

Tytuł
Zamierzone uwolnienie GMO
Opis
Wniosek o wydanie decyzji w sprawie zamierzonego uwolnienia GMO

Dane ogólne

INFORMACJE OGÓLNE O WNIOSKU

| | |
|----------------------------|------------|
| Numer wniosku | 02-12/2013 |
| Status zgłoszenia | w toku |
| Data zgłoszenia | 2013-07-15 |
| Znak decyzji | |
| Data wydania decyzji | |
| Data obowiązywania decyzji | |
| Data upublicznienia | 2013-07-15 |
| Numer decyzji | |
| Numer uchwały | |

Tytuł zamierzonego uwolnienia

Analiza porównawcza cech morfologicznych genetycznie zmodyfikowanych linii ogórka (*Cucumis sativus* L.) i ich formy wyjściowej

Title

Comparative analysis of morphological characteristics of genetically modified cucumber (*Cucumis sativus* L.) lines and non-GM line

Cel zamierzonego uwolnienia

Celem doświadczenia w warunkach polowych jest analiza cech morfologicznych genetycznie zmodyfikowanych (GM) linii ogórka przeprowadzona w porównaniu do formy wyjściowej (kontrola nie-GM). Porównywane będą cechy morfologiczne owoców, liści i kwiatów roślin ogórka. Do doświadczenia zostaną wykorzystane rośliny z dwóch grup linii GM. Przeprowadzenie doświadczenia w warunkach polowych jest ważne z następujących powodów: (1) linie GM pochodzą ze starej odmiany polowej, dobrze przystosowanej do uprawy w odkrytym gruncie, (2) wyniki doświadczenia zostaną porównane z danymi uzyskanymi dla linii nie-GM ogórka otrzymanych metodami powszechnie stosowanymi w hodowli, uprawianych w tym samym czasie w warunkach Pola Doświadczalnego Katedry Genetyki Hodowli i Biotechnologii SGGW w Warszawie. Wszystkie linie wybrane do doświadczeń polowych wywodzą się z jednego tła genetycznego. Dane uzyskane z doświadczeń polowych zostaną wykorzystane do interpretacji wyników badań genomicznych, zaplanowanych do realizacji w Katedrze Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, na materiale roślinnym pobranym z upraw polowych.

Abstract

The aim of the open field experiment is a morphological analysis of genetically modified (GM) cucumber lines, carried out in comparison to the parental line (non-GM control). The morphological characteristics of fruits, leaves and flowers will be compared. For the study, plants from two groups of GM lines will be used. Conducting of experiment in open field conditions is important for the following reasons: (1) GM lines derive

from an old field cucumber cultivar, well adapted for growing in open field and (2) experimental data will be compared with those obtained for non-GM lines obtained by methods commonly used in breeding, cultivated at the same time in Experimental Field of Department of Plant Genetics Breeding and Biotechnology Warsaw University of Life Sciences. All lines used for field experiments derive from one inbred line — they have the same genetic background. Data from open field experiments will be useful for the interpretation of results of genomic research. Genomic research will be conducted in the Department of Plant Genetics Breeding and Biotechnology on field-derived plant material.

Użytkownik

1. INFORMACJE O UŻYTKOWNIKU GMO I OSOBACH ODPOWIEDZIALNYCH ZA PRZYGOTOWANIE I PRZEPROWADZENIE ZAMIERZONEGO UWOLNIENIA

1.1. Nazwa i siedziba lub nazwisko i adres użytkownika GMO

Dane osoby prawnej

| | |
|-------------------|------------------------------|
| Nazwa użytkownika | Instytut Genetyki Roślin PAN |
| Kod pocztowy | 60-479 |
| Miejscowość | Poznań |
| Ulica | Strzeszyńska |
| Numer budynku | 34 |
| Numer lokalu | |
| Adres e-mail | |
| Telefon | 61 65 50 200 |
| Faks | 61 823 36 71 |

1.2. Imię i nazwisko oraz informacja o kwalifikacjach fachowych osoby (osób) odpowiedzialnej za przygotowanie i przeprowadzenie zamierzonego uwolnienia GMO do środowiska

Dane osoby odpowiedzialnej

| | |
|---------------------|--------------------|
| Tytuł naukowy | Dr |
| Imię pracownika | Tomasz |
| Nazwisko pracownika | Pniewski |
| Telefon | 616550251 |
| Faks | 616550301 |
| Adres e-mail | tpni@igr.poznan.pl |

Kwalifikacje zawodowe pracownika

udział w badaniach z użyciem GMO: 20-letnie doświadczenie w zakresie pracy z GMO, w tym w ramach projektów badawczych: Grant KBN Nr 6 PO4B 010 09, Grant KBN Nr 6 PO4B 012 16, Grant PBZ-KBN Nr 04/PO4/98, Grant FNP TECHNE Nr 2/2001, Grant MNil Nr 2 PO4B 001 27, Grant MNiSW Nr N401-O/0026/32, Grant IT-1 13-190, Grant PBZ/MNiSW/07/2006/15, Grant MNiSW, Nr N N302 157837 oraz zezwolenia MŚ: 17/2004 i 01-24/2010.

Uwolnienie

2. INFORMACJE O ZAMIERZONYM UWOLNIENIU GMO DO ŚRODOWISKA

a) Tytuł zamierzonego uwolnienia GMO do środowiska

Analiza porównawcza cech morfologicznych genetycznie zmodyfikowanych linii ogórka (*Cucumis sativus* L.) i ich formy wyjściowej

Title

Comparative analysis of morphological characteristics of genetically modified cucumber (*Cucumis sativus* L.) lines and non-GM line

b) Cel zamierzonego uwolnienia GMO do środowiska i krótkie streszczenie

Celem doświadczenia w warunkach polowych jest analiza cech morfologicznych genetycznie zmodyfikowanych (GM) linii ogórka przeprowadzona w porównaniu do formy wyjściowej (kontrola nie-GM). Porównywane będą cechy morfologiczne owoców, liści i kwiatów roślin ogórka. Do doświadczenia zostaną wykorzystane rośliny z dwóch grup linii GM. Przeprowadzenie doświadczenia w warunkach polowych jest ważne z następujących powodów: (1) linie GM pochodzą ze starej odmiany polowej, dobrze przystosowanej do uprawy w odkrytym gruncie, (2) wyniki doświadczenia zostaną porównane z danymi uzyskanymi dla linii nie-GM ogórka otrzymanych metodami powszechnie stosowanymi w hodowli, uprawianych w tym samym czasie w warunkach Pola Doświadczalnego Katedry Genetyki Hodowli i Biotechnologii SGGW w Warszawie. Wszystkie linie wybrane do doświadczeń polowych wywodzą się z jednego tła genetycznego. Dane uzyskane z doświadczeń polowych zostaną wykorzystane do interpretacji wyników badań genomicznych, zaplanowanych do realizacji w Katedrze Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, na materiale roślinnym pobranym z upraw polowych.

Abstract

The aim of the open field experiment is a morphological analysis of genetically modified (GM) cucumber lines, carried out in comparison to the parental line (non-GM control). The morphological characteristics of fruits, leaves and flowers will be compared. For the study, plants from two groups of GM lines will be used. Conducting of experiment in open field conditions is important for the following reasons: (1) GM lines derive from an old field cucumber cultivar, well adapted for growing in open field and (2) experimental data will be compared with those obtained for non-GM lines obtained by methods commonly used in breeding, cultivated at the same time in Experimental Field of Department of Plant Genetics Breeding and Biotechnology Warsaw University of Life Sciences. All lines used for field experiments derive from one inbred line — they have the same genetic background. Data from open field experiments will be useful for the interpretation of results of genomic research. Genomic research will be conducted in the Department of Plant Genetics Breeding and Biotechnology on field-derived plant material.

Biorca

3. INFORMACJE O GMO

a) Charakterystyka biorcy; organizmu rodzicielskiego (o ile występuje)

3.1. Nazwa taksonomiczna

Agrobacterium tumefaciens
Cucumis sativus L.
Escherichia coli

Jeżeli w powyższym słowniku wybrana została wartość "Żadne z powyższych" należy wypełnić pole:

.....

3.2. Taksonomia

Rodzina: Cucurbitaceae Rodzaj: Cucumis Gatunek: Cucumis sativus Domena: Bakterie Klasa: Gammaproacteria Rząd: Enterobacteriales Rodzina: Enterobacteriaceae Rodzaj: Escherichia Gatunek: Escherichia coli; Domena: Bakterie Klasa: Alphaproteobacteria Rząd: Rhizobiales Rodzina: Rhizobiaceae Rodzaj: Agrobacterium Gatunek: Agrobacterium tumefaciens

3.3. Inne nazwy (w szczególności: nazwa zwyczajowa, nazwa szczepu, nazwa hodowlana)

Rośliny: ogórek — odmiana polowa Borszczagowski; rośliny transgeniczne odmiany Borszczagowski.
Bakterie: 1. szczep laboratoryjny E. coli DH5a 2. szczep laboratoryjny A. tumefaciens: LBA4404

3.4. Cechy fenotypowe i genetyczne

Cechy fenotypowe ogórka odpowiadają cechom typowym dla każdego z gatunków i odmiany. Ogórki transgeniczne pochodzą z Katedry Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Cechy bakterii są typowe dla danego szczepu: - (Plant Genetic Transformation and Gene Expression. Eds. J. Draper, R. Scott, P. Armitage, R. Walden. 1988. Blackwell Sci. Publ.; Hellens R., Mullineaux P. Technical Focus: A guide to Agrobacterium binary Ti vectors. 2000. Trends in Plant Sci. 5: 446-451.

3.5. Stopień pokrewieństwa pomiędzy dawcą i biorcą lub między organizmami rodzicielskimi

Sekwencje przeniesione do ogórka pochodzą z gatunków odległych filogenetycznie: *Thaumatococcus daniellii* i *Solanum tomentosum*. Bakterie są zdolne do przenoszenia materiału genetycznego w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, w wyniku zastosowania specjalnie do tego celu opracowanych procedur

3.6. Opis technik identyfikacji i detekcji

Obserwacje fenotypu oraz standardowe analizy molekularne: PCR, Northern blot, Western blot.

3.7. Dokładność, powtarzalność i specyficzność technik identyfikacji i detekcji

Techniki molekularne stosowane do detekcji transgenu i potwierdzenia jego ekspresji są bardzo czułe, specyficzne i powtarzalne.

3.8. Opis geograficznego zasięgu i naturalnego środowiska organizmu wraz z informacją o naturalnych wrogach, ofiarach, pasożytach, konkurentach, symbiontach i gospodarzach

Ogórek jest rośliną ciepłolubną, jednoroczną powszechnie uprawianą w Polsce jak również w innych krajach Europy. Szkodniki występujące w naszym klimacie nie stanowią zagrożenia gospodarczego i nie są one w Polsce zwalczane. Centrum pochodzenia ogórka znajduje się w Himalajach i w tropikalnych rejonach Afryki. *Agrobacterium tumefaciens* jest bakterią glebową, *Escherichia coli* występuje w jelitach ssaków. W celach naukowych stosowane szczepy bakteryjne są odpowiednio zmodyfikowane i przeżywają tylko w warunkach laboratoryjnych.

3.9. Możliwość przeniesienia informacji genetycznej do innych organizmów. Krzyżowanie z innymi gatunkami użytkowymi lub dzikimi

Możliwość przenoszenia DNA między roślinami transgenicznymi i nietransgenicznymi jest bardzo mało prawdopodobna. Pole doświadczalne Instytutu Genetyki Roślin położone jest na terenie, na którym zapewniona jest wymagana izolacja przestrzenna od innych upraw ogórka (min. 1000 in). Ponadto możliwość przeniesienia transgenów (genu taumatyny i genu dehydryny) do genomów innych roślin ogranicza się tylko do osobników tego samego gatunku. W Europie nie ma dzikich roślin spokrewnionych, a dzikie populacje samosiewów nie są w stanie przeżyć w naturalnych warunkach, ze względu na dużą ilość zmian hodowlanych w ogórku. Bakterie są zdolne do przenoszenia materiału genetycznego w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, w wyniku zastosowania specjalnie do tego celu opracowanych procedur. Niepotrzebny do dalszych badań materiał biologiczny będzie zniszczony bezpośrednio po zakończeniu doświadczenia.

3.10. Stabilność genetyczna organizmów i czynniki na nią wpływające

Stabilne

3.11. Cechy patologiczne, ekologiczne i fizjologiczne

a) cechy patologiczne, stosownie do istniejących norm dotyczących ochrony zdrowia ludzi lub ochrony środowiska

Nie dotyczy

b) wymiana pokoleń w naturalnym ekosystemie; płciowe i bezpłciowe cykle reprodukcyjne

Ogórek jest rośliną jednoroczną jednopienną. Wytwarza nasiona na skutek zapylenia przez owady. Nasiona o pełnych cechach użytkowych można uzyskać tylko na drodze hodowlanej. Nasiona powstałe w wyniku zapylenia ogórka w uprawie, w warunkach polowych nie nadają się do wysiewu ze względu na rozszczepienie cech i w związku z tym ich znikomą wartość plonotwórczą. W warunkach naturalnych ogórek nie ma szans na samodzielne przeżycie i rozprzestrzenianie się bez pomocy człowieka. Bakterie rozmnażają się przez podział.

c) zdolność do samodzielnego utrzymania się w środowisku, w tym wytwarzanie diaspor między innymi przez nasiona, spory. Specyficzne czynniki wpływające na przeżywalność i rozsiewanie

Transgeniczne rośliny ogórka cechują się normalnym cyklem życiowym trwającym około pięciu miesięcy od wysadzenia w polu w połowie maja do naturalnego obumierania we wrześniu, po pierwszych przymrozkach tego samego roku. Ich przetrwanie zależy głównie od człowieka, ponieważ pozostawione w glebie nasiona nie przetrwają do następnego roku. Pojawienie się samosiewów w następnych uprawach nie stanowi problemu, ponieważ nie przeżywają one zimy. Samodzielne utrzymanie się bakterii w środowisku jest mało prawdopodobne ze względu na zestaw mutacji znacznie ograniczający zdolności adaptacyjne laboratoryjnych szczepów bakterii.

d) patogenność: infekcyjność, toksyczność, alergenność, nośniki (wektory) patogenów, inne wektory, wpływ na organizmy nieobjęte celowym działaniem GMO. Możliwość aktywacji wirusów utajonych (prowirusów); zdolność do kolonizacji innych organizmów

Nie dotyczy

e) oporność na antybiotyki i możliwość wykorzystywania tych antybiotyków w leczeniu ludzi i zwierząt i w profilaktyce

Linie GM ogórka (*Cucumis sativus* L.) posiadają insert zawierający gen nptII nadający oporność na kanamycynę. Antybiotyk ten został wykorzystany wyłącznie w początkowym etapie procedury transformacji ogórka — selekcji komórek transformowanych. Komórki, które nabyły gen nptII, wytworzyły enzym (fosfotransferaza neomycyny II) powodujący inaktywację kanamycyny znajdującej się w

pożywcze selekcyjnej. W aktualnym Urzędowym Wykazie Produktów Leczniczych nie ma już w Polsce zarejestrowanego produktu leczniczego dla ludzi zawierającego kanamycynę (<http://www.idruginfo.com/?cat=ing&s=Kanamycin%20Sulfate>). Kanamycyna była wcześniej stosowana w Polsce w leczeniu gruźlicy. Antybiotyk ten jest bardzo słabo wchłaniany z przewodu pokarmowego. Przy podaniu pozajelitowym kanamycyna wydalana jest w 90% z moczem w postaci nie zmienionej, a po podaniu doustnym - wydalana w przeważającej części z kałem, reszta z moczem. W związku z tym podawana była domięśniowo. Natomiast w Polsce znajduje się preparat weterynaryjny: Ubrolexin - zawiesina dowymieniowa dla krów mlecznych w okresie laktacji zawierający kanamycynę (http://www.boehringer-ingenelheim.pl/content/dam/internet/opu/pl_PL/documents/Animal%20Health/UBROLEXIN%20ULO TKA%20INFORMACYJNA.pdf).

f) rola w procesach środowiskowych, produkcja, przemiany metaboliczne, rozkład materii organicznej, inne

Taka sama, jak w przypadku niezmodyfikowanych genetycznie ogórków.

3.12. Charakterystyka wcześniej wprowadzonych wektorów

Ogólna charakterystyka wcześniej wprowadzonych wektorów

Wektory wewnętrzne nie występują.

a) sekwencja

Nie dotyczy

b) częstotliwość użytkowania

Nie dotyczy

c) specyficzność

Nie dotyczy

d) obecność genów nadających oporność

Nie dotyczy

3.13. Opis wcześniejszych modyfikacji genetycznych

Rośliny biorcy nie były wcześniej modyfikowane genetycznie. Stosowane szczepy laboratoryjne bakterii są dostępne komercyjnie.

Dawca

3. INFORMACJE O GMO

b) Charakterystyka dawcy

3.14. Nazwa taksonomiczna

Agrobacterium tumefaciens
Solanum soganandinum
Żadna z powyższych

Jeżeli w powyższym słowniku wybrana została wartość "Żadne z powyższych" należy wypełnić pole:

Thaumatococcus daniellii kodującego taumatynę II

3.15. Taksonomia

Dawca sekwencji kodującej genu taumatyny Rodzina: Marantaceae Rodzaj: Thaumatococcus Gatunek: Thaumatococcus danielli Dawca sekwencji kodującej genu dehydryny: Rodzina: Solanaceae Rodzaj: Solanum Gatunek: Solanum soganandinum

3.16. Inne nazwy (w szczególności: nazw zwyczajowa, nazwa szczepu, nazwa hodowlana)

dziko rosnący gatunek ziemniaka Solanum soganandinum Escherichia coli — pałeczka okrężnicy, w przypadku pozostałych bakterii używa się nazw taksonomicznych.

3.17. Cechy fenotypowe i genetyczne

Thaumatococcus daniellii - roślina wyższa, krzew rosnący w Afryce Zachodniej. Solanum soganandinum — Ameryka Środkowa i Południowa. Cechy bakterii są typowe dla danego szczepu.

3.18. Stopień pokrewieństwa pomiędzy dawcą a biorcą lub między organizmami rodzicielskimi

Rośliny będące dawcami i biorcami sekwencji DNA należą do różnych rodzin. Geny roślinne na czas klonowania wprowadzane są do bakterii. Bakterie są zdolne do przenoszenia materiału genetycznego w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, w wyniku zastosowania specjalnie do tego celu opracowanych procedur.

3.19. Opis technik identyfikacji i detekcji

Nie dotyczy

3.20. Dokładność, powtarzalność i specyficzność technik identyfikacji i detekcji

Nie dotyczy

3.21. Opis geograficznego zasięgu i naturalnego środowiska organizmu wraz z informacją o naturalnych wrogach, pasożytach, konkurentach, symbiontach i gospodarzach

Thaumatococcus daniellii — krzew rosnący w Afryce Zachodniej. S. soganandinum — Ameryka Środkowa i Południowa Agrobacterium tumefaciens jest bakterią glebową

3.22. Możliwość przeniesienia informacji genetycznej do innych organizmów Krzyżowanie z innymi gatunkami użytkowymi lub dzikimi

Nie dotyczy

3.23. Stabilność genetyczna organizmów i czynniki na nią wpływające

Nie dotyczy, ponieważ w badaniach nie będą wykorzystane organizmy dawców, a tylko sekwencje DNA, które z nich pochodzą.

3.24. Cechy epidemiologiczne (patologiczne i fizjologiczne oraz ekologiczne)

a) cechy patologiczne, stosownie do istniejących norm dotyczących ochrony zdrowia ludzi lub ochrony środowiska

Nie dotyczy

b) Wymiana pokoleń w naturalnym ekosystemie; płciowe i bezpłciowe cykle reprodukcyjne

Nie dotyczy

c) zdolność do samodzielnego utrzymania się w środowisku, w tym wytwarzanie diaspor między innymi przez nasiona, spory. Specyficzne czynniki wpływające na przeżywalność i rozsiewanie

Nie dotyczy

d) patogenność: infekcyjność, toksyczność, alergenicność, nośniki (wektory) patogenów, inne wektory, wpływ na organizmy nieobjęte celowym oddziaływaniem GMO; możliwość aktywacji wirusów utajonych (prowirusów); zdolność do kolonizacji innych organizmów

Nie dotyczy

e) oporność na antybiotyki i możliwość wykorzystywania tych antybiotyków w leczeniu ludzi i zwierząt i w profilaktyce

Nie dotyczy

f) rola w procesach środowiskowych, produkcja, przemiany metaboliczne, rozkład materii organicznej, inne

Nie dotyczy

3.25. Charakterystyka wcześniej wprowadzonych wektorów

Charakterystyka wcześniej wprowadzonych wektorów

Nie dotyczy

a) sekwencja

Nie dotyczy

b) częstość mobilizacji

Nie dotyczy

c) specyficzność

Nie dotyczy

d) obecność genów nadających oporność

Nie dotyczy

3.26. Opis wcześniejszych modyfikacji genetycznych

Rośliny ziemniaka *Solanum tuberosum*, z którego pozyskano geny GT i DHN24 jak również *Thaumatococcus daniellii* — dawca genu taumatyny II, nie były wcześniej modyfikowane genetycznie. Stosowane szczepy laboratoryjne bakterii są dostępne handlowo. Mają ściśle określony genotyp.

Wektor

3. INFORMACJE O GMO

c) Charakterystyka wektora

3.27. Właściwości i źródło wektora

Wektory binarne: I. pRUR528 — został skonstruowany przez dr A. Pałuchę w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie (Szwacka i wsp., 1996, J. Appl. Genet. 37A, 126-129). Sekwencja kodująca cDNA taumatyny II została przeklonowana z wektora pUR528 (dr A.M. Ledebøer, Unilever, The Netherlands) w miejsce polilinkera wektora pROK2; ekspresja cDNA taumatyny I1 jest pod kontrolą promotora CaMV35S i terminatora genu syntazy nopalinowej (nos). wektor pośredni: pROK2 (Hilder i in., 1987, Nature 300: 160-163) — pochodzi od wektora pBI121, który należy do najwcześniej stosowanych wektorów binarnych w transformacji roślin. W swej strukturze liniowej zawiera: -sekwencje graniczne T-DNA -gen nptII — jego ekspresja kontrolowana jest przez promotor i terminator genu syntazy nopalinowej (nos) -promotor CaMV35S II. pBI121-GT::Dhn24 — został skonstruowany w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu przez docenta T. Rorata; Zgłoszenie patentowe nr. 360191

3.28. Sekwencja transpozonów, wektorów i innych niekodujących odcinków genetycznych, użytych do konstrukcji GMO i zrobienia wektorów wprowadzających oraz pozwalających na ich funkcjonowanie w GMO

Wektory binarne - pROK2 (opis pkt. 3.27) - pBI121 pBI121 jest to powszechnie używanym wektorem w transformacji roślin. Zawiera sekwencje graniczne T- DNA (tzw. prawą i lewą), gen selekcyjny warunkujący oporność na kanamycynę, gen reporterowy uidA. Ekspresja tych genów jest warunkowana sekwencjami promotorowymi: promotorem syntazy nopaliny nosi 35S CaMV. Zakończenie procesu transkrypcji warunkowane jest sygnałem poliadenylacji syntazy nopalinowej (Bevan, M. 1984, Nucl. Acids Res. 12, 871 1-8721) Wektory pośrednie pBR322 - Covarrubias, L., Cervantes, L., Covarrubias, A., Soberon, X., Vichido, 1., Blanco, A., Kupersztoch-Portnoy, Y.M. and Bolivar, F., Construction and characterization of new cloning vehicles. V. Mobilization and coding properties of pBR322 and several deletion derivatives including pBR327 and pBR328, Gene 13, 25-35, 1981; Watson, N., A new revision of the sequence of plasmid pBR322, Gene 70, 399-403, 1988.

3.29. Częstość mobilizacji wbudowanego wektora lub zdolność przenoszenia i metody określenia tych procesów

Fragment wbudowanego do chromosomu wektora (odcinek T-DNA wektora) nie ulega dalszej mobilizacji.

3.30. Informacje o tym, w jakim stopniu wektor jest ograniczony do DNA wymaganego do spełnienia planowanych funkcji

Wektory zostały tak skonstruowane, aby zminimalizować ilość DNA niepotrzebnego do procesu transgenezy. Do GMO wprowadzany jest odcinek T-DNA wektora ograniczony sekwencjami skrajnymi: LB (left border) i RB (right border). Do GMO może być wprowadzona jedna lub kilka kopii T-DNA.

GMO

3. INFORMACJE O GMO

d) Charakterystyka GMO

3.31. Informacje związane z modyfikacjami genetycznymi

a) metody modyfikacji

Do badań zostaną wykorzystane linie GM ogórka, do których zostały wprowadzone następujące cechy: - smaku słodkiego — linie z ekspresją genu taumatyny - tolerancji na niską temperaturę — linie z ekspresją genu dehidryny Owoce roślin z ekspresją genu taumatyny, na skutek obecności białka słodkiego smaku o bardzo silnym efekcie działania (10 000 razy większym od sacharozy odnosząc do molarności), są słodkie w smaku (Szwacka i wsp., 2012, Comp. Rev. Food Sci Food Safety 11: 174-186) Na podstawie oceny tolerancji na niskie temperatury roślin TI z ekspresją genu dehidryny, wykonanej w warunkach in vitro wykazano, że rośliny te mogą być tolerancyjne na niskie temperatury (Yin i wsp., 2006, Plant Sci. 170: 1 164-1 172). Transformacja metodą agroinfekcji.

b) metody konstrukcji i wprowadzenia insertu bądź insertów do biorcy lub usunięcia sekwencji

Transformacja komórek ogórka (*Cucumis sativus* L.) odbywa się metodą pośrednią z użyciem wektorów tj. *Agrobacterium tumefaciens*. Komórki *Agrobacterium* transformowane są plazmidami za pomocą elektroporacji. Komórki *E. coli* za pomocą metody szoku cieplnego

c) opis insertu i/ lub konstrukcji wektora

Insert zawiera: Linie z genem taumatyny -cDNA taumatyny II, którego ekspresja jest kontrolowana przez promotor CaMV35S i terminator genu syntazy nopalinowej nos -gen nptII, którego ekspresja jest kontrolowana przez promotor i terminator genu syntazy nopalinowej nos Linie z genem dehidryny - gen DHN24 składający się z 2 eksonów, intronu i terminatora wraz z promotorem genu glukozylotransferazy antocyjanidynowej (Korobczak i wsp, 2005, Acta Physiologiae Plantarum 24: 173 185). - gen nptII, którego ekspresja jest regulowana przez promotor i terminator genu syntazy nopalinowej nos

d) metody użyte do selekcji

Do selekcji transgenicznych linii ogórka wykorzystany został gen oporności na kanamycynę (nptII) (Szwacka i in., 1996, J. Appl. Genet. 37A: 126-129).

e) czystość insertu - obecność sekwencji o nieznanym funkcjach

Nie stwierdzono sekwencji o nieznanym funkcjach.

f) sekwencja, lokalizacja i funkcja wprowadzonych/ usuniętych/ zmienionych fragmentów DNA, ze szczególnym odniesieniem do jakiegokolwiek znanej szkodliwej sekwencji

Nie dotyczy

g) umiejscowienie insertu w komórce (chromosomy, mitochondria, chloroplasty, cytoplazma) i metody identyfikacji umiejscowienia insertu

Rośliny Transgen wbudowywany jest do chromosomu - DNA jądrowego, w procesie rekombinacji niehomologicznej. Bakterie Lokalizacja plazmidów w komórkach bakteryjnych jest pozachromosomowa.

h) wielkość usuniętego fragmentu i jego funkcje

Nie dotyczy

3.32. Informacje o uzyskanym GMO

Informacje o uzyskanym GMO

Uzyskane GMO stanowią rośliny transgeniczne zawierające odpowiednie T-DNA oraz laboratoryjne szczepy bakterii zawierające odpowiednie plazmidy. Rośliny GM ogórka zostały uzyskane w Katedrze Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

a) opis zmienionych cech genetycznych i fenotypowych GMO

Rośliny: *Cucumis sativus* L.: • z ekspresją genu taumatyny II - oporność na kanamycynę; zmienione właściwości organoleptyczne owocu (wprowadzona cecha smaku słodkiego) • z ekspresją genu Dhn24 — oporność na kanamycynę, zmiana ekspresji badanych genów. Podwyższona tolerancja na stres chłodu w warunkach fitotronowych. Bakterie: charakteryzują się opornością na antybiotyk kanamycynę.

b) struktura i liczba kopii każdego wektora lub dodanego kwasu nukleinowego w GMO

Transgen integrowany jest z chromosomem roślinnym jako struktura liniowa. W roślinach transgenicznych może występować od jednej do kilku kopii obcego genu. Ilość kopii i poprawność integracji jest sprawdzana metodą hybrydyzacji DNA-DNA wg Southern'a. Dotyczy to wszystkich gatunków roślin. W komórce bakteryjnej struktura plazmidu jest kolista, nie zintegrowana z chromosomem. Liczba kopii - od kilku do kilkuset.

c) stabilność genetyczna i fenotypowa

Transgeny są stabilne - nie ulegają samorzutnej mobilizacji. Ekspresja transgenów jest w większości przypadków stabilna. Transgeny są dziedziczone w kolejnych pokoleniach i ulegają rozszczepieniu zgodnie z prawami Mendla. Dotyczy to wszystkich gatunków roślin. W komórkach bakteryjnych plazmidy przekazywane są do komórek potomnych podczas podziału

d) charakterystyka i poziom ekspresji nowego materiału genetycznego; metody i czułość pomiaru; części organizmu, gdzie występuje ekspresja (np. korzeń)

W przypadku linii z genem taumatyny II, wprowadzone sekwencje DNA ulegają ekspresji na zróżnicowanym poziomie, praktycznie we wszystkich tkankach transgenicznych roślin ogórka. W przypadku Linii z genem dehydryny 24 — ekspresja wprowadzonego genu zachodzi pod wpływem bodźca środowiskowego, w skórcie tkanek roślinnych (Yin i wsp., 2006, *Plant Sci.* 170: 1164- 1 172). Poziom ekspresji i aktywność wprowadzonych genów są stosunkowo proste do śledzenia. Ekspresję można śledzić wykonując analizy molekularne jak RT-PCR, Western-blot. Są to bardzo czułe standardowe metody analityczne

e) funkcja nowego białka

Taumatyna II — wywoływanie wrażenia smaku słodkiego u człowieka. Należy do białek GRAS (ang. Generally Recognized as Safe) (Higginbotham i wsp., 1983. *Food Chem. Toxicol.* 21: 815) i jest wykorzystywana w technologii produkcji tak zwanych „słodzików” (Etheridge, 1984. In: Witty M., Higginbotham J.D., eds., p. 47). Dehydryna — białko odpowiedzi stresowej podczas suszy; ma charakter białka ochronnego.

f) techniki identyfikacji i detekcji wprowadzonej sekwencji, wektorów i białka oraz metabolitów będących produktami wprowadzonego genu

Wprowadzone do komórki roślinnej T-DNA identyfikowane jest metodą PCR i/lub metodą hybrydyzacji DNA-DNA (metoda Southern'a). Do wykrywania DNA plazmidowego w komórkach bakteryjnych stosuje się analizę restrykcyjną oraz metodę PCR.

g) czułość, wiarygodność (w rozumieniu ilościowym) i specyficzność technik identyfikacji i detekcji

Wymienione powyżej metody detekcji należą do bardzo czułych i są zaliczane do standardowych w tej dziedzinie.

h) zmiany współczynnika rozmnożenia, zdolności do rozsiewania i przeżywalności GMO w porównaniu do organizmu biorcy

Plonowanie linii GM z ekspresją genu taumatyny II było badane w trzech kolejnych sezonach uprawy polowej (2005 — 2007, Decyzja Nr 3/2003. z dnia 03. 04. 2003) i wykazano, że było ono porównywalne z plonowaniem formy wyjściowej dla linii GM (Kiełkiewicz i wsp., 2012, Scientia Hort. 143: 82-91). Plonowanie linii GM z ekspresją genu dehydriny 24 nie było badane w warunkach polowych. Wprowadzenie transgeny może zmienić zdolności do rozmnażania generatywnego i zdolności do przetrwania roślin transgenicznych w warunkach polowych, w porównaniu z formą wyjściową dla GMO. Wprowadzenie transgeny nie zwiększy przewagi selekcyjnej w przypadku uwolnienia GMO do środowiska naturalnego. Zdolność do przetrwania bakterii w warunkach laboratoryjnych zależy od rodzaju wprowadzonego wektora (geny selekcyjne).

3.33. Opis wcześniejszych uwolnień GMO

Linie z ekspresją genu taumatyny II: Numery decyzji 1. Nr 5/2001 z dnia 21 05 2001 2. Nr 1/2002 z dnia 12 05 2002 3. Nr 3/2003. z dnia 03. 04. 2003 •Miejscem uprawy roślin GM ogórka było Pole Doświadczalne Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa — Wilanów •Doświadczenia przebiegały zgodnie z założeniami technicznej dokumentacji. Wzrost i rozwój roślin przebiegał prawidłowo. Po okresie wegetacji materiał roślinny uległ zniszczeniu przez rozdrobnienie i wymieszanie z glebą podczas prac agrotechnicznych. •Nie stwierdzono negatywnego wpływu roślin transgenicznych ogórka na zdrowie ludzi i środowisko. Linie z ekspresją genu dehydriny Zamknięte użycie GMO, nr wniosku 01-66/2006

3.34. Ustalenia zdrowotne

Ustalenia zdrowotne

Bezpieczeństwo żywieniowe linii z ekspresją genu taumatyny 11 zostało potwierdzone w kilku niezależnych testach przeprowadzonych na zwierzętach laboratoryjnych (Szwacka i wsp., 2012, Comp. Rev. Food Sci Food Safety II: 174-186).

a) efekty toksyczne lub alergiczne GMO lub produktów ich metabolizmu

Linie taumatynowe wytwarzają białko uznane za oddziałujące z receptorem smaku słodkiego u człowieka, uznane za GRAS (Generally Recognized as Safe). Linie dehydrynowe wytwarzają białko dehydriny, która nie jest białkiem obcym dla ogórka. Używane szczepy bakteryjne nie są patogenne, a ich produkty nie są toksyczne i nie staną się toksyczne. Alergenność tych szczepów jest bardzo mało prawdopodobna.

b) produkty stwarzające zagrożenie

Nie dotyczy

c) porównanie GMO z dawcą, biorcą lub organizmem rodzicielskim (o ile występuje), w odniesieniu do patogenności

Nie dotyczy

d) zdolność do kolonizacji

Nie dotyczy

e) patogenność organizmu dla ludzi, którzy są immunokompetentni (o sprawnym układzie odpornościowym)

Nie jest patogenny.

f) wywołane dolegliwości i mechanizm patogenności, włączając inwazyjność i złośliwość (zjadliwość) choroby

Nie dotyczy

g) zaraźliwość (zakaźność)

Nie dotyczy

h) dawka infekcyjna

Nie dotyczy

i) zakres gospodarzy i możliwość ich zmiany

Nie dotyczy

j) możliwość przeżycia poza organizmem gospodarza

Nie dotyczy

k) obecność wektorów lub możliwość rozprzestrzeniania się

Nie dotyczy

l) stabilność biologiczna

Nie dotyczy

m) formy odporne na antybiotyki

Nie dotyczy

n) możliwość leczenia

Nie dotyczy

Warunki uwolnienia

4. Informacje dotyczące warunków zamierzonego uwolnienia GMO do środowiska

a) Informacje o zamierzonym uwolnieniu do środowiska

4.1. Opis proponowanych zamierzonych uwolnień do środowiska, zawierający zamierzone i przewidywane skutki

Planowane jest założenie doświadczenia w 1 lokalizacji Lokalizacja - pole doświadczalne przy Instytucie Genetyki Roślin PAN, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań, województwo wielkopolskie (załącznik 5A). Doświadczenia prowadzone będą zgodnie z ustaloną metodyką (załącznik nr 2) w polu, od maja do sierpnia. Obiektem doświadczenia będzie 9 linii GM ogórka porównywane z kontrolą, którą jest odmianą wyjściową dla linii GM (stara odmiana połowa Borszczagowski). Doświadczenie założone będzie metodą losowanych bloków, w III powtórzeniach (powtórzenia biologiczne mają wykazać czy „stanowisko” uprawy ma wpływ na status genetyczny rośliny). W każdym bloku będzie 10 rzędów: 3 dla linii ogórka z genem taumatyny, 6 (po 2 pokolenia dla 3 linii) dla linii z genem dehydryny 24, 1 dla roślin kontrolnych (odrębnych od roślin ze strefy buforowej), razem 8 roślin dla danej kombinacji (ważne dla przeprowadzenia analizy statystycznej wyników analiz). Uprawa będzie założona z rozsady przygotowanej w szklarni (załącznik 5B), wysadzanej w pole ściółkowane i przykryte czarną folią, w rozstawie (1,2m x 0,5m). Uprawa będzie obsadzona roślinami kontrolnymi (nie GM) przy zachowaniu tych samych odległości. Sadzonki linii GM i kontroli przygotowuje się w ciepłej szklarni, wysiewając podkiełkowane nasiona do plastikowych doniczek (o średnicy 10 cm) napełnionych substratem torfowym. Uzyskana rozsada, w stadium dwóch liści właściwych, będzie przesadzana w pole. Gleba przed wysadzeniem rozsady będzie przygotowana zgodnie z ogólnymi zasadami wymaganymi przy uprawie ogórków uprawianych w polu ściółkowanym i przykrytym czarną folią. W czarnej folii wykonane zostaną otwory o rozstawie 1,2m x 0,5m (1 roślina = 0,6 m²). Przewidziane jest wysadzenie 240 roślin, stąd pole powierzchni uprawy GMO wyniesie 160 m².

4.2. Dane dotyczące zamierzonego uwolnienia do środowiska

a) termin zamierzonego uwolnienia

| | |
|----------|------------|
| początek | 2014-05-10 |
| koniec | 2014-08-31 |

czas uwolnienia

10 — 15 maja 2014 (rozpoczęcie) — koniec sierpnia 2014 (zakończenie)

b) charakter zamierzonego uwolnienia (jednorazowe, wielokrotne, czasowe)

Jednorazowe

4.3. Przygotowanie miejsca i jego charakterystyka

Teren ogrodzony, typowy ekosystem rolny, przygotowany standardowo do uprawy roślin zbożowych, pastewnych i warzywnych. Gleba będzie nawieziona i zaorana jesienią 2013 r., na wiosnę 2014 r. wzniesiona glebogryzarką i wyrównana. W kolejnym etapie zostanie nawieziona ściółka, pokryta następnie czarną folią. Poletko doświadczalne i strefa buforowa będą oznaczone odpowiednimi tablicami ostrzegawczo-informacyjnymi. Na wydzielonej części pola będą rosły tylko doświadczalne linie ogórka GM oraz kontrolne ze strefy buforowej. Zachowana będzie izolacja przestrzenna 1000 m dla innych potencjalnych upraw ogórka.

4.4. Metody używane do uwolnienia do środowiska

Ręczne wysadzanie sadzonek roślin ogórka.

4.5. Planowana ilość uwolnionego do środowiska GMO

240 roślin

4.6. Zmiany siedliska (typ i metoda uprawy, nawadnianie lub inne działania i ich znaczenie)

Nie dotyczy

4.7. Sposoby ochrony pracowników w czasie zamierzonego uwalniania GMO do środowiska

Nie występują żadne zagrożenia.

4.8. Traktowanie terenu po zakończeniu uwolnienia do środowiska GMO (typ i metoda uprawy, nawadnianie lub inne działania i ich znaczenie)

Podczas eksperymentu teren będzie kontrolowany co najmniej dwa razy w tygodniu. Po zakończeniu uwolnienia i zebraniu resztek roślinnych, poletko zostanie zaorane i monitorowane co najmniej dwa razy w tygodniu do końca kolejnego sezonu wegetacyjnego.

4.9. Przewidywane techniki eliminacji lub inaktywacji GMO po zakończeniu eksperymentu

Po dokonaniu obserwacji fenotypowych, materiał roślinny (młode owoce w stadium handlowym, 4-10 cm długości i masie średnio 5 dag oraz młode liście o maks. szerokości 5 cm, pobrane w tym samym czasie co owoce) zostanie zebrany do analiz molekularnych. Bezpośrednio po zebraniu materiał zostanie zamrożony w ciekłym azocie i w stanie zamrożenia przetransportowany w zamkniętych pojemnikach do zamrażarki (temp. -80°C) Instytutu Genetyki Roślin. Zamrożony materiał będzie gotowy do analiz molekularnych. Pozostałe po uprawie polowej resztki

4.10. Informacje i wyniki dotyczące wcześniejszego wprowadzenia do środowiska GMO, zwłaszcza w różnych skalach i różnych ekosystemach

Nie dotyczy

Środowisko

5. CHARAKTERYSTYKA ŚRODOWISKA, DO KTÓREGO MA NASTĄPIĆ ZAMIERZONE UWOLNIENIE GMO

5.1. Jednostka podziału administracyjnego, lokalizacja geograficzna

Jednostka podziału administracyjnego, lokalizacja geograficzna

Pole doświadczalne o pow. ok. 3 ha przy Instytucie Genetyki Roślin PAN, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań, województwo wielkopolskie. Pole doświadczalne w ramach działki nr 3/2 w Poznaniu o pow. całk. 8,4769 ha, obręb Podolany (wg Rejestru Gruntów).

Województwo

wielkopolskie

5.2. Wielkość terenu

Teren pola doświadczalnego IGR liczy łącznie ok. 3 ha. Prowadzone są na nim uprawy następujących gatunków roślin: groch, zboża - jęczmień, pszenica, pszenżyto, trawy pastewne — kostrzewa i życica, rośliny tzw. energetyczne — miskant (trawa) i wierzba. Powierzchnia terenu, na którym będzie prowadzone zamierzone uwolnienie GMO do środowiska wyniesie razem 288 m² — w tym 160 m² zajmowanych przez doświadczalne rośliny GM ogórka i strefę buforową o szer. 2 m, okalająca poletko GM. Roślinami wysadzonymi w strefie buforowej będą ogórki nie zmodyfikowane genetycznie. Rośliny będą uprawiane w izolacji przestrzennej min. 1000 ni od innych upraw roślin ogórka. W sąsiedztwie pola doświadczalnego IGR przeważają tereny przemysłowe i handlowo-usługowe, zarośla (ruiny starego fortu) oraz tereny mieszkaniowe z zabudową wielorodzinną. Nieliczne domy jednorodzinne posiadają niewielkie ogródki rekreacyjne z roślinami ozdobnym i, drzewam i iglastymi lub owocowymi). W najbliższym sąsiedztwie znajduje się również pole doświadczalne IHAR wykorzystywane do upraw rzepaku.

5.3. Fizyczne lub biologiczne pokrewieństwo uwalnianego organizmu z ludźmi lub innymi ważnymi organizmami (gatunki pokrewne dzikie i użytkowe)

Uwalniane rośliny GM są morfologicznie i biologicznie pokrewne z uprawnymi formami ogórka.

5.4. Sąsiedztwo ważnych biotopów lub obszarów chronionych

Brak sąsiedztwa istotnych biotopów i obszarów chronionych w wyżej wymienionej lokalizacji.

5.5. Odległość od najbliższego obszaru chronionego wody pitnej i obiektów wyróżniających się cennymi walorami przyrodniczymi

Nie dotyczy

5.6. Charakterystyka klimatyczna regionu

Warunki klimatyczne typowe dla rejonów uprawy ogórka w Polsce

5.7. Charakterystyka geograficzna, geologiczna i gleboznawcza

Warunki geologiczno-glebowe typowe dla rejonów uprawy ogórka. Grunty orne pola doświadczalnego IGR PAN zaliczają się do IV klasy.

5.8. Flora i fauna, włączając rośliny uprawne, żywy inwentarz i gatunki wędrowne

Flora i fauna charakterystyczna dla warunków klimatycznych środkowej Europy.

5.9. Opis ekosystemów będących i niebędących celem wprowadzenia, na których może wystąpić efekt

W warunkach doświadczeń polowych nie modeluje się ekosystemu. Doświadczenia mają charakter jednostkowy i obejmują jeden gatunek roślin uprawnych.

5.10. Porównanie naturalnego środowiska organizmu biorcy z proponowanym terenem uwolnienia do środowiska

Środowisko identyczne.

5.11. Informacja o planowanych zmianach zagospodarowania terenu i planach rozwoju regionu, które mogą mieć wpływ na środowiskowe oddziaływanie zamierzonego uwolnienia

Nie planuje się zmian zagospodarowania terenu.

5.12. Liczebność społeczności lokalnej w zależności od obszaru zamierzonego uwolnienia

Nie określona, ze względu na brak jakiegokolwiek zagrożenia.

5.13. Główne kierunki działalności gospodarczej społeczności lokalnej, korzystającej z naturalnych zasobów obszaru

Pracownicy IGR PAN - prace badawcze w zakresie genetyki, fizjologii i biotechnologii roślin uprawnych. Społeczność lokalna w sąsiedztwie IGR PAN - zajęcia pozarolnicze, gł. działalność handlowo- usłu owa oraz produkcja przemysłowa.

Oddziaływanie

6. Informacje o oddziaływaniach między GMO a środowiskiem

a) Charakterystyka oddziaływań środowiska na przeżycie, rozmnażanie i rozpowszechnianie GMO

6.1. Cechy biologiczne mające wpływ na przetrwanie, rozmnażanie i rozprzestrzenianie

Cechy biologiczne, które mogą mieć wpływ na przeżycie, rozmnażanie i rozprzestrzenianie się genetycznie zmodyfikowanego ogórka nie różnią się niczym od odpowiadającego jego cechom nie zmodyfikowanego ogórka

6.2. Cechy biologiczne mające wpływ na przetrwanie, rozmnażanie i rozprzestrzenianie

Przedmiotem badań są transgeniczne linie ogórka, do których wprowadzono geny o znaczeniu użytkowym: -taumatyny II, kodujący białko, które wywołuje u człowieka wrażenie słodkiego smaku — Szwaacka M. i in. (2002) *Acta Physiologiae Plantarum* 24 (2): 173 — 185. -dehydryny 24, kodujący białko odpowiedzi stresowej (stres chłodu); ma ono charakter białka ochronnego — Yin Z. (2006) *Plant Sci.* 170: 1164- 1 172. Linie transgeniczne podlegają wpływom środowiska w takim samym stopniu jak odmiany nietransgeniczne.

6.3. Wrażliwość na specyficzne warunki

Doświadczalne linie ogórka są wrażliwe na niesprzyjające warunki uprawy np. chłody, wysoką wilgotność powietrza i gleby, oraz naturalnie występujące choroby i szkodniki. Nie zauważono różnic w reagowaniu na te czynniki między ogórkiem zmodyfikowanym genetycznie i nie zmodyfikowanym. Planowana uprawa będzie prowadzona bez użycia herbicydu — brak jest herbicydu do upraw ogórka.

b) Oddziaływanie ze środowiskiem

6.4. Przewidziane środowisko GMO

Środowisko uprawy genetycznie zmodyfikowanego ogórka będzie identyczne jak dotychczasowych odmian uprawnych ogórka.

6.5. Wyniki badań nad zachowaniem i charakterystyką GMO w kontrolowanych warunkach wzrostu, takich jak laboratoryjnie odtworzone ekosystemy, komory wzrostu, cieplarnie i inne

Badania roślin GM ogórka w warunkach szklarniowych dają gwarancję braku jakiegokolwiek negatywnego wpływu na otoczenie.

6.6. Zdolność przenoszenia materiału genetycznego

a) z GMO do organizmów występujących w ekosystemie

Nie ma możliwości przeniesienia transgeny do naturalnych czy dzikich populacji, ponieważ brak jest w Polsce roślin spokrewnionych. Ogórki nie krzyżują się z innymi gatunkami roślin dyniowatych

b) z organizmów występujących w ekosystemie do GMO

Nie ma naturalnych roślin, które mogłyby zapylić ogórki. Zapylenie przez inną odmianę jest możliwe, ale nie pociąga za sobą żadnych negatywnych skutków.

6.7. Prawdopodobieństwo selekcji, po uwolnieniu do środowiska, prowadzące do nieoczekiwanej ekspresji niepożądanych cech w GMO

Nie stwierdzono i nie przewiduje się nieoczekiwanego wystąpienia cech innych niż zakładane.

6.8. Stosowane środki dla zabezpieczenia i sprawdzenia stabilności genetycznej; opis mechanizmów genetycznych, które mogą zapobiegać lub minimalizować rozprzestrzenianie się materiału genetycznego; metody sprawdzania stabilności genetycznej

Metody weryfikujące stabilność genetyczną. Southern i northern blot są używane rutynowo do analizy genomowego DNA transgeniczných roślin.

6.9. Szlaki biologicznego rozprzestrzeniania, znane lub potencjalne sposoby rozsiewania, włączając wdychanie, przyjmowanie pokarmu, przenikanie przez glebę lub skórę, inne

Nie dotyczy

6.10. Opis ekosystemów, do których GMO mógłby być przeniesiony

Ogórek w Polsce nie występuje poza ekosystemem rolniczym.

c) Potencjalny wpływ na środowisko

6.11. Możliwość nadmiernego rozmnażania w środowisku

Samodzielnemu przeżyciu i rozprzestrzenianiu się genetycznie zmodyfikowanych roślin zapobiega likwidacja na polu resztek z roślin doświadczalnych oraz zniszczenie roślin dwuliściennych w uprawach następczych.

6.12. Konkurencyjność GMO w stosunku do niezmodyfikowanych biorców lub organizmów rodzicielskich

Nie dotyczy

6.13. Identyfikacja i opis organizmów objętych celowym oddziaływaniem GMO

Nie dotyczy

6.14. Przewidywany mechanizm i rezultaty oddziaływania między GMO a organizmem objętym celowym oddziaływaniem GMO

Nie dotyczy

6.15. Identyfikacja i opis innych organizmów, na które mogą wpływać niezamierzone oddziaływania

Nie dotyczy

6.16. Prawdopodobieństwo zmian biologicznych oddziaływań lub zmiany gospodarza

Nie dotyczy

6.17. Znane lub przewidywane wpływy na organizmy nieobjęte celowym oddziaływaniem GMO w środowisku, zmiany konkurencyjności w stosunku do ofiar, gospodarzy, symbiontów, wrogów, pasożytów i patogenów

Nie dotyczy

6.18. Możliwy wpływ na środowisko, wynikający z wzajemnego oddziaływania GMO i organizmów nieobjętych celowym oddziaływaniem GMO

Nie dotyczy

6.19. Możliwe pozytywne i negatywne cechy u innych krzyżujących się gatunków, które mogą ujawniać się na skutek przeniesienia genów z GMO

Nie dotyczy

6.20. Znany lub przewidywany udział w procesach biogeochemicznych

Nie dotyczy

6.21. Inne potencjalnie możliwe interakcje i zależności ze środowiskiem biotycznym i abiotycznym

Nie dotyczy

Pracownicy

7. INFORMACJE DOTYCZĄCE PRZYGOTOWANIA ZAWODOWEGO PRACOWNIKÓW

7.1. Imię i nazwisko oraz informacje o kwalifikacjach fachowych osoby odpowiedzialnej za działanie polegające na zamierzonym uwolnieniu GMO

Dane pracownika

| | |
|-----------------------|----------|
| Tytuł | Dr |
| Imię | Tomasz |
| Nazwisko | Pniewski |
| Telefon | |
| Faks | |
| Adres e-mail | |
| Kwalifikacje zawodowe | |

7.2. Liczba osób zatrudnionych przy realizacji projektu (lista imienna)

Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań dr Tomasz Pniewski Teresa Szcześniak Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW, Warszawa (doświadczenie polowe przeprowadzone zostanie we współpracy z Katedrą Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW , w której zostały uzyskane linie GM ogórka): dr hab. Maria Szwacka dr Magdalena Pawelkowicz mgr Paweł Osipowski (doktorant) mgr Michał Wojcieszek (doktorant)

7.3. Wykształcenie i doświadczenie pracowników (w tym odbyte szkolenia)

Osoby biorące udział w badaniach z wykorzystaniem GMO zostały przeszkolone do praktycznej pracy z GMO oraz mają wieloletnie doświadczenie w pracy z GMO (dr Tomasz Pniewski — 20 lat, Teresa Szcześniak — 5 lat). Dr Tomasz Pniewski odbył również szkolenie pt. Warsztaty dla hodowców GMO — IHAR Radzików 26-27.10.2004. Pracownicy korzystają z odzieży ochronnej i rękawiczek jednorazowych. Pracownicy i doktoranci podlegają obowiązkowym badaniom lekarskim.

Tryb kontroli

8. INFORMACJE DOTYCZĄCE TRYBU KONTROLI I MONITOROWANIA PROCESU UWALNIANIA GMO DO ŚRODOWISKA

a) Informacje o technice monitorowania

8.1. Metody monitorowania GMO i efektów uwolnienia do środowiska

Metody biologii molekularnej: Southern'a, northern blot, PCR.

8.2. Specyficzność, czułość i wiarygodność technik monitorowania

Wysoka czułość, specyficzność, powtarzalność

8.3. Techniki detekcji materiału genetycznego przenoszonego do innych organizmów

Oporność na antybiotyki oraz techniki: Southern blot, northern blot i PCR.

8.4. Czas trwania i częstotliwość monitorowania

Obszar pól doświadczalnych będzie monitorowany regularnie (2 razy w tygodniu), po ukończeniu badań polowych zgodnie z metodyką (2 razy w tygodniu do kopca kolejnego sezonu wegetacyjnego).

b) Kontrola zamierzonego uwalniania do środowiska

8.5. Metody i procedury zmierzające do uniknięcia lub zminimalizowania rozprzestrzeniania GMO poza miejscem uwolnienia do środowiska (izolacja przestrzenna lub mechaniczna)

Izolacja przestrzenna— min. 1000 ni.

8.6. Metody i procedury mające na celu ochronę miejsca uwolnienia GMO przed wtargnięciem osób nieupoważnionych

Miejsce uwolnienia GMO i strefa buforowa będą oznaczone odpowiednimi tablicami ostrzegawczo-informacyjnymi. Teren pól doświadczalnych Instytutu Genetyki Roślin jest zamknięty i monitorowany przez 24 godziny. Utworzona zostanie lista osób upoważnionych do kontrolowania miejsca uwolnienia GMO.

8.7. Metody i procedury ochrony miejsca uwolnienia przed innymi organizmami

Specjalna ochrona nie jest konieczna

c) Izolacja przestrzenna

8.8. Planowana odległość od gatunków pokrewnych, zdolnych do krzyżowania się, dzikich i uprawnych

Izolacja przestrzenna — min. 1000 m.

8.9. Metody zapobiegania niekontrolowanemu rozprzestrzenianiu się diaspor i pyłku

Izolacja przestrzenna - min. 1000 m). Strefa buforowa (z roślinami ogórka nie-GM) wokół miejsca uwolnienia GMO o szerokości 2 m.

d) Plany reagowania na zagrożenie

8.10. Metody i procedury kontroli GMO, w| przypadku nieoczekiwanego rozprzestrzenienia

Metody biologii molekularnej (metoda Southern'a, northern blot, PCR).

8.11. Plany ochrony zdrowia ludzi i środowiska, w przypadku wystąpienia niepożądanych efektów

Nie dotyczy

8.12. Metody postępowania z GMO, stwarzającym zagrożenie (unieczynnienie, usunięcie ze środowiska)

Nie dotyczy

8.13. Metody eliminacji: roślin, zwierząt, gleby, inne, narażonych na kontakt z GMO po lub w trakcie rozprzestrzeniania

Nie dotyczy

8.14. Metody izolacji obszarów zagrożonych rozprzestrzenieniem się GMO

Nie dotyczy

Odpady

9. INFORMACJE DOTYCZĄCE POSTĘPOWANIA Z ODPADAMI

9.1. Rodzaj wytwarzanych odpadów

Części zielone (liście, pędy, wąsy czepne) i korzenie.

9.2. Oczekiwana ilość odpadów

80 kg suchej masy odpadów.

9.3. Możliwe zagrożenia

Nie dotyczy

9.4. Opis planowanego postępowania z odpadami, uwzględniający metody bezpiecznej dla zdrowia ludzi i środowiska dezaktywacji odpadów

Wysuszenie odpadów i następnie ich utylizacja przez zautoklawowanie lub spalenie.

Poprzednie uwolnienia

10. INFORMACJE O WYNIKACH POPRZEDNICH ZAMIERZONYCH UWOLNIEŃ GMO DO ŚRODOWISKA

Dane o poprzednich uwolnieniach

Informacje o wynikach poprzednich zamierzonych uwolnień GMO do środowiska

1. Decyzja Nr 5/2001 z dnia 21 05 2001 2. Decyzja Nr 1/2002 z dnia 12 05 2002 3. Decyzja Nr 3/2003. z dnia 03. 04. 2003

a) Data wydanej zgody

Numer wydanej zgody

Początek

Koniec

Czas uwolnienia

.....
b) Miejsce wprowadzenia

Pole Doświadczalne Katedry Roślin Warzywnych
i Leczniczych Szkoły Głównej Gospodarstwa
Wiejskiego, Warszawa — Wilanów

c) Cel wprowadzenia

Ocena jakościowa wybranych linii GM ogórka (*Cucurbita pepo* L.) z genem taumatyny II.

d) Obserwacje po wprowadzeniu

W czasie wzrostu roślin prowadzono obserwacje fenologiczne, w oparciu o które nie stwierdzono żadnych zmian fenotypowych, przy porównaniu roślin GM z kontrolą (rośliny nie GM). Doświadczenie przebiegało zgodnie z wcześniejszym harmonogramem. Nie stwierdzono żadnych niezgodności.

e) Wnioski z poprzedniego wprowadzenia

Doświadczenia przebiegały zgodnie z założeniami technicznej dokumentacji. Wzrost i rozwój roślin przebiegał prawidłowo. Po okresie wegetacji materiał roślinny uległ zniszczeniu przez rozdrobnienie i wymieszanie z glebą podczas prac agrotechnicznych.

f) Rezultaty wprowadzenia związane z ryzykiem dla zdrowia ludzi i środowiska

Nie stwierdzono.

g) Wnioski dotyczące kumulatywnego wpływu na zdrowie ludzi i środowisko

Nie stwierdzono niekorzystnego wpływu roślin GM ogórka na zdrowie ludzi i środowisko naturalne.

Komentarze

11. KOMENTARZE I UWAGI DODATKOWE, INNE INFORMACJE, UZNANE PRZEZ UZYTKOWNIKA ZA WAŻNE DLA ZACHOWANIA BEZPIECZEŃSTWA

Komentarze i uwagi dodatkowe

Brak

Załączniki

12. ZAŁĄCZNIKI

| | |
|---|--|
| 1) Ocena zagrożenia przygotowana dla uwalnianych organizmów genetycznie zmodyfikowanych | 02-12_2013_wniosek.pdf |
| 2) Dokumentacja związana z opracowaniem oceny zagrożenia wraz ze wskazaniem metod przeprowadzenia tej oceny | 02-12_2013_ocena.pdf |
| 3) Techniczna dokumentacja zamierzonego uwolnienia | 02-12_2013_dokumentacja_techiczna.pdf |
| 4) Program działania w przypadku zagrożenia dla zdrowia ludzi lub dla środowiska związanego z zamierzonym uwolnieniem | 02-12_2013_awaria.pdf |
| 5) Mapa wektora | 02-12_2013_wektory.pdf |
| 6) Plany pól doświadczalnych | 02-12_2013_plan.pdf |
| 7) Streszczenie wniosku | SNIF_ogórek Instytut Genetyki Roslin PAN.pdf |

DOKUMENTY DODAWANE PRZEZ PRACOWNIKA MINISTERSTWA ŚRODOWISKA

| | |
|------------------|-----------------------------|
| Nazwa załącznika | Data upublicznienia wniosku |
| Załącznik | 02-12_2013_Data.doc |

