11 x GA21 kukurica: B/RO/08/05

9. Hodnotenie rizika zavádzania geneticky modifikovaného organizmu do životného prostredia**9.1 Zhrnutie hodnotenia rizika**

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

Analýza vlastností Bt11 x MIR604 x GA21 a Bt11 x GA21, 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, vyplývajúcim z plánovaných pokusov s vyššie uvedenou GM kukuricou, je možné považovať za zanedbateľné.

Vzhľadom ku skutočnosti, že celkové riziko vyplývajúce z použitia GM kukurice Bt11 x MIR604 x GA21 a Bt11 x GA21 smerom k životnému prostrediu je zanedbateľné, nie

sú tu uplatňované žiadne špecifické stratégie pre manažment rizika alebo monitoring. To však nevyklučuje povinnosť sledovania výdrolu v nasledujúcom roku po zbere pokusov.

9.2. Hodnotenie rizika

Informácie o bodoch vymenovaných v § 24, písm. b s cieľom pomôcť pri navrhovaní záverov o možnom dopade na životné prostredie pri uvoľnení geneticky modifikovaných organizmov alebo pri ich umiestnení na trh

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

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc.

V prípade nepravdepodobnej udalosti úniku malého množstva zŕn kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia by ich prežitie bolo veľmi nepravdepodobné, pretože kukurica je silne domestikovaná a nemôže prežiť bez asistencie človeka, zvlášť v klimatických podmienkach typických pre Európu. Expresia bielkovín Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS neovplyvňuje agronomické charakteristiky alebo potenciál rastlín Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo kukurice Bt11 × GA21 stať sa burinnou, ako to bolo demonštrované v poľných pokusoch uskutočnených s cieľom hodnotenia agronomickej výkonnosti GM rastlín v porovnaní s izogénnymi kontrolami.

V prípade nepravdepodobnej udalosti, že tieto rastliny prežijú, by tieto mohli byť ľahko kontrolované použitím ktorejkoľvek z agronomických opatrení vykonávaných na ochranu ostatnej komerčne pestovanej kukurice.

Záverom je možné konštatovať, že pravdepodobnosť, že by sa kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 stali perzistentnejšie v poľnohospodárskom prostredí alebo invazívnejšie v prirodzených podmienkach v dôsledku importu týchto kukuríc do EÚ je možné považovať za zanedbateľné.

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

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 použitím konvenčného šľachtenia. Pri tvorbe týchto kukuríc teda nebola uskutočnená žiadna nová genetická transformácia, a ako bolo cieleňé, kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 produkujú päť (Bt11 × MIR604 × GA21) resp. 3 (Bt11 × GA21) bielkoviny exprimované rodičovskými GM líniami, t.j. Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS.

Expresia bielkovín Cry1Ab a mCry3A, zabezpečujúcich rezistenciu k určitým druhom hmyzu z radu *Lepidoptera* a *Coleoptera*, v oblastiach Európy, kde sú tieto druhy dôležitými škodcami kukurice, sa dá považovať za výhodu oproti konvenčnej kukurici. Kukurica je však silne domestikovaná a nemôže prežiť bez asistencie človeka, dokonca ani v oblastiach bez

tlaku týchto cieľových škodcov. Preto expresia bielkovín Cry1Ab a mCry3A nezvýši potenciál prežívania kukurice v Európskych podmienkach a nevyvolá žiadnu selekčnú výhodu týmto rastlinám.

Expresia bielkovín PAT a mEPSPS môže spôsobiť selekčnú výhodu rastlinám kukurice v podmienkach aplikácie herbicídov obsahujúcich glufozinát amónny alebo glyfozát. Avšak toto sa zriedkakedy môže stať mimo poľnohospodárskeho prostredia. Preto je vysoko nepravdepodobné aby expresia bielkovín PAT a mEPSPS spôsobila selekčnú výhodu rastlinám kukurice.

Expresia bielkoviny MIR604 PMI môže spôsobiť selekčnú výhodu pestovaným rastlinám kukurice len v podmienkach, keď jediným zdrojom uhlíka je mannóza, teda v podmienkach, ktoré sú vysoko nepravdepodobné v normálnych pôdach. Preto expresia bielkoviny MIR604 PMI sa nedá považovať za faktor, ktorý by mohol spôsobiť selekčnú výhodu pre rastliny kukurice.

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc. V prípade nepravdepodobnej udalosti úniku malého množstva zŕn kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia by ich prežitie bolo veľmi nepravdepodobné pre vyššie uvedené dôvody. Navyše rastliny vyklíčené z takých zŕn môžu byť ľahko kontrolované použitím ktorejkoľvek zo súčasných agronomických opatrení vykonávaných na ochranu ostatnej komerčne pestovanej kukurice.

Záverom je možné konštatovať, že pravdepodobnosť, že expresia vlastností na ochranu pred hmyzími škodcami z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera*, vlastností tolerancie k herbicídom a selekčného markera v kukuriciach Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, bude viesť k selekčnej výhode alebo nevýhode v porovnaní s konvenčnou kukuricou, v rámci tejto žiadosti, môže byť považovaná za zanedbateľnú.

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

Prenos génov z kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do iných pohlavne zlučiteľných rastlinných druhov nie je možný, pretože kukurica nemá žiadnych divorastúcich príbuzných v EÚ.

Transfer génov z kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do iných odrôd kukuríc sa môže vyskytovať prostredníctvom rozširovania peľu počas pestovania plodiny. Predmetom tejto žiadosti je však udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc. Navyše usporiadanie a plán zamýšľaných maloparcelkových poľných pokusov zabezpečuje minimalizáciu možnosti cudzoopelenia s konvenčnými odrodami kukurice.

V prípade nepravdepodobnej udalosti, že malé množstvo zŕn kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 alebo Bt11 × GA21 unikne náhodne do životného prostredia, toto predstavuje extrémne nízku úroveň potenciálnej expozície a prežitie zŕn je vysoko nepravdepodobné. Navyše rastliny vyklíčené z takých zŕn môžu byť ľahko kontrolované použitím ktorejkoľvek

zo súčasných agronomických opatrení vykonávaných na ochranu ostatnej komerčne pestovanej kukurice. Preto je extrémne nepravdepodobná možnosť kvitnutia a fertilizácie rastlín iných odrôd náhodne uniknutými GM rastlinami kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 alebo Bt11 × GA21.

Záverom je možné konštatovať, že potenciál pre možný prenos génov medzi kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 alebo Bt11 × GA21 a rastlinami iných odrôd kukuríc, resp. pohlavne zlučiteľných divorastúcich príbuzných druhov, je možné v krajinách EU považovať za zanedbateľný.

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

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc, preto možný bezprostredný alebo oneskorený dopad na životné prostredie vyplývajúci z priamych a nepriamych vzájomných pôsobení medzi geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľovými organizmami je vysoko nepravdepodobný.

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 využitím konvenčného šľachtenia, preto kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 produkujú transgénne bielkoviny zdedené z týchto individuálnych transgénnych línií: Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS. Bielkovina Cry1AB zabezpečuje ochranu pred určitými hmyzími škodcami z radu *Lepidoptera* a je známa svojou špecificitou voči hmyzu z radu *Lepidoptera*. Bielkovina mCry3A zabezpečuje ochranu pred určitými druhmi hmyzích škodcov z radu *Coleoptera* a je známa svojou špecificitou voči hmyzu z radu *Coleoptera*. Pri ostatných troch bielkovinách produkovaných kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, t.j. PAT, MIR604 PMI a mEPSPS nie sú známe nepriaznivé vplyvy na živé organizmy.

Záverom je možné konštatovať, že akékoľvek bezprostredné alebo oneskorené dopady na životné prostredie vyplývajúce z priamych alebo nepriamych vzájomných pôsobení medzi geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľovými organizmami sú vysoko nepravdepodobné.

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

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc, preto možné interakcie týchto kukuríc s necieľovými organizmami sú vysoko nepravdepodobné.

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 využitím konvenčných šľachtiteľských postupov a preto tieto kukurice produkujú transgénne bielkoviny zdedené z týchto rodičovských GM

línií, t.j. Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS. Bielkovina Cry1AB zabezpečuje ochranu pred určitými hmyzími škodcami z radu *Lepidoptera* a je známa svojou špecifitou voči hmyzu z radu *Lepidoptera*. Bielkovina mCry3A zabezpečuje ochranu pred určitými druhmi hmyzých škodcov z radu *Coleoptera* a je známa svojou špecifitou voči hmyzu z radu *Coleoptera*. Pri ostatných troch bielkovinách produkovaných kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, t.j. PAT, MIR604 PMI a mEPSPS nie sú známe nepriaznivé účinky na živé organizmy.

V prípade nepravdepodobnej udalosti úniku malého množstva zŕn kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 alebo Bt11 × GA21 do životného prostredia, toto predstavuje extrémne nízku úroveň expozície a prežitie zŕn je vysoko nepravdepodobné. Akékoľvek rastliny vyklíčené z týchto zŕn môžu byť ľahko kontrolované použitím ktoréhokoľvek zo súčasných agronomických opatrení vykonávaných na ochranu ostatnej komerčne pestovanej kukurice. Preto je extrémne nepravdepodobná možnosť vyklíčenia a prežitia rastlín kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo Bt11 × GA21 mimo poľnohospodárskeho prostredia a potenciál interakcie takýchto rastlín s necieľovými organizmami je veľmi nízky.

Záverom je preto možné konštatovať, že možný bezprostredný alebo oneskorený dopad na životné prostredie vyplývajúci z priamych alebo nepriamych vzájomných pôsobení medzi geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a necieľovými organizmami, vrátane vplyvu na úroveň populácií konkurentov, bylinožravcov, prípadne symbiontov, parazitov a patogénov je zanedbateľný.

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

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc.

Možným spôsobom vystavenia sa účinkom týchto GM kukuríc je konzumácia potravy obsahujúcej kukuricu Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo Bt11 × GA21. Obidve kukurice boli produkované kombináciou kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 využitím konvenčného šľachtenia.

Potenciálne nepriaznivé účinky rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 na ľudské zdravie boli hodnotené predtým počas hodnotenia rizika a bol vyvodený záver, že potenciál nepriaznivých účinkov na ľudské zdravie v dôsledku konzumácie kukurice Bt11, kukurice MIR604 alebo kukurice GA21 je zanedbateľný. Navyše analýzy zloženia a kŕmne testy na broileroch potvrdili, že kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sú ekvivalentné v zložení s konvenčnými kukuricami a sú tiež rovnako bezpečné a výživné a konvenčné kukurice.

Nie je dôvod domnievať sa, že konvenčné šľachtenie GM kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 by mohlo viesť k „stacked“ produktu, ktorý by sa líšil toxicitou alebo alergénymi účinkami na ľudí alebo zvieratá. Žiadna z bielkovín produkovaných kukuricami Bt11, MIR604 a GA21 nie je známa toxickými alebo alergénymi účinkami na ľudí alebo zvieratá a nie je známy predchádzajúci prípad, keď by interakcie medzi netoxickými bielkovinami viedli k toxickým účinkom.

Počas všetkých testov uskutočnených spoločnosťou Syngenta s kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 neboli získané žiadne dôkazy pre interakcie medzi

piatimi (Bt11 × MIR604 × GA21: Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS) a tromi (Bt11 × GA21: Cry1Ab, PAT a mEPSPS) bielkovinami produkovanými týmito rastlinami.

Záverom je možné konštatovať, že žiadne okamžité alebo oneskorené účinky na ľudské zdravie vyplývajúce z možných priamych alebo nepriamych interakcií medzi geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a osobami prichádzajúcimi s nimi do styku nie sú očakávané.

9.2.7 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

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc. Rastliny či časti rastlín týchto GM kukuríc sa neplánujú použiť ako živočíšne krmivo.

Potenciálna expozícia týmto kukuriciam môže najpravdepodobnejšie nastať kŕmením krmivom obsahujúcim kukuricu Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo Bt11 × GA21.

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 použitím konvenčných šľachtiteľských postupov. Potenciálne nepriaznivé účinky rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 na zdravie zvierat boli hodnotené predtým počas hodnotenia rizika a bol vyvodený záver, že potenciál nepriaznivých účinkov na zdravie zvierat v dôsledku kŕmenia kukurice Bt11, kukurice MIR604 alebo kukurice GA21 je zanedbateľný.

Navyše analýzy zloženia a kŕmne testy na broileroch potvrdili, že kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sú ekvivalentné v zložení s konvenčnými kukuricami a sú tiež rovnako bezpečné a výživné a konvenčné kukurice.

Nie je dôvod domnievať sa, že konvenčné šľachtenie GM kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 by mohlo viesť k „stacked“ produktu, ktorý by sa líšil toxicitou alebo alergénymi účinkami na ľudí alebo zvieratá. Žiadna z bielkovín produkovaných kukuricami Bt11, MIR604 a GA21 nie je známa toxickými alebo alergénymi účinkami na ľudí alebo zvieratá a nie je známy predchádzajúci prípad, keď by interakcie medzi netoxickými bielkovinami viedli k toxickým účinkom.

Počas všetkých testov uskutočnených spoločnosťou Syngenta s kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 neboli získané žiadne dôkazy pre interakcie medzi piatimi (Bt11 × MIR604 × GA21: Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS) a tromi (Bt11 × GA21: Cry1Ab, PAT a mEPSPS) bielkovinami produkovanými týmito rastlinami.

Záverom je možné konštatovať, že žiadne možné okamžité alebo oneskorené účinky na zdravie zvierat a dôsledky pre potravinový reťazec vyplývajúce z konzumácie geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sa neočakávajú.

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

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc. Interakcie s cieľovými alebo necieľovými organizmami, ktoré by mohli viesť k účinkom na biogeochemické procesy sú preto vysoko nepravdepodobné.

V prípade nepravdepodobnej udalosti úniku malého množstva zŕn kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a/alebo kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia by ich prežitie bolo veľmi nepravdepodobné, pretože kukurica je silne domestikovaná a nemôže prežiť bez asistencie človeka, zvlášť v klimatických podmienkach typických pre Európu. Navyše rastliny vyklíčené z takých zŕn môžu byť ľahko kontrolované použitím ktorejkoľvek zo súčasných agronomických opatrení vykonávaných na ochranu ostatnej komerčne pestovanej kukurice. V prípade nepravdepodobnej udalosti prežitia nejakých rastlín GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je potenciál vplyvov na biogeochemické procesy ako výsledok interakcií s cieľovými alebo necieľovými organizmami rovnaký ako vplyvov pri pestovaní nemodifikovaných konvenčných kukuríc.

Záverom je možné konštatovať, že možné okamžité alebo oneskorené účinky na biogeochemické procesy vyplývajúce z možných priamych a nepriamych interakcií geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľových a necieľových organizmov v blízkosti uvoľnenia je zanedbateľný v rámci zamýšľaného zavádzania do životného prostredia.

9.2.9 Možné okamžité alebo oneskorené priame a nepriame účinky na životné prostredie v dôsledku použitia špecifických kultivačných, pestovateľských a zberových techník použitých v súvislosti s geneticky modifikovanými vyššími rastlinami

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií a nie komerčné pestovanie týchto kukuríc.

V porovnaní s konvenčnou kukuricou, je ktorákoľvek z nových vlastností hybridov kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 obmedzená len na toleranciu voči herbicídum obsahujúcim glufosinát amónny alebo glyfozát a ochranu proti hmyzu tak, ako boli tieto vlastnosti zdedené z rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21.

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 spôsobu zberu, rozdielne od bežne používaných poľnohospodárskych postupov, potom by tieto nové alebo špecifické techniky mohli spôsobiť nežiadúce účinky na životné prostredie. Pokiaľ by bolo nevyhnutné zaistiť iný spôsob pestovania, následnej starostlivosti a techniky zberu pre zaistenie úspešnej realizácie plánovaných pokusov, potom by také nové techniky mohli ovplyvniť, aspoň teoreticky, biotické alebo abiotické vlastnosti prostredia, v ktorom je plodina pestovaná.

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sú však zhodné s kukuricou tradičnou (s výnimkou vlastností tolerance k herbicídum a ochrany proti škodlivému hmyzu) a tak nevyžaduje žiadne špecifické pestovateľské, zberové alebo spracovateľské techniky.

Záverom je možné konštatovať, že neboli identifikované žiadne vlastnosti geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, ktoré by boli škodlivé voči

životnému prostrediu, spôsobené zmenou špecifických pestovateľských, zberových alebo spracovateľských techník. Kultivácia, vedenie alebo zber spojené s plánovanými poľnými pokusmi s týmito GM kukuricami pôsobí na životné prostredie rovnako ako pestovanie akejkoľvek inej kukurice.

ČASŤ C

ĎALŠIE NÁLEŽITOSTI ŽIADOSTI PRE GENETICKY MODIFIKOVANÉ VYŠŠIE RASTLINY

1. Údaje o príjemcovi, prípadne (kde je to aplikovateľné) o rodičovskom organizme

1.1 Údaje o príjemcovi, prípadne (kde je to aplikovateľné) rodičovskom organizme

Úplný slovenský a latinský rodový a druhový názov organizmu, s presným určením kultivaru (odrody, línie, hybrid):

Slovenský názov: Kukurica siata

Latinský názov: *Zea mays* L.

1.2 Pôvod (zbierka, zbierkové číslo, dodávateľ)

Kukurica siata patrí do skupiny *Maydeae*, ktorá je súčasťou podčeláde *Panicoideae*, čeláde *Gramineae*. Rody patriace do skupiny *Maydeae* sú *Zea* a *Tripsacum* na západnej hemisfére a *Coix*, *Polytoca*, *Chionachne*, *Schlerachne* a *Trilobachne* v Ázii.

1.3 Údaje o rozmnožovaní

1.3.1 Spôsob rozmnožovania

Kukurica siata (*Zea mays*) je alogamná rastlina, ktorá sa rozmnožuje semenami produkovanými prevažne cudzoopelením a je závislá najmä na opelení vetrom. *Zea mays* je rastlina s protandrickým súkvetím, avšak dekády konvenčného šľachtenia a selekcie vytvorili odrody kukurice s protogynnými vlastnosťami. Kukurica má oddelené kvetenstvo: tyčinkové kvety v metline a piestikové kvety na vretene klasu. Asexuálny rozmnožovací cyklus sa pri kukurici nevyskytuje.

1.3.2 Špecifické faktory, ktoré ovplyvňujú rozmnožovanie (ak existujú)

Kľúčové kritické štádiá v reprodukcii kukurice sú tvorba metlín, metanie šúľkov a blizien, opelenie a oplodnenie, kde teplota, vlhkosť a fertilita môžu ovplyvniť reprodukciu kukurice a tým aj výšku úrod.

Vzdialenosti pre cudzoopelenie sú obmedzené rýchlym usádzaním a obmedzenou viabilitou peľu. Väčšina odrôd kukurice je protandrická, to znamená že prášenie predchádza metaniu blizien až do päť dní. Peľové zrná kukurice sú veľké a ťažké a majú sklon k depozícii blízko zdrojovej rastliny (Raynor *et al.*, 1972; Pleasants *et al.*, 2001) a rôzne štúdie naznačujú, že väčšina peľových zrn sa usadí do 5 m od okraja porastu (Sears and Stanley-Horn, 2000). Vo všeobecnosti tieto štúdie ukázali, že viac ako 98% peľu kukurice ostáva v oblasti 25-50 m od zdroja, hoci niektoré peľové zrná môžu uletieť niekoľko sto metrov (EEA, 2002; Jarosz *et*

al., 2005; Devos *et al.*, 2008). Uvoľnený peľ typicky ostáva životaschopný 10-30 minút, ale ostáva životaschopný dlhšie v chladných a vlhkých podmienkach (Coe *et al.*, 1988; Herrero and Johnson, 1980; Hoekstra *et al.*, 1989; Jones and Newell, 1948).

1.3.3 Životnosť jednej generácie rastliny

Kukurica je jednoročná rastlina. Generačný cyklus od výsevu po zber varíruje v závislosti od genetického pozadia a klimatických podmienok v širokom rozsahu a to od 60 – 70 dní až do 43 - 48 týždňov od vyklíčenia do zrelosti. V podmienkach Slovenska sa výsev obyčajne neuskutočňuje skôr ako v apríli, a zber nebýva neskôr než v novembri.

1.3.4 Údaje o schopnosti prežívania rastliny (sexuálna kompatibilita s inými pestovanými alebo planými druhmi a rozšírenie týchto kompatibilných druhov v SR)

1.3.4.1 Cudzoopelenie s pestovanými materiálmi kukurice

Sexuálna kompatibilita kukurice inými pestovanými rastlinnými druhmi je obmedzená na druhy rodu *Zea*.

1.3.4.2 Cudzoopelenie s divorastúcimi materiálmi kukurice

V Európe sa divo rastúce materiály kukurice nevyskytujú. Preto kukurica nemôže vymieňať gény s inými rastlinnými druhmi v krajinách EÚ (Niebur *et al.*, 1993).

1.4 Schopnosť prežitia

1.4.1 Schopnosť vytvárať štruktúry, ktoré umožňujú prežitie alebo dormanciu, a dĺžka možného prežívania alebo dormancie

Kukurica je jednoročnou plodinou. Semená sú jedinou životaschopnou (prežívajúcou) štruktúrou a nemôžu byť rozširované bez mechanického poškodenia šúľku a vykazujú nízku alebo žiadnu dormanciu. Prirodzená regenerácia z vegetatívnych častí nebola v prírode popísaná (OECD, 2003).

1.4.2 Ďalšie špecifické faktory umožňujúce prežitie

Prežívanie kukurice je závislé na teplote, vlhkosti semien, genotype, ochrane šúľka listeňmi a vývojovom štádiu. Kukurica nemôže pretrvávajúť ako burina. Semeno kukurice môže prežívať iba v úzkom rozsahu klimatických podmienok. Plané rastliny ničí mráz, alebo sa ľahko odstraňujú použitím súčasných agronomických praktík, vrátane spôsobov pestovania a používania selektívnych herbicídov (Niebur, 1993). Kukurica nie je schopná trvalej reprodukcie bez asistencie človeka, preto nie je invazívna v prirodzenom prostredí (OECD, 2003).

1.5 Údaje o rozširovaní rastliny (šírenie rastliny v prostredí, spôsob a rozsah šírenia – pokles množstva peľu a semien v závislosti na vzdialenosti od zdroja, sily a smeru, toku vody a ďalších faktoroch)

1.5.1 Spôsob a rozsah šírenia (pokles množstva peľu a semien v závislosti na vzdialenosti od zdroja, sily a smeru vetru, toku vody a ďalších faktoroch)

Kukurica sa môže šíriť v životnom prostredí iba prostredníctvom semien, alebo rozptylu peľu. Šírenie semenami je pri domestikovanej kukurici významne obmedzené vzhľadom k štruktúre šúľku s listeňmi pokrývajúcimi zrno.

Genetický materiál môže byť rozširovaný prostredníctvom peľu. Šírenie kukuričného peľu ovplyvňuje jeho veľkosť a hmotnosť, rýchlosť, smer a turbulencie vetra. Šírenie peľu kukurice limituje jeho značná veľkosť a rýchlosť usadzovania. Potenciál prenosu dedičného materiálu medzi rastlinami kukurice disperziou peľu je diskutované v bode 1.3.2.

1.5.2 Špecifické faktory ovplyvňujúce šírenie (ak existujú)

Samičie súkvetie kukurice (šúľok) je polystichálne (t.j. usporiadané vo viacerých radoch) a je umiestnené na pevnom vretene šúľka a uzavreté v listeňoch (modifikované listy). Šírenie semien kukurica sa prirodzene nevyskytuje v dôsledku štruktúry šúľku (Doebly, 2004; Warwick and Stewart, 2005). Kukurica nie je invazívna pre životné prostredie (OECD, 2003).

1.6 Údaje o zemepisnom rozšírení rastliny

Kukurica je jedna z najrozšírenejších cereálnych plodín na svete a celosvetovo sa pestuje na ploche približne 145 miliónov hektárov².

Pestovanie kukurice je rozšírené v širokom rozsahu rôznych podmienok: od severnej zemepisnej šírky 50° až po 50° južnej zemepisnej šírky, od Kaspických nížin pod úrovňou hladiny mora až po oblasti 3000 m nad morom v Andskej vysočine a od semiaridných až po suché oblasti (Russell and Hallauer, 1980). Najvýznamnejšie produkčné oblasti sú charakterizované najteplejšími mesačnými izotermami v rozmedzí 21°C až 27 °C, kde obdobie bez výskytu mrazu trvá 120 - 180 dní.

1.7 Opis prirodzeného miesta výskytu rastliny, pokiaľ nie je rastlina v SR pestovaná, popis habitu vrátane informácie o prirodzených konzumentoch, patogénoch, parazitoch, konkurentoch a symbiontoch

Predpokladá sa, že kukuricu introdukoval v Európe Kolumbus v 15 stor. n. l. (Rebourg *et al.*, 2003) a v súčasnosti je jeho pestovanie v EÚ široko rozšírené. V SR je kukurica pestovaná v rozsahu približne 240 000 ha ročne.

1.8 Opis iných možných vzájomných pôsobení geneticky modifikovanej rastliny s organizmami v ekosystéme, v ktorom sa rastlina obvykle pestuje, vrátane údajov o jej toxických účinkoch na ľudí, zvieratá a iné rastliny

Tak ako ostatné pestované plodiny, kukurica interaguje v životnom prostredí s radou organizmov, vrátane mikroorganizmov, hmyzu, vtákov, divjej zveri a s množstvom pôdnych a listových bezstavovcov. Kukurica je citlivá na širokú škálu hubových ochorení a hmyzích škodcov, ako aj na konkurenciu obklopujúcimi burinami (OECD, 2003). Kukurica je extenzívne pestovaná a má dlhú históriu bezpečného používania ako potravy pre ľudí a krmiva pre hospodárske zvieratá. Nie sú známe žiadne natívne toxíny, spájané s rodom *Zea* (CFIA, 2003).

² FAO FAOSTAT Data 2008. Downloaded March 2008.
<http://faostat.fao.org/site/340/DesktopDefault.aspx?PageID=340>

1.9 Účinky na zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie.

- toxicita
- alergénnosť
- iné

Nie je známe, že by kukurica, pri dodržaní všetkých štandardov kvality produkcie, mala negatívne účinky na zdravie ľudí, zvierat alebo životné prostredie.

Kukurica má svoje nezastupiteľné miesto vo výžive ľudí a zvierat. Konsezuálny dokument OECD z r. 2002 opisuje niektoré antinutričné látky kukurice (kyselina fytová; 2,4-dihydroxi-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-1; rafinóza a nízke koncentrácie inhibítorov trypsínu a chymotrypsínu), ale žiadna z nich nie je potvrdená ako nutrične významná pre zdravie ľudí (White and Pollak 1995). Kukurica nie je známa ako významný zdroj alergií (OECD 2002), bolo opísaných len niekoľko ojedinelých prípadov alergickej reakcie spojených s konzumáciou kukurice. Záverom je možné konštatovať, že riziko vzniku toxickej alebo alergickej reakcie spojenej s konzumáciou kukurice je možné považovať za veľmi nízke.

2. Údaje týkajúce sa geneticky modifikovanej rastliny

2.1. Slovenský a latinský rodový a druhový názov geneticky modifikovaném vyššej rastliny, s presným určením kultivaru (odrody, línie, hybridu)

Slovenský názov: Kukurica siata

Latinský názov: *Zea mays* L.

Hybridy: Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21

2.2. Opis a charakteristika dedičných vlastností, ktoré boli vložené alebo zmenené, vrátane signálnych a selekčných génov a predchádzajúcich modifikácií a popis ich fenotypových prejavov

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli vyvinuté spoločnosťou Syngenta a vznikli konvenčným krížením medzi insekt-rezistentnými líniami GM kukurice Bt11 a MIR604 a herbicíd-tolerantnou GM líniou GA21. Nebola vykonaná žiadna ďalšia genetická modifikácia pre produkciu hybridov s prítomnosťou viacerých transgénov („stack“). Kukurice Bt11, MIR604 a GA21 boli vytvorené genetickou modifikáciou ako bude uvedené nižšie. Hybridy GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 vznikli konvenčným krížením medzi nasledovnými geneticky modifikovanými (GM) rodičovskými líniami kukurice:

- kukurica Bt11, exprimuje skrátenú formu bielkoviny Cry1Ab pre kontrolu určitých škodcov z radu *Lepidoptera* a bielkovinu fosfinotricín acetyltransferázu (PAT), ktorá zabezpečuje toleranciu k herbicídom obsahujúcim glufosinát amónny,

- kukurica MIR604, exprimuje modifikovanú bielkovinu Cry3A (mCry3A) pre kontrolu určitých škodcov z radu *Coleoptera* a bielkovinu fosfomannóza izomerázu (PMI), ktorá pôsobí ako selekčný marker umožňujúci transformovaným bunkám využívať mannózu ako primárny zdroj uhlíka,

- kukurica GA21, exprimuje modifikovanú bielkovinu z kukurice 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntázu (mEPSPS), enzým, ktorý zabezpečuje toleranciu k herbicídom obsahujúcim glyfozát.

Z toho dôvodu kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 produkujú „transgénne“ bielkoviny zdedené z individuálnych GM línií kukurice (Bt11: Cry1Ab, PAT; MIR604: mCryA, MIR604 PMI; GA21: mEPSPS). Opis individuálnych vlastností vložených do rodičovských línií je opísaný nižšie.

Kukurica Bt11

Rastliny kukurice Bt11 sú chránené pred poškodením určitými hmyzími škodcami z radu *Lepidoptera*, vrátane *Ostrinia nubilalis* (vijačka kukuričná) a *Sesamia nonagrioides* („Mediterranean corn borer“) a vykazujú toleranciu k herbicídom obsahujúcim glufozinát amónny. Ochrana pred poškodením požerom larvami škodcu je zabezpečená expresiou skrátenej formy Cry1Ab proteínu kódovaného modifikovaným génom *cry1Ab* (odvodeným z pôdneho mikroorganizmu *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1) v pletivách Bt11 kukurice. DNA sekvencia génu bola skrátená na 3' konci a modifikovaná za účelom zvýšenia expície v kukurici, avšak aminokyselinové zloženie bielkoviny nebolo zmenené (Perlak *et al.*, 1991). Gén *cry1Ab* v kukurici Bt11 kóduje bielkovinu Cry1Ab, skrátenú verziu δ-endotoxínu, produkovaného *B. thuringiensis*.

Tolerancia k herbicídom na báze glufozinátu amónneho sa dosahuje expresiou génu *pat*, odvodeného z pôdneho mikroorganizmu *Streptomyces viridochromogenes*, kmeňa Tu494, ktorý kóduje enzým fosfinotricín acetyltransferázu (PAT) schopného detoxifikovať herbicíd (Strauch *et al.*, 1988).

Skrátená forma bielkoviny Cry1Ab a proteín PAT sú produkované v pletivách rastlín kukurice a, ako to demonštrujú skleníkové a poľné pokusy, Cry1Ab chráni rastliny pred požerom prvým a druhým instarom lariev vijačky kukuričnej.

Kukurica MIR604

Kukurica MIR604 je geneticky modifikovaná (GM) kukurica exprimujúca modifikovaný bielkovinu Cry3A (mCry3A), ktorá zabezpečuje ochranu pred kukuričiarom koreňovým („western corn rootworm“, WCRW) a príbuznými druhmi *Diabrotica* spp. Exprimuje tiež markerový gén *pmi*, ktorý dovoľuje rastline využívať mannózu ako zdroj uhlíka; netransformované rastliny kukurice nemôžu využívať mannózu a preto bielkovina PMI pôsobí ako selekčný marker, keď sú rastliny pestované na živných médiách obsahujúcich mannózu ako jediný zdroj uhlíka.

Zamýšľané cieľ genetickej modifikácie MIR604 kukurice je kontrola kukuričiara koreňového a príbuzných druhov *Diabrotica* spp. v pestovanej kukurici. Cry3A je dobre známy pre jeho špecificitu k hmyzu z radu *Coleoptera* a nikdy neboli zaznamenané žiadne jeho účinky na druhy iných radov cieľových organizmov (van Frankenhuyzen and Nystrom, 2002). Genetická modifikácia nemala za cieľ zmeniť akékoľvek typické charakteristiky plodiny kukurice (s výnimkou rezistencie ku kukuričiarovi koreňovému a príbuzným druhom rodu *Diabrotica*).

Kukurica GA21

Kukurica GA21 je geneticky modifikovaná (GM) kukurica, ktorá exprimuje mutovaný enzým 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntázu (mEPSPS). Enzým 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntáza (mEPSPS) je zahrnutý v biosyntéze aromatických aminokyselín, vitamínov a sekundárnych metabolitov. Tento enzým sa nevyskytuje pri živočíchoch. V rastlinách je EPSPS lokalizovaný v plastidoch, ako sú napr. chloroplasty, ktoré sú miestom aktívnej biosyntézy aminokyselín. EPSPS katalyzuje kondenzáciu fosfoenolpyruvátu (PEP) a kyseliny 3-fosfošikimovej na kyselinu 5-enolpyruvyl-3-fosfošikimovú. Kyselina 5-

enolpyruvyl-3-fosfošikimová je následne konvertovaná na chorizmát, ktorý je prekursorom aromatických aminokyselín (Comai and Stalker, 1986; Stalker *et al.*, 1985; OECD, 1999).

Väčšina enzýmov biosyntézy aminokyselín je lokalizovaná v plastidoch. Plastidová EPSPS je kódovaná jadrovým génom a je syntetizovaná v cytoplazme. Následne je importovaná do plastidov (Lebrun *et al.*, 1996).

Glyfozát je široko používaný širokospektrálny herbicíd, ktorý zasahuje do normálneho metabolizmu rastliny inhibíciou enzýmu EPSPS (Thompson *et al.*, 1987; OECD, 1999). Glyfozát účinkuje ako kompetitívny inhibítor enzýmu EPSPS pokiaľ ide o PEP a nekompetitívny inhibítor EPSPS pokiaľ ide o kyselinu 3-fosfošikimovú (Steinrucken a Amrhein, 1984). Taká inhibícia EPSPS a syntézy aromatických aminokyselín vedie k rozvráteniu syntézy bielkovín a odumretiu rastliny.

Boli vykonané štúdie na preukázanie toho, že výsledkom modifikácií natívneho EPSPS môže byť enzým tolerantný ku glyfozátu (Lebrun *et al.*, 2003). Enzým mEPSPS exprimovaný v kukurici GA21 obsahuje dve zmeny v sekvencii aminokyselín, ktoré boli introdukované špecificky za účelom tolerancie k herbicídom obsahujúcim glyfozát. Tieto zmeny sú na pozíciách aminokyselín 102 (zámena treonínu za izoleucín) a 106 (zámena prolínu za serín). mEPSPS v kukurici GA21 obsahuje tiež tranzitový peptid na zabezpečenie transportu do plastidov. Tento tranzitový peptid nie je prítomný v zrelej bielkovine.

Záverom, kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 exprimujú vlastnosti prítomné v rodičovských líniiach Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom produkcie

- (v Bt11) skrátenej formy bielkoviny Cry1Ab pre kontrolu určitých škodcov z radu *Lepidoptera*, ako sú bežní škodcovia v Európe pestovanej kukurici: *Ostrinia nubilalis* (vijačka kukuričná) a *Sesamia nonagrioides* (Mediterranean corn borer),

- (v Bt11) bielkoviny fosfínocín acetyltransferáza (PAT), ktorá zabezpečuje toleranciu k herbicídom obsahujúcim glufosinát amónny,

- (v MIR604) modifikovanej bielkoviny Cry3A (nCry3A) na kontrolu určitých druhov škodcov z radu *Coleoptera*, akým je kukuričiar koreňový (*Diabrotica virgifera virgifera*), škodca kukurice nedávno introdukovaný a rýchlo sa rozširujúci v Európe,

- (v MIR604) bielkoviny izomerázy fosfomannózy (PMI) ako selekčného markeru. PMI umožňuje transformovaným bunkám kukurice využívať mannózu ako jediný primárny zdroj uhlíka, zatiaľ čo bunky neobsahujúce tento proteín nerastú,

- (v GA21) modifikovaného enzýmu 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntáza z kukurice (mEPSPS), ktorý zabezpečuje toleranciu herbicídom obsahujúcim glyfozát.

2.3. Typ genetickém modifikácie

2.3.1 Vnesenie cudzorodého dedičného materiálu

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 vznikli konvenčným krížením medzi insekt-rezistentnými líniami GM kukurice Bt11 a MIR604 a herbicíd-tolerantnou GM líniou GA21. Nebola vykonaná žiadna ďalšia genetická modifikácia pre produkciu hybridov s prítomnosťou viacerých transgénov („stack“).

2.3.2 Vyňatie časti dedičného materiálu

Nevzťahuje sa.

2.3.3 Kombinácia vyňatia a vnesenia dedičného materiálu

Nevzťahuje sa.

2.3.4 Bunková fúzia

Nevzťahuje sa.

2.3.5 Iné

Nevzťahuje sa.

2.4 Vlastnosti a pôvod použitého vektora (pokiaľ bol vektor pri genetickej modifikácii použitý, plus mapa vektora)

Na produkciu kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 neboli použité žiadne vektory, pretože boli vytvorené konvenčným krížením medzi insekt-rezistentnými líniami GM kukurice Bt11 a MIR604 a herbicíd-tolerantnou GM líniou GA21 a nebola vykonaná žiadna ďalšia genetická modifikácia pre produkciu týchto hybridov s prítomnosťou viacerých transgénov („stack“). Kukurice Bt11, MIR604 a GA21 boli vytvorené genetickou modifikáciou a vektory použité na ich tvorbu sú uvedené nižšie.

Kukurica Bt11.

Kukurica Bt11 bola vytvorená použitím systému genetickej transformácie a regenerácie z protoplastov kukurice (Negrutiu *et al.*, 1987). Na genetickú transformáciu bol použitý *NotI* restričný fragment vektora pZO1502, ktorý je derivátom plazmidu pUC18. Mapa vektora je uvedená na **obr. 1**.

Veľkosti, funkcie a pôvody každého elementu *NotI* fragmentu pZO1502 sú sumarizované v **tab. 1**. *NotI* fragment obsahuje skrátenú verziu Bt génu, ktorá bola odvodená z génu *cry1Ab* z *Bacillus thuringiensis*; obsahuje tiež gén *pat* zo *Streptomyces viridochromogenes*, kódujúci bielkovinu fosfínotricín acetyltransferázu (PAT). *NotI* fragment neobsahuje gén *amp* z baktérie *Escherichia coli* prítomný v plazmide pZO1512 (obr. 1), ktorý spôsobuje rezistenciu bakteriálnych buniek k ampicilínu.

Kukurica MIR604

Kukurica MIR604 bola vytvorená transformáciou nezrelých embryí kukurice izolovaných z komerčnej línie *Zea mays*, použitím genetickej transformácie prostredníctvom *Agrobacterium tumefaciens* (Negrotto *et al.*, 2000; Hoekema *et al.*, 1983). Vektor použitý pre transformáciu bol pZM26, ktorej genetická mapa je znázornená na **obr. 2**.

Veľkosti, funkcie a pôvody každého elementu plazmidu pZM26 sú sumarizované v **tab. 2**. Oblasť zabudovaná do rastlinného genómu obsahuje modifikovaný gén *cry3A* (*mcryA*) z *Bacillus thuringiensis* a gén *pml* z *E. coli*, kódujúci izomerázu fosfomanózy ako selekčného markera. Komponenty kostry vektora nemienené na inzerciu sú opísané v **tab. 2**.

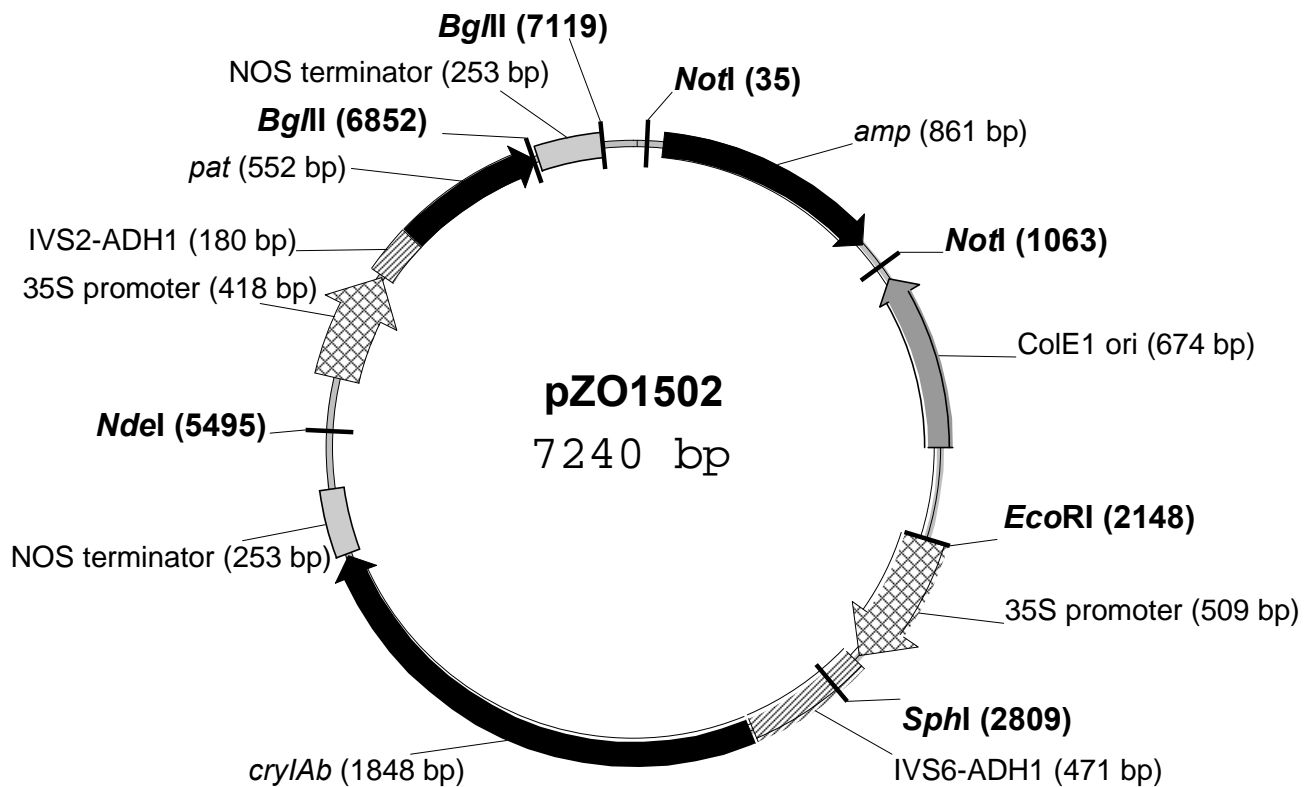
Kukurica GA21

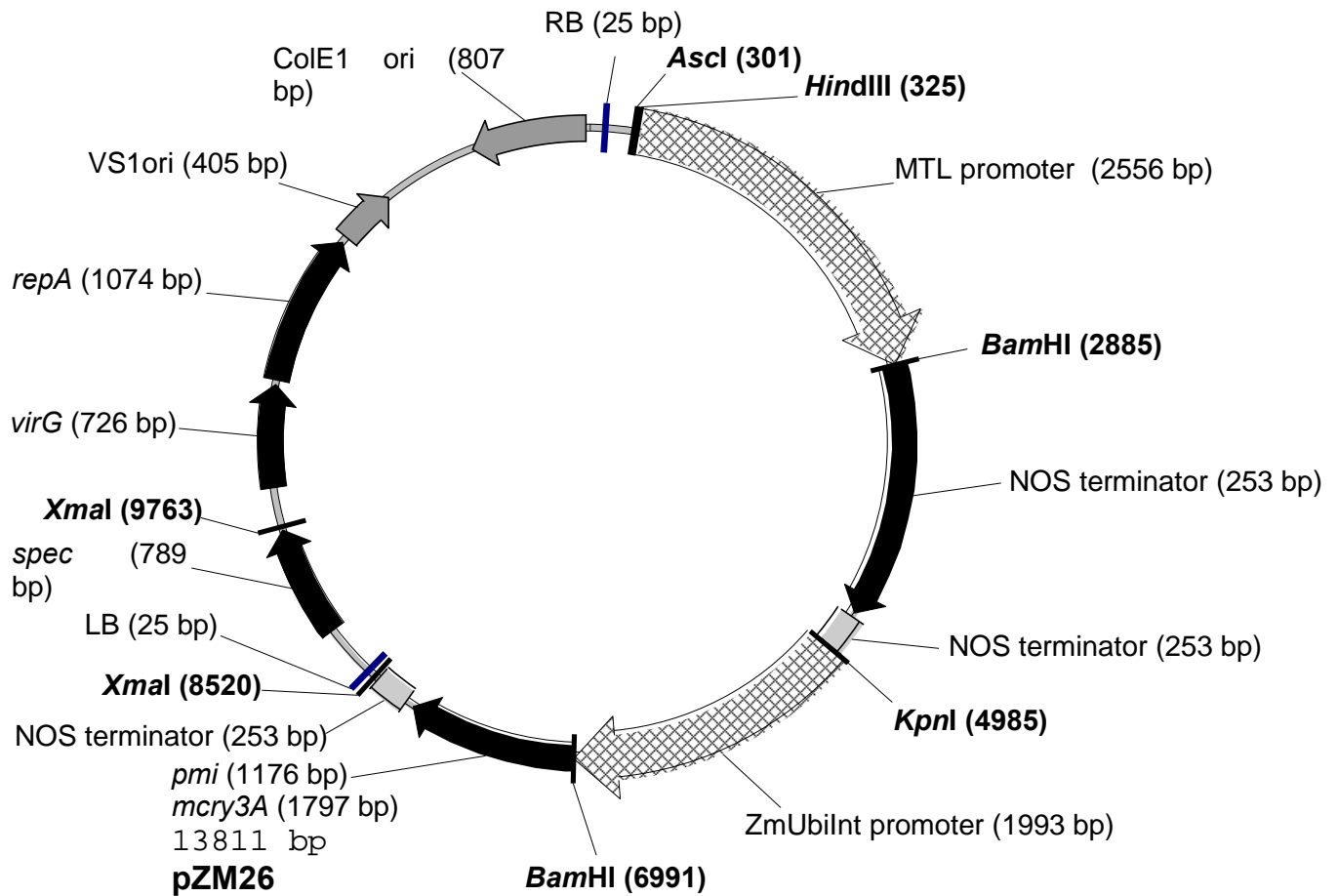
Kukurica GA21 bola produkovaná prostredníctvom mikroprojektilového bombardovania bunkovej suspenznej kultúry kukurice (Spencer *et al.*, 1998, str. 75-77). Na genetickú transformáciu bol použitý *NotI* restričný fragment vektora pDPG434 (Spencer *et al.*, 1998,

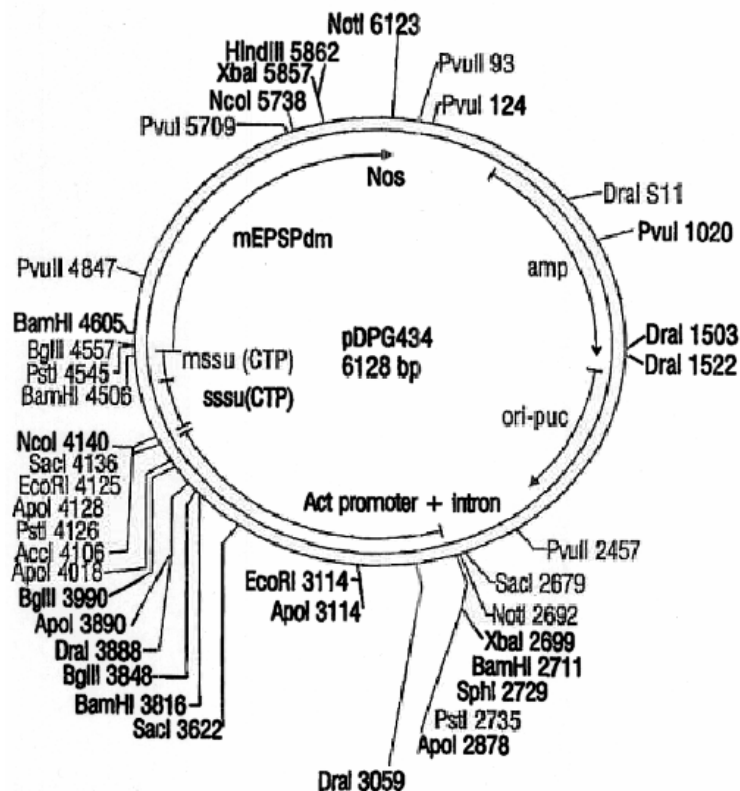
str. 75-77). Vektor pDPG434 je odvodený z pSK- vektora, ktorý je derivátom plazmidu pUC19 (Short *et al.*, 1988). Genetická mapa vektora pDPG434 je znázornená na **obr. 3**.

Veľkosti, funkcie a pôvody každého elementu vektora p DPG434 sú sumarizované v **tab. 3 a 4**. *NotI* fragment obsahuje modifikovaný gén pre 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntázu (*mepsps*) z kukurice. Neobsahuje počiatok replikácie, gén *bla* (*amp*) a čiastočnú *lacZ* sekvenciu (**obr. 3**; **tab. 4**).

Obr. 1 Genetická mapa plazmidu a transformačného vektora pZO1502



Obr. 2 Genetická mapa pZM26 použitý na tvorbu kukurice MIR604

Obr. 3 Genetická mapa transformačného vektora pDPG434³

2.5 Údaje o každej časti úseku DNA, ktorý bol vnesený do organizmu príjemcu (pokiaľ genetická modifikácia zahŕňa vnesenie dedičného materiálu)

2.5.1 Pôvod (slovenské a latinské rodové a druhové meno darcovského organizmu presným určením kultivaru – odrody, rasy, plemena, línie, formy, hybridu, kmeňa, patovaru)

Pôvody úsekov DNA vnesených do organizmov príjemcov (Bt11, MIR604, GA21) sú uvedené v tab. 1, 2, 3 a 4.

2.5.2 Funkčná charakteristika

Funkčné charakteristiky úsekov DNA vnesených do organizmov príjemcov (Bt11, MIR604, GA21) sú uvedené v tab. 1, 2, 3 a 4.

2.5.3 Veľkosť

Veľkosti úsekov DNA vnesených do organizmov príjemcov (Bt11, MIR604, GA21) sú uvedené v tab. 1, 2, 3 a 4.

³ Vid' Spencer *et al.* (1998), titulná strana

Tab. 1 Prehľad vnesených sekvencií DNA (génov a regulačných sekvencií) v plazmide pZO1502 (transformačného vektora pre kukuricu Bt11)

Genetický element	Veľkosť (bp)	Funkcia
AKTÍVNE ZLOŽKY KAZETY		
35S	509	Promótor z vírusu mozaiky karfiolu (CaMV) (Gardner <i>et al.</i> , 1981).
IVS6-ADH1	471	Vmedzerená intrónová sekvencia 6 z kukurice z génu <i>adh1</i> (Freeling and Bennet, 1985). Táto sekvencia je používaná na zvýšenie expície génu v kukurici.
<i>cry1Ab</i>	1848	Modifikovaný gén <i>cry1Ab</i> , ktorý kóduje skrátenú verziu bielkoviny Cry1Ab (Perlak <i>et al.</i> , 1991) a ktorý zabezpečuje rezistanciu k určitým druhom škodcov z radu <i>Lepidoptera</i> . Gén <i>cry1Ab</i> bol pôvodne klonovaný z <i>Bacillus thuringiensis</i> .
NOS	253	Terminátorová sekvencia z génu pre syntetázu nopalínu z <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Depicker <i>et al.</i> , 1982).
KAZETA SELEKČNÉHO MARKEROVÉHO GÉNU		
35S	418	Promótor z vírusu mozaiky karfiolu (CaMV) (Gardner <i>et al.</i> , 1981).
IVS2-ADH1	180	Vmedzerená intrónová sekvencia 2 z génu kukurice <i>adh1</i> (Freeling and Bennet, 1985). Táto sekvencia je používaná na zvýšenie expície génu v kukurici.
<i>pat</i>	552	Gén <i>pat</i> odvodený z baktérie <i>Streptomyces viridochromogenes</i> (Wohleben <i>et al.</i> , 1988). Kóduje selekčný marker PAT (fosfinotricín acetyltransferázu), ktorá spôsobuje toleranciu k herbicídom obsahujúcim glufosinát amónny (fosfinotricín).
NOS	253	Terminátorová sekvencia z génu pre syntetázu nopalínu z <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Depicker <i>et al.</i> , 1982).
KOMPONENTY KOSTRY VECTORA		
Komponent prítomný na <i>NotI</i> restriktčnom fragmente plazmidu pZO1502 použitého na transformáciu		
ColE1	674	Počiatok replikácie, ktorý dovoľuje replikáciu plazmidu v <i>E. coli</i> . (Itoh and Tomizawa, 1979).
Komponent neprítomný na <i>NotI</i> restriktčnom fragmente pZO1502 použitého na transformáciu, v dôsledku jeho odstránenia z plazmidu štiepením enzýmom <i>NotI</i>.		
<i>amp</i>	861	Gén pre β -laktamázu (<i>bla</i>) z <i>Escherichia coli</i> , ktorý kóduje rezistenciu k ampicilínu. Funguje ako selekčný marker pre amplifikáciu plazmidu.

Tab. 2 Prehľad vnesených sekvencií DNA (génov a regulačných sekvencií) v plazmide pZM26 (transformačného vektora pre kukuricu MIR604).

Genetický element	Veľkosť (bp)	Funkcia
AKTÍVNE ZLOŽKY KAZETY		
MTL	2556	Promótor odvodený z metalotioneínu-podobného génu <i>Zea mays</i> (kukurica). Poskytuje expresiu prednostne v koreňoch <i>Zea mays</i> (de Framond, 1991).
<i>mcry3A</i>	1797	Modifikovaný gén <i>cry3A</i> z <i>Bacillus thuringiensis</i> , ktorý kóduje toleranciu k určitým škodcom z radu <i>Coleoptera</i> (Chen and Stacy, 2003).
NOS	253	Terminátorová sekvencia génu pre syntetázu nopalínu z <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Depicker <i>et al.</i> , 1982).
KAZETA SELEKČNÉHO MARKEROVÉHO GÉNU		
ZmUbiInt	1993	Promótorová oblasť polyubikitínového génu z kukurice (<i>Zea mays</i>), ktorý obsahuje prvý intrón. Poskytuje konštitutívnu expresiu pri jednokľúčolistových rastlinách (Christensen <i>et al.</i> , 1992).
<i>pmi</i>	1176	Gén <i>pmi</i> z <i>E. coli</i> , kódujúci enzým izomerázu fosfomanózy (PMI); tento gén je tiež známy ako <i>manA</i> . Katalyzuje izomerizáciu manózo-6-fosfátu na fruktózo-6-fosfát (Negrotto <i>et al.</i> , 2000).
NOS	253	Terminátorová sekvencia génu pre syntetázu nopalínu z <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Depicker <i>et al.</i> , 1982).

KOMPONENTY KOSTRY VECTORA		
LB	25	Ľavá hraničná oblasť T-DNA z <i>A. tumefaciens</i> nopalínového Ti-plazmidu. Krátke priame opakovania, ktoré priliehajú k T-DNA a sú potrebné pre prenos T-DNA do rastlinnej bunky (Zambryski <i>et al.</i> , 1982).
<i>spec</i>	789	Gén <i>aadA</i> pre spektinomycín adenyltransferázu z <i>E. coli</i> Tn7. Zabezpečuje rezistenciu k erytromycínu, streptomycínu, a spektinomycínu; používa sa jako bakteriálny selekčný markerový gén (Fling <i>et al.</i> , 1985).
<i>virG</i>	726	Gén VirGN54D z pAD1289. Substitúcia N54D spôsobuje konštitutívny <i>virG</i> fenotyp. VirG je súčasťou dvojzložkového regulačného systému pre <i>vir</i> regulón pri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Hansen <i>et al.</i> , 1994).
<i>repA</i>	1074	Gén pre pVS1 replikačný proteín z <i>Pseudomonas</i> spp., ktorý je súčasťou minimálneho pVS1 replikónu, ktorý je funkčný pri gram-negatívnych baktériách asociovaných s rastlinami (Heeb <i>et al.</i> , 2000).
VS1ori	405	Konsenzus sekvencia pre počiatok replikácie a oblasť oddelenia plazmidu pVS1 z <i>Pseudomonas</i> spp. Služi ako počiatok replikácie pri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Itoh <i>et al.</i> , 1984).
ColE1	807	Počiatok replikácie, ktorý dovoľuje replikáciu plazmidov v <i>E. coli</i> . (Itoh and Tomizawa, 1979).
RB	25	Pravá hraničná oblasť T-DNA z nopalínového Ti-plazmidu <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Krátke priame opakovania priliehajúce k T-DNA a je potrebný na prenos T-DNA do rastlinnej bunky (Wang <i>et al.</i> , 1984).

Tab. 3 Donorové gény a regulačné sekvencie v *NotI* restričnom fragmente plazmidu pDPG434 (transformačný vector pre GA21).

Komponent vektora	Približná veľkosť (Kb)	Opis určenej funkcie
Aktínový promótor a intrón	1.4	5' oblasť aktínového génu z ryže (<i>Oryza sativa</i> L.) obsahujúci promótor a prvý exón a intrón (McElroy <i>et al.</i> , 1990). Poznámka: toto je opísané ako "Act promótor + intrón" vo vektore pDPG434
Sekvencia pre optimalizovaný tranzitový peptid	0.4	Sekvencia pre N-terminálny chloroplastový tranzitový peptid (CTP), konštruovaný na základe CTP sekvencií génov pre ribulózo-1,5-bisfosfát karboxylázu/oxygenázu (RuBisCo) z kukurice a snečnice. Prítomné pre riadenie syntézy mEPSPS proteínu v chloroplastoch (Lebrun <i>et al.</i> , 1996). Poznámka: toto je opísané ako "mssu (CTP) a sssu (CTP)" vo vektore pDPG434
Mutantný gén <i>epsps</i> z kukurice	1.3	Sekvencia kódujúca modifikovanú bielkovinu EPSPS (mEPSPS) z kukurice (<i>Zea mays</i>), ktorá zabezpečuje toleranciu ku glyfozátu (Lebrun <i>et al.</i> , 2003). Poznámka: toto je opísané ako "mEPSPdm" vo vektore pDPG434
Nos 3' koniec	0.3	3' neprekľadaná oblasť génu pre syntetázu nopalínu z <i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA, ktorá ukončuje transkripciu a riadi polyadenyláciu mRNA (Spencer <i>et al.</i> , 1998).

Tab. 4 Komponenty kostry vektora uvoľnené štiepením plazmidu pDPG434 *NotI* restričnou endonukleázou pred transformáciou.

Komponenty vektora	Opis
lac	Parciálna kódujúca sekvencia génu <i>lacI</i> , promótor <i>plac</i> , a parciálna kódujúca sekvencia pre β -galactozidázu alebo <i>LacZ</i> proteíny (Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)
bla	TEM typ β -laktamázový gén z <i>E. coli</i> plazmidu pBR322. Spôsobuje rezistenciu bakteriálnych buniek k ampicilínu a iným penicilínom (Sutcliffe, 1978). Gén je pod kontrolou jeho natívneho bakteriálneho promótoru.
ColE1ori	Počiatok replikácie DNA z <i>E. coli</i> vysokokópiového plazmidu pUC19 (Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)

2.6 Pokiaľ sa jedná o vyňatie časti dedičného materiálu (delécie), veľkosť a funkcie vyňatého úseku

Nevzťahuje sa.

2.7 Opis metódy použitej pre genetickú modifikáciu

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 vznikli konvenčným krížením medzi insekt-rezistentnými líniami GM kukurice Bt11 a MIR604 a herbicíd-tolerantnou GM líniou GA21. Nebola vykonaná žiadna ďalšia genetická modifikácia pre produkciu hybridov s prítomnosťou viacerých transgénov („stack“). Genetickou modifikáciou boli vytvorené kukurice Bt11, MIR604 a GA21. Vektory, pôvod, funkčné charakteristiky a veľkosti genetických elementov vektorov použitých na ich tvorbu sú uvedené vyššie (**Obr. 1, 2, 3 a Tab. 1, 2, 3 a 4**).

Kukurica Bt11 bola vytvorená použitím systému genetickej transformácie a regenerácie z protoplastov kukurice (Negrutiu *et al.*, 1987). Kukurica MIR604 bola vytvorená transformáciou nezrelých embryí kukurice izolovaných z komerčnej línie *Zea mays*, použitím genetickej transformácie prostredníctvom *Agrobacterium tumefaciens* (Negrotto *et al.*, 2000; Hoekema *et al.*, 1983). Kukurica GA21 bola produkovaná prostredníctvom mikroprojektilového bombardovania bunkovej suspenznej kultúry kukurice (Spencer *et al.*, 1998, str. 75-77).

2.8 Umiestnenie vloženého dedičného materiálu v rastlinnej bunke (vložený do chromozómov, chloroplastov alebo v neintegrovanej forme)

Dedičnosť inzerov v kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21 bola analyzovaná a výsledky ukázali, že genetickou transformáciou bol vložený dedičný materiál do jadrového genómu (chromozómov) buniek. Hybridy Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčného kríženia. Preto tieto kukurice exprimujú vlastnosti prítomné v rastlinách línií Bt11, MIR604 a GA21.

Kukurica Bt11

Vzor dedičnosti T-DNA inzertu odvodeného z pZO1502 v Bt11 kukurici bol analyzovaný. Štatistická analýza potvrdila očakávané Mendelovské štiepne pomery pre oba gény *cry1Ab* a *pat*, čo dokazuje, že včlenenie inzertu sa uskutočnilo v jadre.

Kukurica MIR604

Vzor dedičnosti T-DNA inzertu odvodeného z pZM26 v MIR604 kukurici bol analyzovaný. Štatistická analýza potvrdila očakávané Mendelovské štiepne pomery pre oba gény *mcry3A* a *pmi*, čo dokazuje, že včlenenie inzertu sa uskutočnilo v jadre.

Kukurica GA21

Vzor dedičnosti T-DNA inzertu odvodeného z pDPG434 v GA21 kukurici bol analyzovaný. Štatistická analýza potvrdila očakávaný Mendelovský štiepny pomer pre vlastnosť tolerancie k herbicídu čo dokazuje, že včlenenie inzertu sa uskutočnilo v jadre.

2.9 Počet kópií vloženého dedičného materiálu

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou kukuríc

Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčného kríženia. Predchádzajúce analýzy individuálnych transformačných výsledkov („eventov“) ukázali prítomnosť expresných kaziet v individuálnych lokusoch, čo je sumarizované nižšie.

Kukurica Bt11

Kukurica Bt11 obsahuje jednu samostatnú kópiu inzertu v jednom lokuse. Dáta zo Southern blot analýzy demonštrujú, že v rastlinách odvodených z tejto kukurice sa nachádza po jednej kópii génov *cryIAb*, *pat* a počiatku replikácie *ColE1*. Ako sa dá očakávať, inzerť kukurice Bt11 obsahuje dve kópie promótoru CaMV 35S, v zhode s dvoma kópiami tohto promótoru v transformačnom vektore pZO1502. Kukurica Bt11 neobsahuje žiadne kostrové sekvencie z plazmidu pZO1502 (gén *amp*).

Kukurica MIR604

Kukurica MIR604 obsahuje jeden samostatný inzerť prítomný v jednom lokuse. Dáta zo Southernovej analýzy dokazujú, že v kukurici MIR604 sú prítomné po jednej kópii modifikovaného génu *cry3A* (*mcry3A*), génu *pmi*, MTL promótoru a ZmUbiInt promótoru. MIR604 kukurica neobsahuje žiadne kostrové sekvencie z transformačného vektora pZM26.

Kukurica GA21

Analýza kukurice GA21 ukazuje, že inzerť pozostáva zo šiestich susediacich oblastí odvodených z 3,9 kb *NotI* fragmentu z pDPG434 použitého na tvorbu GA21 (kópie 1-6). Kopka 1 obsahuje promótor aktínového génu z ryže, ktorý má na 5' konci deléciu 696 bp, prvý exón a intrón aktínového génu, sekvenciu pre optimalizovaný tranzitový peptid, gén *mepsps* a *nos* terminátor. Kópie 2, 3 a 4 sú intaktné verzie 3,49 kb *NotI* restričného fragmentu z pDPG434. Kópia 5 obsahuje úplný aktínový promótor, prvý exón a intrón aktínového génu, sekvenciu pre optimalizovaný tranzitový peptid a prvých 288 bp génu *mepsps*, ktorý je zakončený stop kodónom a neobsahuje *nos* terminátor. Kópia 6 obsahuje promótor aktínového génu a skrútený prvý exón aktínového génu; neobsahuje žiadne ďalšie elementy z plazmidu pDPG434. Southernova analýza ukázala, že inzerť kukurice GA21 sa nachádza v jednom lokuse, a že neobsahuje žiadne ďalšie kópie inzertu nikde inde v genóme. Žiadne kostrové sekvencie z transformačného vektora pDPG434 nie sú detekovateľné v GA21 kukurici.

2.10 Stabilita vloženého dedičného materiálu a stabilita jeho umiestnenia

Molekulárne a fenotypové analýzy naznačujú, že v každej transgénnej línii bol inzerť stabilne zabudovaný do rastlinného genómu a vlastnosti takto získané sú stabilné.

Kukurica Bt11

Boli uskutočnené molekulárne analýzy na kukurici Bt11 s cieľom posúdenia či inzerť bol stabilne integrovaný do rastlinného genómu. Southernova analýza bola uskutočnená na porovnanie hybridizačných vzorov počas troch generácií rastlín kukurice Bt11 (BC1, BC3 a BC5) použitím génu *cryIAb* ako sondy. Hybridizačné dáta ukázali, že inzerť z plazmidu pZO1502 sa inkorporoval do kukurice Bt11 stabilne.

Pri kukurici Bt11 počas rôznych časových bodov experimentu spätného kríženia (BC1, BC3 a BC5) boli zhromaždené segregáčné dáta vlastností rezistencie k vijačke kukuričnej a tolerancie ku glufozinátu amónnemu. Údaje ukázali pri kukurici Bt11 heritabilitu podľa Mendelových zákonov a stabilitu oboch vlastností (gény *cryIAb* a *pat*).

MIR604 kukurica

Boli uskutočnené molekulárne analýzy na kukurici MIR604 s cieľom posúdenia či inzert bol stabilne integrovaný do rastlinného genómu. Southernova analýza bola uskutočnená na porovnanie hybridizačných vzorov počas troch generácií rastlín kukurice MIR604 (BC4, BC5 a BC6) použitím génu *mcry3A* ako sondy. Hybridizačné dáta ukázali, že inzert z plazmidu pZM26 sa inkorporoval do kukurice MIR604 stabilne.

Bola tiež hodnotená stabilita expresie bielkovín mCry3A a PMI (MIR604 PMI) v kukurici MIR604 počas viacerých generácií. Semená zo štyroch za sebou idúcich generácií spätného kríženia (reprezentujúce genotypy, ktoré boli hemizygotné pre transgénu kukurice MIR604) boli vysiate v skleníkových podmienkach a zo vzídených rastlín boli v štádiu antézy odobrané listové vzorky pre analýzu hladín bielkovín mCry3A a PMI. Celkom boli koncentrácie analyzovaných bielkovín podobné počas štyroch analyzovaných generácií a nebol zistený žiadny signifikantný trend k znižovaniu alebo zvyšovaniu koncentrácií, čo naznačuje, že expresia bielkovín mCry3A a PMI je stabilná. Preto sa ukazuje, že mCry3A a PMI stabilne exprimujú v rastlinách kukurice MIR604 počas mnohých generácií.

Kukurica GA21

Boli uskutočnené molekulárne analýzy na kukurici GA21 s cieľom posúdenia či inzert bol stabilne integrovaný do rastlinného genómu. Southernova analýza bola uskutočnená na porovnanie hybridizačných vzorov počas troch generácií rastlín kukurice GA21 (BC1, BC2 a BC3) použitím sondy špecifickej pre gén *mepsps*. Hybridizačné dáta ukázali, že inzert v kukurici GA21 je stabilný počas mnohých generácií.

Bola hodnotená aj stabilita expresie bielkoviny mEPSPS v GA21 kukurici počas mnohých generácií. Semená z troch back-cross generácií boli vysiate v skleníkových podmienkach a zo vzídených rastlín boli odobrané listové vzorky počas antézy pre analýzu koncentrácie mEPSPS. Celkom boli koncentrácie mEPSPS podobné počas troch analyzovaných generácií, dokazujúc stabilnú expresiu mEPSPS bielkoviny počas mnohých generácií.

2.11 Metódy stanovenia uvedených údajov

Na porovnanie hybridizačných vzorov DNA (integrácia transgénov, počet kópií transgénov, stabilita integrácie transgénov) boli pri kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21 uskutočnené Southernove analýzy genómovej DNA. Expresie a stabilita expresie bielkovín Cry1Ab (Bt11), PAT (Bt11), mCry3A (MIR604), PMI (MIR604) a mEPSPS (GA21) bola analyzovaná ELISA testom. Na dedičnosť a stabilitu prenosu získaných vlastností boli uskutočnené fenotypové analýzy.

2.12 Údaje o expresii vloženého dedičného materiálu

2.12.1 Miesto, kde dochádza v rastline k expresii vložených génov

Hybridy kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčného kríženia. Preto tieto kukurice produkujú transgénne bielkoviny prítomné v kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21, t.j. Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS.

Rozsah expresie každej z bielkovín produkovaných v každej transgénej línii (Bt11, MIR604 a GA21) bol určený ELISA testom v rôznych pletivách rastlín a v celých rastlinách počas rôznych vývojových štádií (od vzchádzania po senescenciu). Výsledky analýz sú sumarizované nižšie.

Kukurica Bt11

Cry1Ab. Cry1Ab môže byť detekované vo všetkých vzorkách rastlinných pletív pripravených z kukurice Bt11. Počas všetkých rastových fáz priemerný obsah bielkoviny Cry1Ab stanovený v listoch, koreňoch a celých rastlinách sa pohyboval v rozmedzí 10-22 µg/g čerstvej hmotnosti (12-154 µg/g sušiny), 2-4 µg/g čerstvej hmotnosti (9-22 µg/g sušiny) a 4-9 µg/g čerstvej hmotnosti (6-70 µg/g sušiny). Priemerný obsah bielkoviny Cry1Ab stanovený v zrnách v štádiu zrelosti a počas senescencie boli ca. 1-2 µg/g čerstvej hmotnosti (2 µg/g sušiny). Vo všeobecnosti boli vyššie hladiny detekované počas mladších štádií vývoja. Obsah proteínu Cry1Ab klesal ako rastlina dosahovala plnú zrelosť a pletivá sa stávali senescentné.

PAT. Signifikantné hladiny proteínu PAT boli nájdené vo vzorkách z listov a kvetenstiev pripravených z kukurice Bt11. Nízky obsah PAT proteínu bol detekovaný v silk extraktoch a koncentrácia PAT proteínu v koreňoch, peľových zrnách a zrnách bola pod detekčným limitom stanovovacej metódy. Proteín PAT je prítomný v koncentráciách nižších než 0,000008 % čerstvej hmotnosti a 0,00016 % celkového obsahu bielkovín v zrne.

Kukurica MIR604

mCry3A. Kvantifikovateľný obsah proteínu mCry3A bol detekovaný vo všetkých pletivách rastlín kukurice MIR604. Počas všetkých rastových fáz priemerný obsah mCry3A v listoch, koreňoch a celých rastlinách dosahoval hodnoty ca. 3-23 µg/g čerstvej hmotnosti (4-94 µg/g sušiny), ca. 2-14 µg/g čerstvej hmotnosti (7-62 µg/g sušiny) a ca. 0,9-11 µg/g čerstvej hmotnosti (3-28 µg/g sušiny). Priemerný obsah mCry3A v zrnách kukurice MIR604 počas plnej zrelosti a senescencie dosahoval ca. 0,6-1,4 µg/g čerstvej hmotnosti (0,8-2,0 µg/g sušiny).

MIR604 PMI. Bielkovina PMI bola detekovaná vo väčšine pletív rastlín kukurice MIR604, aj keď v nízkych koncentráciách. Počas všetkých vývojových štádií rastliny sa priemerné obsahy bielkoviny PMI stanovené v listoch, koreňoch a celých rastlinách pohybovali od nedetekovateľného obdahu (ND) do ca. 0,4 µg/g čerstvej hmotnosti (ND-2,1 µg/g sušiny), menej ako kvantifikačný limit (LOQ) stanovovacej metódy (<0,03 µg/g čerstvej hmotnosti) až ca. 0,2 µg/g čerstvej hmotnosti (<0,1-1,0 µg/g sušiny) a menej ako LOQ (<0,02 µg/g čerstvej hmotnosti až ca. 0,3 µg/g čerstvej hmotnosti (<0,04-2 µg/g sušiny). Priemerné koncentrácie PMI stanovené v zrnách kukurice MIR604 počas zrelosti a senescencie rastliny sa pohybovali od menej LOQ (<0,06 µg/g čerstvej hmotnosti) do ca. 0,4 µg/g čerstvej hmotnosti (<0,07-0,5 µg/g sušiny).

Kukurica GA21

mEPSPS. Kvantifikovateľné koncentrácie mEPSPS bielkoviny boli detekované vo väčšine pletív rastlín kukurice GA21. Počas všetkých rastových fáz priemerné koncentrácie bielkoviny mEPSPS stanovené v listoch, koreňoch a celých rastlinách sa pohybovali od menej ako limit kvantifikácie (LOQ) (<0,2 µg/g čerstvej hmotnosti) do ca. 15 µg/g čerstvej hmotnosti (<0,4-71 µg/g sušiny). Priemerné koncentrácie mEPSPS stanovené v zrnách sa pohybovali od ca. 4-7 µg/g čerstvej hmotnosti (5-10 µg/g sušiny). Takáto konštitutívna expresia je očakávaná pri použití aktívneho promotora z ryže (Zhong *et al.*, 1996).

2.12.2 Zmeny expresie v závislosti na životnom cykle rastliny

Údaje expresii vloženého dedičného materiálu v závislosti od životného cyklu rastlín kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 sú uvedené v bode 2.12.1..

2.12.3 Stabilita expresie

Údaje o stabilite expresie vloženého dedičného materiálu v rastlinách kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 sú uvedené v bode 2.12.1.

Molekulárne analýzy ukázali, že inzerty boli stabilne integrované do rastlinného genómu v kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21. F₁ osivo kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je produkované konvenčným šľachtením zahŕňajúcim línie Bt11, MIR604 a GA21. Osivo hybridov Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 po vysiatí farmármi sa používa na produkciu zrna (F₂), ktoré je zberané pre použitie ako potrava, krmivo alebo pre priemyselné využitie. Toto zrno alebo produkty vstupujúce do komoditného reťazca sa neuchováva pre následný výsev.

2.12.4 Metódy použité pre charakterizáciu expresie

Rozsah expresie každej z bielkovín produkovaných v každej transgénej línii (Bt11, MIR604 a GA21) bol určený ELISA testom v rôznych pletivách rastlín a v celých rastlinách počas rôznych vývojových štádií (od vzhádzania po senescenciu). Výsledky analýz sú sumarizované vyššie (viď bod 2.12.1).

2.13 Údaje umožňujúce jednoznačnú identifikáciu geneticky modifikovanej vyššej rastliny

2.13.1 Popis časti zmenenej DNA

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčného kríženia. Preto obsahujú inzerty transgénov, ktoré zdedili od rodičovských transgénnych línií (Bt11, MIR604 a GA21) v súlade s klasickými Mendelovými zákonmi dedičnosti a miesta inzercie (lokusy) sú identické s miestami inzercie pri rodičovských líniách. Pri kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21 nedošlo ku klasickej zmene DNA, akou je napríklad mutácia, ale došlo k inzercii cudzorodej DNA. Expresia bielkovín kódovaných génmi na týchto inzertoch (Cry1Ab, PAT, mCry3A, PMI a mEPSPS) sa riadi použitými promótormi, a v závislosti od toho prebieha v celej rastline (konštitutívne promótor), t.j. vo všetkých bunkách kukurice, alebo preferenčne v určitých pletivách (pletivovo špecifické promótor).

Inzerty kukurice Bt11 a MIR604 sú prítomné v jednom lokuse a sú dedené ako jeden gén v súlade s Mendelovými zákonmi dedičnosti. Inzert v kukurici GA21 pozostáva zo šiestich susediacich oblastí odvodených z 3,9 kb *NotI* fragmentu z pDPG434 použitého na tvorbu GA21 (kópie 1-6). Kópia 1 obsahuje promótor aktínového génu z ryže, ktorý má na 5' konci deléciu 696 bp, prvý exón a intrón aktínového génu, sekvenciu pre optimalizovaný tranzitový peptid, gén *mepsps* a *nos* terminátor. Kópie 2, 3 a 4 sú intaktné verzie 3,49 kb *NotI* restričného fragmentu z pDPG434. Kópia 5 obsahuje úplný aktínový promótor, prvý exón a intrón aktínového génu, sekvenciu pre optimalizovaný tranzitový peptid a prvých 288 bp génu *mepsps*, ktorý je zakončený stop kodónom a neobsahuje *nos* terminátor. Kópia 6 obsahuje promótor aktínového génu a skrátený prvý exón aktínového génu; neobsahuje žiadne ďalšie elementy z plazmidu pDPG434.

Okrem sekvenovania DNA, Southernova analýza uskutočnená pri každej transgénej línii kukurice ukázala absenciu ďalších kópií inzertov alebo sekvencií vektora inde v genóme. Pre posúdenie integrity inzertov pri každej transgénej línii počas konvenčného šľachtenia hybridov Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli uskutočnené ďalšie Southernove hybridizácie. V kukuriciach Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli potvrdené

predikované vzory hybridizácie DNA z individuálnych transgénnych línií, demonštrujúc tým zachovanie integrity transgénnych fragmentov z každého individuálneho „eventu“ počas šľachtenia kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21.

2.13.2 Metódy detekcie a identifikácie geneticky modifikovanej vyššej rastliny a ich overená metodika

Sekvencie nukleotidov génov *cry1Ab*, *pat*, *mcry3A*, *pmi* a *mepsps* môžu byť detekované pomocou Southern blot analýzy. Metódou ELISA je možné identifikovať bielkoviny Cry1Ab, PAT, mCry3A, PMI a mEPSPS. Ako alternatívu je možné použiť biologické skúšky citlivosti cieľového hmyzu, alebo postrekovanie rastlín herbicídmi na báze glyfozátu.

Geneticky modifikované rastliny môžu byť identifikované rôznymi technikami:

- v rastlinnej explantátovej kultúre budú explantáty regenerovať na živných médiách obsahujúcich glyfozát alebo glufozinát amónny,
- PCR alebo genomický Southern blot môže byť použitý na dôkaz prítomnosti inkorporovanej DNA inzertu,
- analýza proteínov (Western blot analýza, alebo ELISA) môže byť použitá na detekciu expresie vnesených génov.

Spoločnosťou Syngenta boli vyvinuté metódy pre detekciu transgénov v rastlinách Bt11, MIR604 a GA21. Navrhované metódy využívajú metódu Real-time Quantitative TaqMan® PCR a sú založené na špecifickej detekcii genomickej DNA týchto transgénnych línií („eventov“). Metódy pre detekciu kukuríc MIR604 a GA21 boli validované DG JRC-CRL. Metóda na detekciu kukurice Bt11 bola poskytnutá DG JRC-CRL na validáciu. Okrem toho boli DG JRC-CRL poskytnuté aj informácie týkajúce sa aplikovateľnosti metód na detekciu jednotlivých rodičovských línií pri „stacked“ hybridných produktoch Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21⁴.

2.14 Správanie sa vložených génov

2.14.1 Pri hybridizácii s rovnakým druhom

Segregačné dáta vnesených vlastností (rezistencie k vijačke kukuričnej, kukuričiarovi koreňovému, tolerancie ku glufozinátu amónnemu a glyfozátu) ukazujú pri kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21 heritabilitu podľa Mendelových zákonov dedičnosti. To znamená, vložené gény sa pri hybridizácii týchto línií, a podľa predpokladu aj ich hybridov Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, s rovnakým druhom správajú rovnako ako ostatné gény kukurice.

2.14.2 Pri hybridizácii so vzdialenými druhmi

Je možné predpokladať, že správanie sa inzertov v kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21 ako aj ich hybridoch Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, pri hybridizácii so vzdialenými druhmi bude podobné ako pri hybridizácii v rámci rovnakého druhu. Kukurica v Európe nemá žiadne vzdialené príbuzné druhy, s ktorými by sa mohla krížiť.

⁴ Vid' <http://gmo-crl.jrc.it/>

2.15 Jednoznačné údaje o tom, v čom sa geneticky modifikované vyššie rastliny líšia od príjemcu alebo rodičovského organizmu

- spôsob a rýchlosť rozmnožovania
- šírenie v prostredí
- schopnosť prežiť
- účinky na zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie
- iné

Kukurica sa rozmnožuje pohlavne produkciou semien. Pretože zamýšľaným účinkom genetickej modifikácie je zvýšenie tolerance k hmyzu a herbicídum, nie je žiadny dôkaz alebo dôvod veriť, že predmetná genetická modifikácia ovplyvní spôsob rozmnožovania. Výsledky predchádzajúcich poľných experimentov uskutočnených s kukuricami Bt11, MIR604 a GA21 naznačujú, že geneticky modifikované línie kukurice sa nelíšia od recipientných rastlín v spôsobe a rýchlosti reprodukcie.

Najpravdepodobnejšími spôsobmi šírenia v prostredí kukurice je prostredníctvom semien a peľu. Kukurica je jednoročnou plodinou, ktorá nie je zásadne perzistentná ani v poľných podmienkach, ani vo voľnej prírode. Kukurica nie je schopná normálneho rastu bez asistencie človeka a nie je burinnou rastlinou práve z dôvodu jej domestikácie. Rozširovania rastlín kukurice prostredníctvom semien sa prirodzene nevyskytuje v dôsledku štruktúry šúľku. Kukurica v prirodzených podmienkach nie je invazívnym druhom. Nakoľko zamýšľaným účinkom genetickej modifikácie je zvýšenie tolerance k hmyzu a herbicídum, nie je žiadny dôkaz alebo dôvod veriť, že predmetná genetická modifikácia ovplyvní spôsob šírenia kukurice v prostredí. Výsledky predchádzajúcich poľných experimentov uskutočnených s kukuricami Bt11, MIR604 a GA21 naznačujú, že geneticky modifikované línie kukurice sa nelíšia od recipientných rastlín v spôsobe a rýchlosti reprodukcie. V prípadoch, kde by došlo k náhodnému úniku semien kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 spojeného s následným vzídením rastlín, možno tieto rastliny účinne likvidovať dostupnými selektívnymi herbicídmi (s výnimkou glyfosátu a/alebo glufosinátu amónneho) alebo mechanickou kultiváciou.

Kukurica je jednoročná rastlina. Jedinými štruktúrami prežitia a agensmi disperzie sú semená; nemôžu sa však rozširovať bez mechanického porušenia šúľku a vykazujú tiež nízku až žiadnu dormanciu. Výskyt prirodzenej regenerácie z vegetatívnych pletív nie je známy. Prežívanie kukurice je závislé na teplote, vlhkosti semien, genotype, ochrany šúľku a vývinovom štádiu rastliny. Kukurica nemôže pretrvávať ako burina. Semeno kukurice môže prežiť iba v úzkom rozsahu klimatických podmienok. Plané rastliny odumierajú v mraze, alebo sa ľahko kontrolujú súčasnými agronomickými praktikami vrátane kultivácie a použitia selektívnych herbicídov. Kukurica nie je schopná trvalej reprodukcie mimo poľnohospodárskeho pestovania a je neinvazívna v prirodzenom prostredí.

Rastliny geneticky modifikovaných línií Bt11, MIR604 a GA21 boli pestované do zrelosti v skleníkových podmienkach počas niekoľkých generácií. Rastliny kvitli normálne a produkovali semeno. Neexistuje žiadny dôkaz z predchádzajúcich poľných pokusov s kukuricami Bt11, MIR604 a GA21, ktoré by naznačovali, že predmetná genetická transformácia ovplyvnila schopnosť rastlín prežiť.

2.16 Fenotypová stabilita geneticky modifikovanej vyššej rastliny

Molekulárne analýzy ukázali, že inzerty boli stabilne integrované do rastlinného genómu v kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21. F₁ osivo kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21

a Bt11 × GA21 je produkované konvenčným šľachtením zahŕňajúcim línie Bt11, MIR604 a GA21. Osivo hybridov Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 po vysiatí farmármi sa používa na produkciu zrna (F₂), ktoré je zberané pre použitie ako potrava, krmivo alebo pre priemyselné využitie. Toto zrno alebo produkty vstupujúce do komoditného reťazca sa neuchováva pre následný výsev.

2.17 Akákoľvek zmena schopnosti geneticky modifikovanej vyššej rastliny prenášať genetický materiál na iné organizmy v dôsledku genetickej modifikácie

2.17.1 Prenos z rastliny do baktérie

Potenciálne možnou cestou disperzie dedičného materiálu medzi iné organizmy je transfer dedičného materiálu do pôdnych mikroorganizmov. V tejto oblasti bolo uskutočnených veľké množstvo štúdií a dodnes nie sú známe správy o prenose intaktných génov z transgénnych rastlín do pôdnych mikroorganizmov v prirodzených systémoch (O'Callaghan and Glare, 2001; Nielsen *et al.*, 1997).

Horizontálny transfer génov z GM rastlín do baktérií s následnou expresiou transgénov je považovaný za vysoko nepravdepodobnú udalosť v prirodzených podmienkach, zvlášť v prípade neprítomnosti selekčného tlaku. Nie sú očakávané žiadne zmeny v schopnosti kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a ich rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 prenášať genetický materiál do iných organizmov, v porovnaní s konvenčnou kukuricou, pretože do nich neboli vnesené žiadne sekvencie DNA, ktoré by výskyt tohto javu dovoľovali.

2.17.2 Prenos génov z rastliny na rastlinu

Genetické modifikácie v jednotlivých rodičovských líniách (Bt11, MIR604 a GA21) nemajú za cieľ zmeny v typických plodinových charakteristikách kukurice (s výnimkou rezistencie k hmyzím škodcom a tolerancie k herbicídum). Pozorovania z poľných pokusov potvrdili, že agronomické charakteristiky kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 a ich hybridov Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sa nezmenili v porovnaní s izogénnymi kontrolami, a preto nemajú znížený alebo zvýšený potenciál pre transfer génov z rastliny na rastlinu v porovnaní s tradičnou kukuricou. Transfer génov z hybridov Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do iných pohlavne kompatibilných rastlinných druhov nie je možný, nakoľko kukurica nemá divorastúcich príbuzných v EÚ, vrátane Slovenska.

Prenos genetického materiálu kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na ostatnú kukuricu nie je ovplyvnený genetickou modifikáciou. Kukurice Bt11, MIR604 a GA21 a ich hybridy Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 prenášajú svoj genetický materiál rovnako ako kukurica tradičná.

Potenciálnou cestou prenosu dedičného materiálu na iné organizmy je rozptyl peľu. Avšak, ako bolo diskutované vyššie, v Európe je toto pre kukuricu vysoko nepravdepodobné, pretože nie sú známe záznamy o pohlavne kompatibilných divorastúcich príbuzných kukurice pestovanej v tejto oblasti. Cudzoopelenie s konvenčnou kukuricou sa môže vyskytnúť, avšak usporiadanie a plán maloparcelkového pokusu zabezpečuje, že táto možnosť bude minimalizovaná.

Poľné pokusy sú plánované na experimentálne účely; žiadne produkty z týchto poľných pokusov nebudú použité ako krmivo pre živočíchov alebo potrava pre ľudí. Potenciálny prenos vnesených vlastností preto nie je spojený so žiadnym významným rizikom. Hodnotenie rizika kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, vzhľadom k prenosu

vnesených vlastností z rastliny na rastlinu, vyhodnocuje riziko možného negatívneho účinku ako zanedbateľné.

2.18 Informácie o každom možnom škodlivom účinku geneticky modifikovanej vyššej rastliny na zdravie ľudí spôsobenom genetickou modifikáciou

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčného kríženia. Vlastnosti exprimované v rastlinách kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 nie sú odlišné od vlastností vnesených do kukuríc Bt11, MIR604 a GA21. Vzhľadom na to, že zamýšľané účinky genetickej transformácie boli rezistencia k hmyzím škodcom a tolerancia k herbicídum, nie je dôvod predpokladať, že genetická modifikácia týchto rastlín alebo produkcia multitransgénneho produktu („stacked product“) použitím tradičného šľachtenia má za následok akékoľvek alergénne alebo škodlivé vplyvy na ľudské zdravie či životné prostredie. Žiadny z exprimovaných bielkovín v rastlinách kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 nie je známy ako toxický alebo alergénny pre ľudí alebo zvieratá, a nie sú známe predchádzajúce prípady, kde interakcie medzi netoxickými bielkovinami by viedli k toxickým účinkom (FIFRA SAP, 2004). Navyše, žiadne produkty z poľných pokusov nebudú použité ako potrava pre ľudí alebo krmivo pre zvieratá.

Súhrn hodnotenia možných škodlivých účinkov geneticky modifikovaných rastlín individuálny transgénnych línií na zdravie ľudí spôsobených genetickou modifikáciou je prezentovaný nižšie.

Kukurica Bt11

Kukurica Bt11 exprimuje gény *cryAb* a *pat*, odvodené z *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* a *Streptomyces viridochromogenes*, ktoré zabezpečujú rezistenciu k hmyzu a toleranciu k herbicídu. Tieto gény sú pod kontrolou regulačných elementov z kukurice, vírusu mozaiky karfiolu a *Agrobacterium tumefaciens*, ktoré sú všeobecne rozšírené v prírode. Žiadny z komponentov vnesených do kukurice Bt11 sa nepovažuje za nebezpečný pre ľudské zdravie alebo životné prostredie. Údaje zhromaždené dodnes ukázali, že:

- recipientný organizmus, kukurica, má dlhú históriu bezpečného používania na celom svete,
- žiadny z použitých sekvencií génov alebo ich donorov nie je známy ako patogénny pre človeka, a žiadne patogénne sekvencie neboli introdukované,
- bielkoviny CryAb a PAT sú všeobecne rozšírené v prírode a preto sa prirodzene vyskytujú v potrave získanej z rastlinných alebo mikrobiálnych zdrojov,
- bielkoviny Cry1Ab a PAT sú exprimované v rastlinách v nízkych koncentráciách,
- bielkoviny Cry1Ab a PAT nemajú významné homológie aminokyselín k známym cicavčím bielkovinovým toxínom alebo alergénom a sú rýchlo rozkladané v *in vitro* tráviacich testoch,
- výsledky štúdií porovnávajúcich zloženie rastlín kukurice Bt11 a netransgénnych rastlín kukurice vedú k záveru, že táto kukurica je podstatne ekvivalentná ku konvenčnej kukurici,
- výsledky štúdií porovnávajúcich agronomické charakteristiky kukurice Bt11 a netransgénnych rastlín kukurice vedú k záveru, že táto kukurica je podstatne ekvivalentná ku konvenčnej kukurici.

Kukurica MIR604

Kukurica MIR604 exprimuje dve bielkoviny: bielkovinu mCry3A, ktorá vyvoláva rezistenciu ku kukuričiaru koreňovému a iným príbuzným hmyzím škodcom kukurice z radu *Coleoptera*, a bielkovinu PMI (MIR604 PMI), enzým, ktorý umožňuje transformovaným bunkám kukurice utilizovať mannózu ako zdroj uhlíka, a ktorý slúži ako selekčný marker. Žiadny z komponentov introdukovaných do kukurice MIR604 nie je považovaný za nebezpečný pre ľudské zdravie alebo pre životné prostredie. Údaje zhromaždené dodnes ukázali, že:

- recipientný organizmus, kukurica, má dlhú históriu bezpečného používania na celom svete,
- žiadny z použitých sekvencií génov alebo ich donorov nie je známy ako patogénny pre človeka, a žiadne patogénne sekvencie neboli introdukované,
- bielkoviny Cry3A a MIR604 PMI sú exprimované v rastlinách v nízkych koncentráciách,
- bielkoviny Cry3A a MIR604 PMI nemajú významné homológie aminokyselín k známym cicavčím bielkovinovým toxínom,
- bielkovina Cry3A nemá významné homológie aminokyselín k známym cicavčím alergénom a je rýchlo rozkladaná v *in vitro* tráviacich testoch,
- je nepravdepodobné aby bielkovina MIR604 PMI mala alergénne účinky,
- bielkoviny Cry3A a MIR604 PMI nevykazujú žiadnu akútnu orálnu toxicitu v cicavčích štúdiách,
- výsledky štúdií porovnávajúcich zloženie rastlín kukurice MIR604 a netransgénnych rastlín kukurice vedú k záveru, že táto kukurica je podstatne ekvivalentná ku konvenčnej kukurici,
- výsledky štúdií porovnávajúcich agronomické charakteristiky kukurice MIR604 a netransgénnych rastlín kukurice vedú k záveru, že táto kukurica je podstatne ekvivalentná ku konvenčnej kukurici.

Kukurica GA21

Kukurica GA21 exprimuje gén *mepsps*, odvodený z kukurice, ktorý zabezpečuje toleranciu k herbicídum obsahujúcim glyfozát. Gén *mepsps* je pod kontrolou regulačných elementov z ryže, slnečnice a *Agrobacterium tumefaciens*, ktoré sú všeobecne rozšírené v prírode. Žiadny z komponentov introdukovaných do kukurice GA21 nie je považovaný za nebezpečný pre ľudské zdravie alebo pre životné prostredie. Údaje zhromaždené dodnes ukázali, že:

- recipientný organizmus, kukurica, má dlhú históriu bezpečného používania na celom svete,
- žiadny z použitých sekvencií génov alebo ich donorov nie je známy ako patogénny pre človeka, a žiadne patogénne sekvencie neboli introdukované,
- bielkovina mEPSPS pochádza z kukurice (*Zea mays*) a je na 99,3 % homologická s natívnou bielkovinou EPSPS z kukurice; bielkoviny EPSPS sú všeobecne rozšírené v prírode a sú prirodzene prítomné v potrave získanej z rastlinných alebo mikrobiálnych zdrojov,
- bielkovina mEPSPS je exprimovaná v rastlinách v nízkych koncentráciách,
- bielkovina mEPSPS nevykazuje žiadnu akútnu orálnu toxicitu v cicavčích testoch,

- bielkovina mEPSPS nemá signifikantné homológie aminokyselín k známym cicavčím bielkovinovým toxínom alebo alergénom a je rýchlo rozkladaná v *in vitro* tráviacich testoch,

- výsledky štúdií porovnávajúcich zloženie rastlín kukurice GA21 a netransgénnych rastlín kukurice vedú k záveru, že táto kukurica je podstatne ekvivalentná ku konvenčnej kukurici,

- výsledky štúdií porovnávajúcich agronomické charakteristiky kukurice GA21 a netransgénnych rastlín kukurice neukazujú žiadne konzistentné trendy v údajoch z rôznych lokalít alebo hybridov, ktoré by mohli naznačovať rozdiely v dôsledku genetickej modifikácie. Všetky tieto štúdie vedú k záveru, že táto kukurica je podstatne ekvivalentná ku konvenčnej kukurici.

Geneticky modifikované kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 nebudú použité ako potrava alebo zdroj potravy. Vyprodukované zrnó, alebo iné časti rastlín, budú po ukončení pokusov a analýz zlikvidované. Záverom je možné konštatovať, že o žiadnych nepriaznivých účinkoch na ľudské zdravie alebo životné prostredie ako výsledok genetickej modifikácie sa z hore uvedených dôvodov neuvažuje.

2.19 Údaje o bezpečnosti genetickej modifikovanej vyššej rastliny pre zdravie zvierat najmä s ohľadom na akékoľvek škodlivé účinky spôsobené genetickej modifikáciou, pokiaľ má byť geneticky modifikovaná vyššia rastlina použitá ako krmivo

Zdravotná nezávadnosť kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a ich exprimovaných proteínov Cry1Ab, PAT, mCry3A, PMI a mEPSPS voči zvieratám je opísaná v predchádzajúcom bode 2.18.

Geneticky modifikované kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 nebudú použité ako bežné krmivo. Vyprodukované zrnó, alebo iné časti rastlín, budú po ukončení pokusov a analýz zlikvidované.

2.20 Mechanizmus interakcie medzi genetickej modifikovanou vyššou rastlinou a cieľovým organizmom, pokiaľ cieľový organizmus existuje

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčného kríženia. Preto tieto rastliny produkujú transgénne bielkoviny prítomné v kukuriciach Bt11, MIR604 a GA21, t.j. Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS.

Kukurica Bt11

Skrátená forma bielkoviny Cry1Ab účinkuje na určitých škodcov kukurice z radu *Lepidoptera*, napr. *Ostrinia nubilalis* (vijačka kukuričná) a *Sesamia nonagrioides* (Mediterranean corn borer). Bielkovina fosfotricín acetyltransferáza (PAT) zabezpečuje toleranciu k herbicídum obsahujúcim glufosinát amónny.

Kukurica MIR604

Modifikovaný proteín Cry3A (mCry3A) účinkuje na určitých škodcov kukurice z radu *Coleoptera*, napr. *Diabrotica virgifera virgifera* (kukuriciar koreňový), ktorý je v súčasnosti introdukovaným a rýchlo sa rozširujúcim škodcom kukurice v Európe. Enzým izomeráza fosfomannózy (MIR604 PMI) je selekčný marker. PMI umožňuje transformovaným bunkám kukurice využívať mannózu ako jediný primárny zdroj uhlíka v *in vitro* kultúre, zatiaľ čo bunky neobsahujúce tento enzým v týchto podmienkach prestávajú rásť.

Kukurica GA21

Modifikovaný enzým 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntáza (mEPSPS) zabezpečuje toleranciu k herbicídum obsahujúcim glyfozát.

Bielkovina Cry1Ab zabezpečuje ochranu proti určitým škodlivým druhom hmyzu z radu *Lepidoptera* a modifikovaná bielkovina Cry3A (mCry3A) zabezpečuje ochranu pred škodcami z radu *Coleoptera*. Pri ďalších bielkovinách exprimovaných v hybridoch kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, t.j. PAT, MIR604 PMI a mEPSPS nie sú známe nepriaznivé účinky na živé organizmy. Mechanizmus interakcie medzi kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľovými organizmami by mal preto byť rovnaký ako medzi samostatnými GM líniami Bt11, MIR604 a GA21 a cieľovými organizmami. Navyše interakcie medzi kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľovými organizmami ako dôsledok navrhovaných poľných experimentov budú obmedzené priestorovo (v dôsledku malých rozmerov parcel) ako aj časovo (experimenty budú uskutočnené v obmedzenej časovej perióde), a preto je vysoko nepravdepodobné, že tieto experimenty by mohli viesť k nepriaznivým účinkom na životné prostredie.

Záverom je možné konštatovať, že interakcie medzi kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľovými organizmami budú pravdepodobne obmedzené v dôsledku rozmerov a trvania uvoľňovania GMVR do životného prostredia. Neočakávajú sa žiadne bezprostredné a/alebo oneskorené environmentálne dopady ako výsledok priamych alebo nepriamych interakcií medzi rastlinami kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a cieľovými organizmami.

2.21 Možné zmeny v interakciách geneticky modifikovanej vyššej rastliny s necieľovými organizmami plynúce z genetickej modifikácie

Kukurica interaguje s radom organizmov životného prostredia akými sú mikroorganizmy, rad bezstavovcov či ďalších zvierat. Je známe, že kukuricu napadá celý rad hubových chorôb a škodcov, voči ktorým je tradične ošetrovaná prípravkami na ochranu rastlín. Pretože je kukurica kvalitným zdrojom výživy, bývajú interakcie zo stavovcami veľmi intenzívne, vrátane vtákov a cicavcov vyskytujúcich sa v mieste pestovania.

Ako je diskutované vyššie, kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčných šľachtiteľských krížení. Preto rastliny týchto kukuríc produkujú proteíny prítomné v rodičovských líniiach Bt11, MIR604 a GA21, t.j. bielkoviny Cry1Ab, PAT, mCry3A, MIR604 PMI a mEPSPS.

Bielkovina Cry1Ab zabezpečuje rezistenciu k určitým škodcom kukurice z radu *Lepidoptera* a je známa svojou špecificitou pre hmyz z radu *Lepidoptera* (van Frankenhuyzen and Nystrom, 2002). Modifikovaná bielkovina Cry3A (mCry3A) zabezpečuje ochranu rastlín kukurice pred určitými škodcami z radu *Coleoptera*, ako napr. kukuričiar koreňový, a je veľmi špecifický pre určité druhy radu *Coleoptera* (van Frankenhuyzen and Nystrom, 2002). U žiadneho z týchto proteínov sa neočakávajú vplyvy na iné organizmy než druhy príbuzné cieľovým organizmom. Interakcie medzi Cry1Ab a mCry3A, ktoré by mohli viesť k zvýšenej toxicite pre cieľové organizmy sa tiež neočakávajú a nie sú známe ani žiadne predchádzajúce prípady, kde interakcie medzi netoxickými bielkovinami by viedli k toxickým účinkom (FIFRA SAP, 2004).

Pri ďalších bielkovinách exprimovaných v kukuriciach Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, t.j. PAT, PMI a mEPSPS nie sú známe žiadne nepriaznivé účinky na živé

organizmy. Navyše interakcie medzi kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a necieľovými organizmami ako dôsledok navrhovaných poľných experimentov budú obmedzené priestorovo (v dôsledku malých rozmerov parcel) ako aj časovo (experimenty budú uskutočnené v obmedzenej časovej perióde), a preto je vysoko nepravdepodobné, že tieto experimenty by mohli viesť k nepriaznivým účinkom na životné prostredie.

Záverom je možné konštatovať, že interakcie medzi kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a necieľovými organizmami budú s najväčšou pravdepodobnosťou obmedzené v dôsledku rozmerov a trvania uvoľňovania GMVR do životného prostredia. Neočakávajú sa preto žiadne bezprostredné a/alebo oneskorené environmentálne dopady ako dôsledok priamych alebo nepriamych interakcií medzi rastlinami kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 a necieľovými organizmami.

2.22 Možné interakcie genetiky modifikovanej vyššej rastliny s neživými zložkami životného prostredia

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 boli produkované kombináciou kukuríc Bt11, MIR604 a GA21 prostredníctvom konvenčných šľachtiteľských krížení. Tieto kombinované („stacked“) produkty sú preto odolné voči určitým hmyzím druhom z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera* a tolerantné k herbicídum obsahujúcim glyfozát alebo glufozinát amónny. Potenciálne interakcie týchto multitransgénnych produktov s neživými zložkami životného prostredia budú preto rovnaké ako interakcie rodičovských línií Bt11, MIR604 a GA21. Žiadne účinky na biogeochemické procesy ako dôsledok pestovania týchto GMVR sa preto neočakávajú. Navyše tieto GM odrody boli pestované pre výskumné alebo komerčné účely v USA a Argentíne pričom nikdy neboli zaznamenané žiadne nepriaznivé vplyvy na životné prostredie.

3. Údaje o množstve genetiky modifikovaných vyšších rastlín, ktoré majú byť použité, a o celkovej rozlohe pozemkov

3.1 Približné množstvo genetiky modifikovaných vyšších rastlín, ktoré má byť zavedené do životného prostredia

Celková plocha na jednu lokalitu nepresiahne 5 000 m², vrátane GM kukurice + konvenčnej kukurice. Na každom mieste uvoľnenia do životného prostredia bude hustota rastlín rovnaká ako pri použití miestnych agrotechnických postupov pre konvenčnú kukuricu a hustota rastlín bude okolo 7 - 8 rastlín/m².

Odhadovaný počet GM rastlín nebude viac ako 30 000 GM rastlín na lokalitu.

Predpokladaný a plánovaný počet lokalít Slovenského centra poľnohospodárskeho výskumu, Výskumného ústavu rastlinnej výroby (VÚRV) je päť (Borovce, Špačince, Sokolce, Tekovské Lužany a Milhostov). Detailné informácie o lokalitách sú uvedené v bode 4 tejto žiadosti. Približný celkový počet rastlín GM kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na všetkých piatich lokalitách bude max. 150 000 rastlín.

3.2 Celková rozloha plochy, na ktorých majú byť genetiky modifikované vyššie rastliny pestované

Rozloha plochy pokusných parciel, na ktorých majú byť pestované rastliny kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je odhadovaná na:

2 880 m² až 5 000 m² na jednu lokalitu.

Predpokladaný a plánovaný počet lokalít Slovenského centra poľnohospodárskeho výskumu, Výskumného ústavu rastlinnej výroby (VÚRV) je päť (Borovce, Špačince, Sokolce, Tekovské Lužany a Milhostov). Detailné informácie o lokalitách sú uvedené v bode 4 tejto žiadosti. Celková približná rozloha plochy všetkých piatich lokalít dohromady, na ktorých majú byť pestované rastliny GM kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je max. 45000 m². Táto odhadovaná celková plocha zahŕňa ako vlastnú plochu parciel, tak aj neosiatu plochu v bezprostrednej blízkosti parciel (cesty medzi opakovaniami, cesty okolo pokusu) a plochu ochranného obsevu, ktorý je tvorený minimálne ôsmimi riadkami ne-GM kukurice.

4. Pracoviská a pozemky, na ktorých bude zavádzanie do životného prostredia prebiehať

Havarijný plán podľa § 16 zákona (zhrnutie obsahu)

Žiadateľ, Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu – Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, ktorý bude zodpovedať za vlastnú realizáciu pokusov, plánuje zavádzanie GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia v spolupráci so spoločnosťou Syngenta, ktorá bude nakladať s predmetným GMO len v režime dovozu, distribúcie, eventuálne vývozu GM semien (pre analýzy).

Havarijný plán vypracovaný SCPV – VÚRV Piešťany je len pre nakladanie spojené s pestovaním geneticky modifikovaných rastlín GM kukurice a nie pre zabezpečenie prepravy (dovozu, distribúcie, eventuálne vývozu GM semien pre analýzy) GM kukurice. Havarijný plán pre zabezpečenie prepravy (dovozu, distribúcie, eventuálne vývozu GM semien pre analýzy) GM materiálu predkladá spoločnosť Syngenta v osobitnej žiadosti.

Havarijný plán vzťahujúci sa na všetky aktivity spojené s pestovaním GM kukurice predkladaný ministerstvu v rámci tejto žiadosti SCPV -VÚRV Piešťany obsahuje možný opis havárie, tj. únik osiva (zrna) v priebehu transportu a techniky likvidácie tejto havárie. Tiež obsahuje povinnosť informovať príslušné orgány o vzniku tejto havárie. Havarijný plán obsahuje tiež možný opis havárie počas pestovania a techniky likvidácie tejto havárie. Taktiež obsahuje povinnosť informovať príslušné orgány o vzniku tejto havárie. Havarijné plány pre jednotlivé lokality sú samostatnými prílohami tejto žiadosti.

Je plánované, že zavádzanie do životného prostredia bude prebiehať na pozemkoch zabezpečovaných SCPV - VÚRV a to na týchto lokalitách::

- Borovce
- Špačince
- Sokolce
- Tekovské Lužany
- Milhostov

Informácie o umiestnení pozemkov, ako aj opisy ekosystémov jednotlivých lokalít sú súčasťou tejto žiadosti.

Vplyv geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na uznané biotopy alebo chránené územia nie je odlišný od vplyvu či pôsobenia geneticky nemodifikovanej kukurice na tieto územia.

4.1 Lokalita Borovce

4.1.1. Opis umiestnenia a rozsahu zavedenia

VÚC - Trnavský

Obec - Borovce

Názov katastrálneho územia a číslo parcely – Borovce, 299/24 (Príloha č. 1).

Identifikačné číslo pôdneho bloku, prípadne časti pôdneho bloku, ak je pozemok predmetom evidencie využitia poľnohospodárskej pôdy podľa zvláštneho právneho predpisu – 299/24.

Veľkosť plochy (m²) pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny na pozemku – Rozloha plochy pokusných parcel, na ktorých majú byť pestované rastliny kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je odhadovaná na 2. 880 m² až 5. 000 m² na jednu lokalitu. Celková rozloha plochy, tj., pokusných parcel, vrátane ciest medzi opakovaniami, ciest medzi parcelami a obsevom, bez ochranného obsevu je odhadovaná na 8. 250 m² až 45000 m² na jednu lokalitu.

Veľkosť (m²) a spôsob využitia izolačného pásma okolo plochy pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny (vyznačiť v plániku) - Minimálne 8 riadkov = 5,6 m okolo celého pokusu. Obsev bude zničený pred, alebo tesne po zbere pokusu zadiskovaním do pôdy alebo iba zadiskovaním podľa aktuálnych vlhových podmienok.

Minimálna izolačná vzdialenosť porastu geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 od porastov kukurice pestovaných konvenčným spôsobom je 200 m a od porastov pestovaných ekologickým spôsobom hospodárenia 300 m. Pri použití plodínovej bariéry jeden rad nemodifikovanej kukurice nahrádza dva metre izolačnej vzdialenosti.

4.1.2. Opis ekosystému a miesta zavádzania vrátane opisu podnebia, rastlinstva a živočíšstva

Typ pôdy – hlinitá degradovaná černoziem na spraši

Klimatické podmienky – kukuričná výrobná oblasť, klimatický región KT 2 (veľmi teplý a mierne suchý)

Flóra vrátane poľnohospodárskych plodín – kultúrne plodiny pestované na ornej pôde, krovinaté spoločenstvá bylín a drevín

Fauna vrátane hospodárskych a migrujúcich zvierat – hovädzí dobytok (farma), srnčia a bažantia zver, zajace

4.1.3. Údaje o prítomnosti pohlavne zlučiteľných voľne žijúcich príbuzných, alebo kultivovaných rastlinných druhoch

Žiadny voľne žijúci ani kultivovaný príbuzný druh kukurice sa v pokusnej lokalite ani v Európe nevyskytuje. Nemôže preto dochádzať k výmene génov so žiadnym voľne žijúcim ani kultivovaným druhom.

4.1.4. Údaje o príbuzenstve vo vzťahu k uznaným biotopom a chráneným oblastiam, ktoré by mohli zavedené geneticky modifikované rastliny ovplyvniť

Vplyv geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na uznané biotopy alebo chránené územia nie je odlišný od vplyvu či pôsobenia geneticky nemodifikovanej kukurice na tieto územia.

4.2.1. Lokalita Špačince

4.2.1.1. Opis umiestnenia a rozsahu zavedenia

VÚC - Trnavský

Obec - Špačince

Názov katastrálneho územia a číslo parcely – Špačince, 505/1 (Príloha č. 2)

Identifikačné číslo pôdneho bloku a prípadne časti pôdneho bloku, ak je pozemok predmetom evidencie využitia poľnohospodárskej pôdy podľa zvláštneho právneho predpisu – 505/1.

Veľkosť plochy (m²) pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny na pozemku – Rozloha plochy pokusných parcel, na ktorých majú byť pestované rastliny kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je odhadovaná na 2. 880 m² až 5. 000 m² na jednu lokalitu. Celková rozloha plochy, tj., pokusných parcel, vrátane ciest medzi opakovaniami, ciest medzi parcelami a obsevom, bez ochranného obsevu je odhadovaná na 8. 250 m² až 45000 m² na jednu lokalitu.

Veľkosť (m²) a spôsob využitia izolačného pásma okolo plochy pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny (vyznačiť v pláne) - Minimálne 8 riadkov = 5,6 m okolo celého pokusu. Obsev bude zničený pred, alebo tesne po zbere pokusu zadiskovaním do pôdy alebo iba zadiskovaním podľa aktuálnych vlhových podmienok.

Minimálna izolačná vzdialenosť porastu geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 od porastov kukurice pestovaných konvenčným spôsobom je 200 m a od porastov pestovaných ekologickým spôsobom hospodárenia 300 m. Pri použití plodínovej bariéry jeden rad nemodifikovanej kukurice nahrádza dva metre izolačnej vzdialenosti.

4.2.2. Opis ekosystému a miesta zavádzania vrátane opisu podnebia, rastlinstva a živočíšstva

Typ pôdy – hlinitá degradovaná černoziem na spraši

Klimatické podmienky – kukuričná výrobná oblasť, klimatický región KT 2 (veľmi teplý a mierne suchý)

Flóra vrátane poľnohospodárskych plodín – kultúrne plodiny pestované na ornej pôde, krovinaté spoločenstvá bylín a drevín.

Fauna vrátane hospodárskych a migrujúcich zvierat – hovädzí dobytok (farma), srnčia a bažantia zver, zajace.

4.2.3. Údaje o prítomnosti pohlavne zlučiteľných voľne žijúcich príbuzných, alebo kultivovaných rastlinných druhoch

Žiadny voľne žijúci ani kultivovaný príbuzný druh kukurice sa v pokusnej lokalite ani v Európe nevyskytuje. Nemôže preto dochádzať k výmene génov so žiadnym voľne žijúcim ani kultivovaným druhom.

4.2.4. Údaje o príbuzenstve vo vzťahu k uznaným biotopom a chráneným oblastiam, ktoré by mohli zavedené geneticky modifikované rastliny ovplyvniť

Vplyv geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na uznané biotopy alebo chránené územia nie je odlišný od vplyvu či pôsobenia geneticky nemodifikovanej kukurice na tieto územia.

4.3.1. Lokalita Sokolce

4.3.1.1. Opis umiestnenia a rozsahu zavedenia

VÚC - Nitriansky

Obec - Sokolce

Názov katastrálneho územia a číslo parcely – Čičov, 1619 (Príloha č. 3).

Identifikačné číslo pôdneho bloku a prípadne časti pôdneho bloku, ak je pozemok predmetom evidencie využitia poľnohospodárskej pôdy podľa zvláštneho právneho predpisu – Čičov, 1619.

Veľkosť plochy (m²) pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny na pozemku – Rozloha plochy pokusných parcel, na ktorých majú byť pestované rastliny kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je odhadovaná na 2. 880 m² až 5. 000 m² na jednu lokalitu. Celková rozloha plochy, tj., pokusných parcel, vrátane ciest medzi opakovaniami, ciest medzi parcelami a obsevom, bez ochranného obsevu je odhadovaná na 8. 250 m² až 45000 m² na jednu lokalitu.

Veľkosť (m²) a spôsob využitia izolačného pásma okolo plochy pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny (vyznačiť v plánu) - Minimálne 8 riadkov = 5,6 m okolo celého pokusu. Obsev bude zničený pred, alebo tesne po zbere pokusu zadiskovaním do pôdy alebo iba zadiskovaním podľa aktuálnych vlhových podmienok.

Minimálna izolačná vzdialenosť porastu geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 od porastov kukurice pestovaných konvenčným spôsobom je 200 m a od porastov pestovaných ekologickým spôsobom hospodárenia 300 m. Pri použití plodnovej bariéry jeden rad nemodifikovanej kukurice nahrádza dva metre izolačnej vzdialenosti.

4.3.2. Opis ekosystému a miesta zavádzania vrátane opisu podnebia, rastlinstva a živočíšstva

Typ pôdy – čiernice karbonátové

Klimatické podmienky – kukuričná výrobná oblasť, klimatický región KT 1 (veľmi teplý a suchý).

Flóra vrátane poľnohospodárskych plodín – kultúrne plodiny pestované na ornej pôde, krovinaté spoločenstvá bylín a drevín.

Fauna vrátane hospodárskych a migrujúcich zvierat – hovädzí dobytok, srnčia a bažantia zver, zajace.

4.3.3. Údaje o prítomnosti pohlavne zlučiteľných voľne žijúcich príbuzných, alebo kultivovaných rastlinných druhoch

Žiadny voľne žijúci ani kultivovaný príbuzný druh kukurice sa v pokusnej lokalite ani v Európe nevyskytuje. Nemôže preto dochádzať k výmene génov so žiadnym voľne žijúcim ani kultivovaným druhom.

4.3.4. Údaje o príbuzenstve vo vzťahu k uznaným biotopom a chráneným oblastiam, ktoré by mohli zavedené geneticky modifikované rastliny ovplyvniť

Vplyv geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na uznané biotopy alebo chránené územia nie je odlišný od vplyvu či pôsobenia geneticky nemodifikovanej kukurice na tieto územia.

4.4.1. Lokalita Tekovské Lužany

4.4.1.1. Opis umiestnenia a rozsahu zavedenia

VÚC - Nitriansky

Obec – Tekovské Lužany

Názov katastrálneho územia a číslo parcely – Ondrejovce, 973 (Príloha č. 4).

Identifikačné číslo pôdneho bloku a prípadne časti pôdneho bloku, ak je pozemok predmetom evidencie využitia poľnohospodárskej pôdy podľa zvláštneho právneho predpisu – 973.

Veľkosť plochy (m²) pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny na pozemku – Rozloha plochy pokusných parcel, na ktorých majú byť pestované rastliny kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je odhadovaná na 2. 880 m² až 5. 000 m² na jednu lokalitu. Celková rozloha plochy, tj., pokusných parcel, vrátane ciest medzi opakovaniami,

ciest medzi parcelami a obsevom, bez ochranného obsevu je odhadovaná na 8. 250 m² až 45000 m² na jednu lokalitu.

Veľkosť (m²) a spôsob využitia izolačného pásma okolo plochy pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny (vyznačiť v plánu) - Minimálne 8 riadkov = 5,6 m okolo celého pokusu. Obsev bude zničený pred, alebo tesne po zbere pokusu zadiskovaním do pôdy alebo iba zadiskovaním podľa aktuálnych vlhových podmienok.

Minimálna izolačná vzdialenosť porastu geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 od porastov kukurice pestovaných konvenčným spôsobom je 200 m a od porastov pestovaných ekologickým spôsobom hospodárenia 300 m. Pri použití plodnovej bariéry jeden rad nemodifikovanej kukurice nahrádza dva metre izolačnej vzdialenosti.

4.4.2. Opis ekosystému a miesta zavádzania vrátane opisu podnebia, rastlinstva a živočíšstva

Typ pôdy – černozem, čiernica

Klimatické podmienky – kukuričná výrobná oblasť, klimatický región KT 1 (veľmi teplý a suchý).

Flóra vrátane poľnohospodárskych plodín – kultúrne plodiny pestované na ornej pôde, krovinaté spoločenstvá bylín a drevín.

Fauna vrátane hospodárskych a migrujúcich zvierat – hovädzí dobytok, srnčia a bažantia zver, zajace.

4.4.3. Údaje o prítomnosti pohlavne zlučiteľných voľne žijúcich príbuzných, alebo kultivovaných rastlinných druhoch

Žiadny voľne žijúci ani kultivovaný príbuzný druh kukurice sa v pokusnej lokalite ani v Európe nevyskytuje. Nemôže preto dochádzať k výmene génov so žiadnym voľne žijúcim ani kultivovaným druhom.

4.4.4. Údaje o príbuzenstve vo vzťahu k uznaným biotopom a chráneným oblastiam, ktoré by mohli zavedené geneticky modifikované rastliny ovplyvniť

Vplyv geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na uznané biotopy alebo chránené územia nie je odlišný od vplyvu či pôsobenia geneticky nemodifikovanej kukurice na tieto územia.

4.5.1. Lokalita Milhostov

4.5.1.1. Opis umiestnenia a rozsahu zavedenia

VÚC - Košický

Obec - Milhostov

Názov katastrálneho územia a číslo parcely – Milhostov, 1132/1 (Príloha č. 5)

Identifikačné číslo pôdneho bloku a prípadne časti pôdneho bloku, ak je pozemok predmetom evidencie využitia poľnohospodárskej pôdy podľa zvláštneho právneho predpisu – 1132/1.

Veľkosť plochy (m²) pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny na pozemku – Rozloha plochy pokusných parcel, na ktorých majú byť pestované rastliny kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 je odhadovaná na 2. 880 m² až 5. 000 m² na jednu lokalitu. Celková rozloha plochy, tj., pokusných parcel, vrátane ciest medzi opakovaniami, ciest medzi parcelami a obsevom, bez ochranného obsevu je odhadovaná na 8. 250 m² až 45000 m² na jednu lokalitu.

Veľkosť (m²) a spôsob využitia izolačného pásma okolo plochy pestovania geneticky modifikovanej vyššej rastliny (vyznačiť v plánu) - Minimálne 8 riadkov = 5,6 m okolo

celého pokusu. Obsev bude zničený pred, alebo tesne po zbere pokusu zadiskovaním do pôdy alebo iba zadiskovaním podľa aktuálnych vlhových podmienok.

Minimálna izolačná vzdialenosť porastu geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 od porastov kukurice pestovaných konvenčným spôsobom je 200 m a od porastov pestovaných ekologickým spôsobom hospodárenia 300 m. Pri použití plodinovej bariéry jeden rad nemodifikovanej kukurice nahrádza dva metre izolačnej vzdialenosti.

4.5.2. Opis ekosystému a miesta zavádzania vrátane opisu podnebia, rastlinstva a živočíšstva

Typ pôdy – fluvizem glejová

Klimatické podmienky – región teplý - veľmi suchý

Flóra vrátane poľnohospodárskych plodín – kultúrna step

Fauna vrátane hospodárskych a migrujúcich zvierat – hovädzí dobytok, zajace, bažanti, srny, jarabice, prepelice

4.5.3. Údaje o prítomnosti pohlavne zlučiteľných voľne žijúcich príbuzných, alebo kultivovaných rastlinných druhoch

Žiadny voľne žijúci ani kultivovaný príbuzný druh kukurice sa v pokusnej lokalite ani v Európe nevyskytuje. Nemôže preto dochádzať k výmene génov so žiadnym voľne žijúcim ani kultivovaným druhom.

4.5.4. Údaje o príbuzenstve vo vzťahu k uznaným biotopom a chráneným oblastiam, ktoré by mohli zavedené geneticky modifikované rastliny ovplyvniť

Vplyv geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na uznané biotopy alebo chránené územia nie je odlišný od vplyvu či pôsobenia geneticky nemodifikovanej kukurice na tieto územia.

4.6 Účel zavádzania do životného prostredia (vrátane všetkých relevantných informácií dostupných v tejto fáze), ako napríklad agronomické účely, skúšky hybridizácie, zmena schopnosti prežitia alebo šírenia, zisťovanie účinkov na cieľové alebo necieľové organizmy

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií týkajúcich sa agronomickej výkonnosti uvedených GM kukuríc a ich odolnosti k určitým druhom hmyzích škodcov z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera* a tolerancie k herbicídom obsahujúcim glyfozát, a/alebo glufozinát amónny. Realizácia poľných štúdií s geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 bude vykonaná na základe úlohy: „Poľné pokusy s kukuricami spoločnosti Syngenta Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 v podmienkach Slovenska“.

4.7 Relevantné údaje týkajúce sa predchádzajúcich prípadov zavádzania do životného prostredia rovnakej geneticky modifikovanej vyššej rastliny, pokiaľ existujú, najmä vo vzťahu k možným vplyvom na zdravie ľudí a zvierat, životné prostredie a biologickú rozmanitosť

Kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 ešte neboli zavádzaná do životného prostredia v Slovenskej republike. Kukurica Bt11 × MIR604 × GA21 bola povolená US EPA a USDA na pestovanie v USA a Kanade. Syngenta uskutočnila poľné pokusy s touto kukuricou v USA a Argentíne. Kukurica Bt11 × GA21 môže byť komerčne pestovaná v USA

a Kanade. Navyše poľné experimenty s touto kukuricou boli uskutočnené mimo EÚ v Argentíne a Číne.

5. Opis nakladania s geneticky modifikovanými vyššími rastlinami

5.1 Nakladanie s geneticky modifikovanými vyššími rastlinami pred ich uvádzaním do životného prostredia (preprava)

Nakladanie s geneticky modifikovanou kukuricou pred jej uvádzaním do životného prostredia sa vzťahuje iba na dovoz osiva GM kukurice do SR a jeho prevoz na SCPV - VÚRV Piešťany. Dovozy osiva môže prebehnúť až po získaní povolení k zavádzaniu kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia. Preprava osiva bude realizovaná letecky alebo po ceste (dovoz do SR v období január až máj daného roku, v prípade dovozu z tretích krajín bude použitý hraničný prechod Bratislava-letisko), prevoz na SCPV - VÚRV v Piešťanoch potom osobným automobilom. Dovozy osiva na pole k sejbou je zabezpečovaný SCPV - VÚRV. Spoločnosť Syngenta realizuje dovoz osiva do SR a jeho prevoz do SCPV - VÚRV Piešťany. Po vyzdvihnutí GM osiva od prepravcu, ktorý ho dovezie do SR, bude osivo prevezené do SCPV - VÚRV v Piešťanoch. Spoločnosť Syngenta bude s týmto osivom nakladať iba v rámci prepravy, tj. vyzdvihne osivo od prepravcu a zabezpečí jeho prevoz na VÚRV v Piešťanoch.

5.2 Postup, ktorým budú geneticky modifikované vyššie rastliny zavádzané do životného prostredia

GM kukurica bude zavedená do životného prostredia jej sejbou, použitá bude sejačka Kinze, alebo ručná sejba.

5.3 Približný počet geneticky modifikovaných vyšších rastlín na m²

Približný celkový počet rastlín GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 na jednu lokalitu bude približne 30000, priemerne 7 až 8 rastlín na 1 m².

5.4 Príprava a spôsob úpravy pozemku pred pestovaním geneticky modifikovaných vyšších rastlín

Príprava pozemku pred sejbou bude prebiehať rovnakým spôsobom, ako pri konvenčnej kukurici. Na herbicídne ošetrenie budú použité prípravky na bázu glyfosátu a glufosinátu amónneho. Zber bude prebiehať rovnako ako pri konvenčnej kukurici, použitý bude kombajn s adaptérom pre zber kukurice na zrno Sampo – Roselew, alebo ručný zber.

5.5 Spôsob dopravy geneticky modifikovaných vyšších rastlín

Spôsob dopravy osiva GM kukurice na pozemok bude zabezpečený osobným automobilom.

5.6 Spôsob kultivácie geneticky modifikovaných vyšších rastlín na pozemku

Spôsob kultivácie GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sa neodlišuje od kultivácie konvenčnej kukurice s výnimkou možného použitia herbicídov na báze glyfozátu a glufosinátu amónneho.

5.7 Spôsob zberu geneticky modifikovaných vyšších rastlín

Spôsob zberu GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sa všeobecne neodlišuje od zberu parciel konvenčnej kukurice. Pokusy sú určené pre zber na zrno alebo siláž a ten bude vykonaný buď maloparcelkovým kombajnom, alebo ručne.

5.8 Opis ďalšieho nakladania s geneticky modifikovanými vyššími rastlinami

Ďalšie nakladanie s materiálmi GM kukurice po zbere je obmedzené na potenciálne vyhodnotenie odobraných vzoriek zrna v laboratóriu pracoviska (vzorky možno vyhodnotiť na poli), ďalej na možný prevoz vzoriek zrna k analýzam v zahraničí, alebo na iné pracoviská (s autorizáciou pre prácu s predmetným GMO). Za ďalšie nakladanie možno považovať skladovanie vzoriek zrna, osiva, alebo iného materiálu kukurice na pracoviskách, alebo likvidácii zberaného zrna a siláže, vrátane odobraných vzoriek zrna alebo iných častí rastlín.

5.9 Termín a spôsob vyhodnotenia zavádzania geneticky modifikovaných vyšších rastlín do životného prostredia

Ukončením zavedenia do životného prostredia bude zber zrna a zaoranie zvyškov rastlín. Za odpady spojené s nakladaním s geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 môžu byť považované zvyšky osiva, pozbierané zrno vrátane vzoriek, alebo zvyšky rastlín. Zvyšky osiva budú riadne uskladnené na jednotlivých pracoviskách, kde sa môžu v nasledujúcich rokoch využiť znovu v pokusoch a to v súlade tak s metodickými pokynmi, tak i s podmienkami povolenia vydaného na základe tejto žiadosti. Zvyšky osiva môžu byť protokolárne spálené v autorizovanej spaľovni. Zvyšky zrna, alebo zvyšky rastlín môžu byť zničené rozptýlením a zaoraním priamo na pokusnom pozemku, prípadne spálené v spaľovni komunálneho odpadu ako biologický odpad. Pozberané zrno bude spálené v spaľovni komunálneho odpadu. Nakladanie s odpadmi vrátane likvidácie materiálu geneticky modifikovanej kukurice bude riadne evidované.

Pracoviská VÚRV, ktoré by mali manipulovať s GM kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21, majú mnohoročné skúsenosti v oblasti poľného pokusníctva a od r. 2006 taktiež skúsenosti s pestovaním GM kukurice MON 810. To sú všetko faktory, ktoré by mali významne prispieť k bezproblémovej realizácii.

6. Opatrenia na ochranu zdravia ľudí, zvierat, životného prostredia a biologickej rozmanitosti a nakladanie s odpadom

6.1 Vzdialenosť plochy pestovania geneticky modifikovaných vyšších rastlín od planých alebo pestovaných sexuálne kompatibilných druhov rastlín

Minimálna izolačná vzdialenosť porastu geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 od porastov kukurice pestovaných konvenčným spôsobom bude minimálne 200 m a od porastov pestovaných ekologickým spôsobom hospodárenia 300 m.

6.2 Opatrenia pre zníženie alebo zabránenie úletu peľu alebo semien, ak sú použité

Okolo parciel s geneticky modifikovanou kukuricou bude vykonaný obsev v šírke min. 8 riadkov konvenčnej kukurice. Pri použití plodinovej bariéry jeden rad nemodifikovanej kukurice nahrádza dva metre izolačnej vzdialenosti. Pre obsev sa plánuje použitie hybridu s podobnou genetickou výbavou voči GM hybridom kukurice. V prípade, že takýto materiál nebude k dispozícii, použije sa hybrid podobnej zrelosti a vzrastu. Po ukončení pokusu je tento obsev zlikvidovaný rovnakým spôsobom ako rastliny geneticky modifikovanej kukurice.

Vyprodukované zrno alebo siláž budú použité pre analýzy alebo zničené, v nasledujúcej vegetačnej sezóne po skončení pokusu budú akékoľvek rastliny kukurice, vzídené na pokusnej ploche, zlikvidované.

Dôležitým opatrením zamedzujúcim šírenie semien je riadne vyčistenie mechanizácie (sejací stroj, kombajn) po ukončení sejby/zberu.

6.3 Opis metód pre úpravu pozemku po skončení pokusu

Po skončení pokusu (zbere) je pokusná plocha zaoraná. Prípadný výskyt výdrolu rastlín kukurice v ďalšom roku bude eliminovaný ručne.

Následnou plodinou nebude kukurica, týmto budú vytvorené podmienky pre ľahkú identifikáciu možného výdrolu.

6.4 Popis metód pre dopravu a spracovanie geneticky modifikovaných vyšších rastlín

Doprava osiva alebo zrna geneticky modifikovanej kukurice bude realizovaná v pevných, riadne uzavretých a označených obaloch. Doprava môže zahŕňať prevoz osiva, vzoriek na rozbery, pozbierané zrno na likvidáciu. Každá doprava GM materiálu bude evidovaná, napr. o pohybe osiva budú vedené protokolárne zápisy. Dovozy osiva na pole na sejbu je zabezpečovaný osobným automobilom. Po ukončení pokusov bude pozbierané zrno zlikvidované, niektoré vzorky zrna môžu byť uchované pre ďalšie analýzy. Evidencia nakladania s pozberaným zrnom bude vedená protokolárne.

Všetky materiály GM kukurice, tj., osivo, zrno a všetky vzorky, budú prevážané v uzavretých, dostatočne pevných obaloch (napr. jutové vrecia, alebo viacvrstvové papierové sáčky) s označením určeným pre geneticky modifikované organizmy.

Označenie bude prevedené nasledujúcim spôsobom:

- pre Bt11 × MIR604 × GA21

**GENETICKY MODIFIKOVANÝ ORGANIZMUS
SYN-BT011-1 × SYN-IR604-5 × MON-00021-9**

a

- pre Bt11 × GA21

**GENETICKY MODIFIKOVANÝ ORGANIZMUS
SYN-BT011-1 × MON-00021-9.**

Pozemky, kde sa bude manipulovať s geneticky modifikovanou kukuricou, budú označené vo všetkých rohoch viditeľnými tabuľami s nápisom:

**POZOR ! GENETICKY MODIFIKOVANÝ ORGANIZMUS ! NEVSTUPOVAŤ !
NESKRMOVAŤ ! CHEMICKY OŠETRENÉ !**

Nakladanie s geneticky modifikovanými kukuricami Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 bude prebiehať za prísnych podmienok vylučujúcich únik transgénov do okolitého prostredia. Možnosť rozširovania geneticky modifikovanej kukurice peľom bude obmedzená použitím efektívnej izolačnej vzdialenosti, ktorá bude spojená s konvenčným obsevom pokusov. Rozširovaniu GM kukurice prostredníctvom semien alebo pozberaného zrna bude zabránené čistením použitej mechanizácie, vrátane transportu kukurice v pevných a uzavretých obaloch. Pozberané zrno vrátane odpadu bude zlikvidované alebo riadne uskladnené (v prípade zvyškov osiva). Akýkoľvek pohyb materiálov GM kukurice spojený s realizáciou pokusov bude evidovaný, takže bude možné materiál dohľadať v akejkoľvek fáze nakladania s geneticky modifikovanou kukuricou.

6.5 Kontroly a monitorovanie výskytu a účinkov geneticky modifikovaných vyšších rastlín

Environmentálne riziká geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 sú vyhodnotené ako zanedbateľné. Z tohto dôvodu by stratégie pre menežment rizika mohli byť rovnaké ako pre konvenčnú kukuricu. Vzhľadom na plánované agronomické hodnotenia a pozorovania pokusných parciel, budú pokusy kontrolované pravidelne počas celého priebehu uvádzania GM kukurice do životného prostredia i z pohľadu potenciálneho výskytu priamych alebo nepriamych negatívnych účinkov na životné prostredie. V prípade prejavu akýchkoľvek nežiaducich účinkov vyplývajúcich zo zavádzania GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 do životného prostredia budú tieto okamžite nahlásené ministerstvu a príslušným úradom. Zároveň, v súlade so zákonom o GMO č.151/2002 Z. z. v platnom znení, vždy po ukončení pokusov bude ministerstvu predaná kompletná správa o manipulácii s GM kukuricou. Monitorovanie výskytu výdrvu kukurice po ukončení pokusov prebehne počas celého vegetačného obdobia nasledujúceho roku. Všetky vzídené rastliny kukurice budú vytrhané a ponechané na pokusnej ploche.

6.5.1 Metódy zisťovania prítomnosti geneticky modifikovaných vyšších rastlín a monitorovanie ich účinkov na ekosystém

Prítomnosť geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 môže byť zistená vysoko špecifickými metódami PCR pre detekciu sekvencií DNA vnesených génov (viď bod 2.13).

6.5.2 Špecifická metóda identifikácie geneticky modifikovaných vyšších rastlín a odlíšenie geneticky modifikovaných rastlín od darcovského organizmu, príjemcu, prípadne rodičovského organizmu, citlivosť a spoľahlivosť týchto metód

Prítomnosť geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 môže byť zistená vysoko špecifickými metódami PCR pre detekciu sekvencií DNA vnesených génov (viď bod 2.13).

6.5.3 Techniky (metódy) detekcie prenosu vloženého dedičného materiálu na ďalšie organizmy

Prítomnosť geneticky modifikovaných kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 môže byť zistená vysoko špecifickými metódami PCR pre detekciu sekvencií DNA vnesených génov (viď bod 2.13).

6.5.4 Plocha, na ktorej bude monitoring vykonávaný

Monitoring bude realizovaný na pokusných plochách, kde prebieha, alebo prebiehalo pestovanie GM kukurice. V dobe realizácie pokusov budú sledované všetky neštandardné situácie v rámci plánovaného agronomického hodnotenia, po zbere bude pokusná plocha monitorovaná pre výskyt možného výdruv kukurice počas celého vegetačného obdobia (1x mesačne) nasledujúceho roku.

6.5.5 Doba trvania monitoringu

Počas realizácie pokusov budú sledované všetky neštandardné situácie v rámci plánovaného agronomického hodnotenia, po zbere bude pokusná plocha monitorovaná na výskyt možného výdruv kukurice počas celého vegetačného obdobia nasledujúceho roku.

6.5.6 Častosť monitoringu

V období realizácie pokusov je sledovanie robené vždy v rámci plánovaných agronomických hodnotení, po zbere pokusov v nasledujúcom roku vždy raz za mesiac počas vegetačného obdobia.

6.6 Nakladanie s odpadmi vrátane likvidácie geneticky modifikovaných, vyšších rastlín

Za odpady spojené s nakladaním s geneticky modifikovanou kukuricou Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA môžu byť považované zvyšky osiva, pozberané zrno vrátane vzoriek, alebo zvyšky rastlín. Zvyšky osiva budú riadne uskladnené na jednotlivých pracoviskách, kde sa môžu v nasledujúcich rokoch využiť opäť v pokusoch a to v súlade ako s metodickými pokynmi spoločnosti Syngenta, tak aj s podmienkami povolenia vydaného na základe tejto žiadosti SCPV – VÚRV Piešťany. Zvyšky osiva môžu byť zlikvidované ich transportom späť na zahraničné pracovisko Syngenta. Pozberané zrno, zvyšky vzoriek zrna, alebo zvyšky rastlín môžu byť zničené rozptýlením a zaoraním priamo na pokusnom pozemku. Nakladanie s odpadmi vrátane likvidácie materiálu geneticky modifikovanej kukurice bude riadne evidované.

6.7 Zhrnutie ochranných opatrení

Všetko nakladanie s geneticky modifikovanou kukuricou Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA bude prebiehať za prísnych podmienok vylučujúcich únik transgénov do okolitého prostredia. Možnosť rozširovania geneticky modifikovanej kukurice peľom bude obmedzená použitím efektívnej izolačnej vzdialenosti spojenou s konvenčným obsevom pokusov. Rozširovanie GM kukurice prostredníctvom semien alebo pozberaného zrna bude zabránené čistením použitej mechanizácie, vrátane transportu kukurice v pevných a uzavretých obaloch. Pozberané zrno vrátane všetkého odpadu bude zlikvidované alebo riadne uskladnené (v prípade zvyškov osiva). Všetok pohyb materiálov GM kukurice spojený s realizáciou pokusov bude evidovaný, takže bude možné materiál dohľadať v akejkoľvek fáze nakladania s geneticky modifikovanou kukuricou.

SCPV – VÚRV Piešťany, ktorý by mal nakladať s touto GM kukuricou, má mnohoročné skúsenosti v oblasti poľného pokusníctva a od r. 2007 tiež skúsenosti s pestovaním GM

kukurice v režime zavádzania do životného prostredia. To sú všetko faktory, ktoré by mali významne prispieť k bezproblémovej realizácii poľných štúdií.

7. Zhrnutie informácií o plánovaných poľných pokusoch uskutočňovaných za účelom získania nových údajov o vplyve zavádzania geneticky modifikovaných vyšších rastlín do životného prostredia na zdravie ľudí, zvierat a životné prostredie

Súhrnný ohlasovací informačný formát

Predmetom tejto žiadosti je udelenie povolenia k zavádzaniu geneticky modifikovanej (GM) kukurice Bt11 × MIR604 × GA21 a kukurice Bt11 × GA21 do životného prostredia v Slovenskej republike za účelom realizácie poľných štúdií týkajúcich sa agronomickej výkonnosti uvedených GM kukuríc a ich odolnosti k určitým druhom hmyzích škodcov z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera* a tolerancie k herbicídum obsahujúcim glyfozát alebo glufozinát amónny.

Pravdepodobnosť nezamýšľaného rozširovania GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 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. Ak by došlo k rastu rastlín kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 v prírodných podmienkach, čo je veľmi nepravdepodobné, tak by tolerancia týchto rastlín ku glyfozátu mohla znamenať len obmedzenú krátkodobú selekčnú výhodu, ktorá by však nespôsobila tomuto prostrediu žiadne negatívne následky. Táto selekčná výhoda by platila len v prípade, keby sa v tomto prostredí aplikovali herbicídy na báze glyfozátu a/alebo glufozinátu amónneho. Riziko nezamýšľaného rozširovania GM kukuríc je vzhľadom k obmedzeným schopnostiam kukurice stať sa burinou rastlinou zanedbateľné. Transgénna rezistencia rastlín GM kukuríc Bt11 × MIR604 × GA21 a Bt11 × GA21 k určitým druhom hmyzu z radov *Lepidoptera* a *Coleoptera*, v oblastiach Európy, kde sú tieto druhy dôležitými škodcami kukurice, sa dá považovať za výhodu oproti konvenčnej kukurici. Kukurica je však silne domestikovaná a nemôže prežiť bez asistencie človeka, dokonca ani v oblastiach bez tlaku týchto cieľových škodcov. Preto expresia transgénov zabezpečujúcich tieto vlastnosti nezvýši potenciál prežívania kukurice v Európskych podmienkach a neposkytne žiadnu selekčnú výhodu týmto rastlinám oproti konvenčnej kukurici.

Z týchto dôvodov nie je navrhnutá žiadna stratégia pre manažment rizika.

Dátum, podpis žiadateľa

V Piešťanoch, dňa 21. 1. 2009

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

Literatúra

Tu je uvedený rozsiahly prehľad literatúry, ktorý môže slúžiť pre prípadné ďalšie štúdium problematiky. Text dokumentu neodkazuje na všetky tu uvádzané citácie, čo by nemalo byť považované za chybu, ale za výber z prehľadu literatúry relevantnej pre zostavenie dokumentu.

- CFIA (2003).** (Canadian Food Inspection Agency. Downloaded August 003). "The Biology of *Zea mays* L. (Corn/Maize)" – a companion document to the assessment criteria for determining environmental safety of plants with novel traits. Regulatory Directive Dir 94-11: <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/dir9411e.shtml>
- Chen E. and Stacy C. (2003).** "Modified Cry3A toxins having increased toxicity to corn rootworm, their nucleic acid sequences, and methods for controlling plant pests". 127 pp. PCT Int. Appl.
- Christensen A. H., Sharrock R. A. and Quail P. H. (1992).** Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology*, 18, 675-689.
- Comai L. and Stalker D.M. (1986).** Mechanism of Action of Herbicides and their Molecular Manipulation. *Oxford Surveys of Plant Molecular & Cellular Biology*. **3**: 167-195.
- Coe E. H. J., Nueffer M. G. and Hoisington D. A. (1988).** The Genetics of Maize. In: Corn and Corn Improvement. Agronomy Monographs. E.G.F Sprague and J.W. Dudley. Wisconsin, American Society of Agronomy: Madison, **18**: 81-236.
- de Framond A. J. (1991).** "A metallothionein-like gene from maize (*Zea mays*). Cloning and characterization." *FEBS*. **290**:103-106.
- Depicker A., Stachel S., Dhaese P., Zambryski P. and Goodman H. M. (1982).** "Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence." *J. Mol. Appl. Genet.* **1**(6): 561-573
- Devos Y., Cougnon M., Vergucht S., Bulcke R., Haesaert G., Steurbaut W., Reheul D. (2008).** Environmental impact of herbicide regimes used with genetically modified herbicide-resistant maize. *Transgenic Res.* **17**: 1059–1077.
- Doebley J. (2004).** The genetics of maize evolution. *Annual Review of Genetics* **38**, 37-59.
- EEA (2002).** "Maize . Genetically Modified Organisms (GMO's): The significance of gene flow through pollen transfer. A review and interpretation of published literature and recent/current research from the ESF' Assessing the Impact of GM plants' AIGM programme". A. E. K. a. S. J. . Environmental Issue Report. **28**: 38-42
- EFSA (2005)** The EFSA Journal (2005) 213, 1-33: Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the notification (Reference C/F/96/05.10) for the placing on the market of insect resistant genetically modified maize Bt11, for cultivation, feed and industrial processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Syngenta Seeds (Question No EFSA-Q-2004-012) Opinion adopted on 20 April 2005. http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/922/gmo_opinion_ej213_bt11maize_cultivation_en1.pdf
- FIFRA SAP (2004).** SAP Report No. 2004-05. Meeting Minutes. FIFRA Scientific Advisory Panel Meeting, June 8-10, 2004, held at the Holiday Inn Arlington, Arlington, Virginia. A Set of Scientific Issues Being Considered by the U.S. Environmental Protection Agency

Regarding: Product Characterization, Human Health Risk, Ecological Risk, And Insect Resistance Management For *Bacillus thuringiensis* (Bt) Cotton Products.

- Fling M. E., Kopf J. and Richards C. (1985).** Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3(9)-O-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* **13**: 7095-7106
- Freeling M. and Bennet D.C., (1985)** Maize AdhI. *Annu. Rev. Genet.* **19**, 297-323. Gardner, R.C., Howarth, A.J., Hahn, P., Brown-Luedi, M., Sheperd, R.J. and Messing, J., 1981. The complete nucleotide sequence of an infectious clone of cauliflower mosaic virus by M13mp7 shotgun sequencing. *Nucl. Acids Res.* **9**, 2871-2888.
- Gardner R.C., Howarth A.J., Hahn P., Brown-Luedi M., Sheperd R.J. and Messing J. (1981).** The complete nucleotide sequence of an infectious clone of cauliflower mosaic virus by M13mp7 shotgun sequencing. *Nucl. Acids Res.* **9**: 2871-2888.
- Hansen G., Das A. and Chilton M. D. (1994).** Constitutive expression of the virulence genes improves the efficiency of plant transformation by *Agrobacterium*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **91**(16): 7603-7607
- Heeb S., Itoh Y., Nishijyo T., Schnider U., Keel C., Wade J., Walsh U., O'Gara F. and Haas D. (2000).** Small, stable shuttle vectors based on the minimal pVS1 replicon for use in gram-negative, plant-associated bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interaction* **13**: 232-237.
- Herrero M. P. and Johnson R. R. (1980).** High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Science* **20**: 796-800.
- Hoekema A., Hirsch P., Hooykaas P. and Schilperoort R. (1983).** A binary plant vector strategy based on separation of vir- and T-region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti-plasmid. *Nature.* **303**(12): 179-180.
- Hoekstra F. A., Crowe L. M. and Crowe J. H. (1989).** Differential desiccation sensitivity of maize and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose content. *Plant, Cell and Envir.* **12**: 83-91.
- Itoh Y. and Tomizawa J. (1979).** "Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA polymerase, ribonuclease H and DNA polymerase I." *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* **43**: 409-417
- Itoh Y., Watson J. M., Haas D. and Lesinger T. (1984).** Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Plasmid* **11**(3): 206-220
- Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., Foueillassar, X. and Huber, L. (2005).** Variation in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environmental Science and Technology* **39**, 4377-4384.
- Jones, M. D. and Newel, L. C. (1948).** Longevity of pollen and stigmas of grasses: buffalograss, *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm., and maize, *Zea mays* L. *J. Am. Soc. Agr.* **40**: 195-204.
- Lebrun M., Leroux B. and Sailland A. (1996).** Chimeric gene for the transformation of plants. U.S. patent number 5,510,471.
- Lebrun M., Sailland A., Freyssinet G. and Degryse, E. (2003).** Mutated 5-enoylpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. Bayer CropScience S.A. (Lyons, FR) Patent # 6,566,587.

- McElroy D., Zhang W., Cao J. and Wu R. (1990).** Isolation of an efficient actin promoter for use in rice transformation. *Plant Cell*, 2(2): 163-171.
- Negrotto D., Jolley M., Beer S., Wenck A. R. and Hansen G. (2000).** The use of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic maize plants (*Zea mays* L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell Reports* **19**: 798-803
- Negrutiu I., Shillito R., Potrykus I., Basiani G. and Sala G. (1987).** Hybrid genes in the analysis of transformation conditions. *Plant Mol. Biol.* **8**: 363-373.
- Niebur, W. S. (1993).** Traditional Crop Breeding Practices: An Historical Review to Serve as a Baseline for Assessing the Role of Modern Biotechnology., OECD: 113-121.
- Nielsen, K. M., Gebhard F., Smalla K., Bones A. and vanElsas J. (1997).** Evaluation of Possible Horizontal Gene Transfer from Transgenic Plants to the Soil Bacterium *Acinetobacter Calcoaceticus* Bd413. *Theoretical and Applied Genetics* **95**(Oct)(N-5-6): 815-821.
- O'Callaghan M. and Glare T. R. (2001).** Impacts of Transgenic Plants and Micro-Organisms on Soil Biota. *New Zealand Plant Protection* **54**: 105-110.
- OECD (1999).** "Consensus document on General Information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide" *Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology* (Number 10).
- OECD (2003).** "Consensus document on the biology *Zea mays* subsp. *mays* (Maize)." *Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology* (Number 27)
- Perlak F.J., Fuchs R.L., Dean D.A., McPherson S.L. & Fischhoff D. (1991).** Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 3324-3328.
- Pleasant J.M., Hellmich R.L., Dively G.P., Sears M.K., Stanley-Horn D.E., Mattila H.R., Foster J.E., Clark P. and Jones G.D. (2001).** Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **98**, 11919-11924.
- Raynor G.S., Ogden E. and Hayes J.V. (1972).** Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agronomy Journal* **64**, 420-427.
- Rebourg C., Chastanet M., Gouesnard B., Welcker C., Dubreuil P. and Charcosset A. (2003).** "Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data." *Ther Appli Genet.* **106**: 895-903
- Russell W.A. and Hallauer A.R. (1980).** Maize. In "Hybridization of crop plants". Ed. Fehr and Hadley. American Society of Agronomy and Crop Science of America, Publishers, Madison, Wisconsin, USA. pp299-312.
- Short J.M., Fernandez J.M., Sorge J.A. and Huse W.D. (1988).** λ ZAP: a bacteriophage λ expression vector with *in vivo* excision properties. *Nucleic acids Res.*, **16**:7583-7600
- Spencer T.M., Mumm R., Gwyn J., McElroy D. and Stephens, M. (1998)** Glyphosate resistant maize lines. Patent application WO 9844140, published 8 October 1998.
- Spencer T.M., Mumm R., Gwyn, J. (2000)** Glyphosate resistant maize lines. Official Gazette of the United States Patent and Trademark Office Patents. 1232(3) #6,040,497.

- Stalker D.M., Hiatt W. R. and Comai L. (1985).** A Single Amino Acid Substitution in the Enzyme 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate Synthase Confers Resistance to the Herbicide Glyphosate. *Journal of Biological Chemistry*. **260**(8):4724-28.
- Steinruecken H.C. and Amrhein N. (1984).** 5- Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae* 2. Inhibition by glyphosate [*N*-(phosphonomethyl)glycine]. *Eur. J. Biochem.* **143**: 351-357.
- Strauch E., Wohlleben W. and Puhler A. (1998).** Cloning of a phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli*. *Gene*. 1988;**63**(1):65-74.
- Sutcliffe (1978).** Nucleotide sequences of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **75**: 3737-3741.
- Thompson G.A., Hiatt W.R., Facciotti D., Stalker D.M. and Comai L. (1987).** Expression in Plants of a Bacterial Gene Coding for Glyphosate Resistance. *Weed Science*. **35**:(Suppl. 1) 19-23.
- van Frankenhuyzen K. and Nystrom C. (2002).** The *Bacillus thuringiensis* toxin specificity database. <http://cfs.nrcan.gc.ca/subsite/glf-bacillus-thuringiensis/bacillus-thuringiensis> (visited Dec. 2008).
- Wang K., Herrera-Estrella L., Van Montagu M. and Zambryski P. (1984).** Right 25 bp terminus sequence of the nopaline T-DNA is essential for and determines direction of DNA transfer from *Agrobacterium* to the plant genome. *Cell* **38**(2): 455-462
- Warwick S.I. and Stewart C.N. (2005).** Crops come from wild plants – how domestication, transgenes and linkage together shape ferality. In: Gressel, J. (ed.) *Crop Ferality and Volunteerism*. Boca Raton, FL., CRC Press. pp. 9-30.
- Wohlleben W., Arnold W., Broer I., Hilleman D., Strauch E. and Puhler A. (1988).** Nucleotide sequence of the phosphinothricin-N-acetyltransferase gene from a *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*. **70**: 25-37.
- Yanisch-Perron C., Viera J. and Messing J. (1985).** Improved M13 Phage Cloning Vectors and Host Strains; Nucleotide Sequence of M13mp18 and pUC19 Vectors. *Gene* **33**: 103-109.
- Yu C.-G., Mullins M., Warren G. W., Koziel M. G. and Estruch J. J. (1997).** The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. *Appl. Env. Microbiol.* **63**(2):532-536.
- Zambryski P., Depicker A., Kruger K. and Goodman H. M. (1982).** Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: analysis of the boundaries of T-DNA. *J. Mol. Appl. Genet.* **1**(4): 361-370
- Zhong H., Sun B., Warkentin D., Zhang S., Wu R., Wu T., Sticklen M.B. (1996).** The competence of maize shoot meristems for integration transformation and inherited expression of transgenes. *Plant Physiol* **110**: 1097-1107.