

Skickas till:
genteknik@jordbruksverket.se

A. ALLMÄNNA UPPGIFTER

A.1. Ansökningsuppgifter

a) Ansökningsnummer – fylls i av Jordbruksverket 4.6.18-03359/2021	b) Datum för mottagande av ansökan – fylls i av Jordbruksverket 2021-02-24
c) Projektets namn Potatis med förändrad resistens mot patogener	
d) Planerad utsättningsperiod 2021-2025	

A.2. Sökanden (företag, institution eller motsvarande)

Namn Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU. Institutionen för växtskyddsbiologi, P. O Box 102, 230 53, Alnarp.
--

A.3. Planerade utsättningar på annat håll

Planeras samma utsättning av genetiskt modifierade växter på annat håll inom eller utanför gemenskapen och av samma sökande? <input type="checkbox"/> Ja <input checked="" type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Om "Ja", ange landskod(er)

A.4. Tidigare ansökningar på annat håll

Har samma genetiskt modifierade växt ansökts om av samma sökande för utsättning på annat håll inom eller utanför gemenskapen? <input type="checkbox"/> Ja <input checked="" type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Om "Ja", ange landskod(er)
--

SJV V 82 2009

B. INFORMATION OM DEN GENETISKT MODIFIERADE VÄXTEN

B.1. Mottagar-eller moderväxtens identitet

a) Familj Solanaceae	b) Släkte Solanum	c) Art tuberosum
d) Underart (i förekommande fall) tuberosum	e) Växsort/förädlinglinje (i förekommande fall)	f) Vedertaget namn Potatis

B.2. Redogörelse för de egenskaper som införts eller modifierats, inbegripet markögener och tidigare modifieringar

DMR6 + CHL1: Potatis som genomredigerats i DMR6 genen med hjälp av ett pDIRECT_22C konstrukt med 2 gRNA, neomycin fosfotransferas II (nptII) kodande för kanamycinresistens. Växten har sedan transformerats om med en pDIRECT_21C konstruktion med 2 gRNA för genomredigering av CHL1 genen och med hygromycin fosfotransferase (HygR) kodande för hygromycinresistens som markögen.

AsS1: Potatis som genomredigerats i AsS1 genen med hjälp av en pDIRECT_22C konstruktion med 2 gRNA, med neomycin fosfotransferas II (nptII) kodande för kanamycinresistens som markögen.

PiS1: Potatis som genomredigerats i PiS1 genen med hjälp av en pDIRECT_22C konstruktion med 2 gRNA, med neomycin fosfotransferas II (nptII) kodande för kanamycinresistens som markögen.

pDIRECT_22C_kontroll: Inte avsedd att modifiera några växtgener. Används som kontroll till övriga växter. Med Neomycin fosfotransferase II (nptII) kodande för kanamycinresistens som markögen

B.3. Den genetiska modifieringens art (kryssa i ett av alternativen)

- a) Införande av genetiskt material b) Avlägsnande av genetiskt material c) Basutbyte
 d) Cellfusion e) Annat, specificera

B.4. Om genetiskt material införs, ange ursprung och den avsedda funktionen för alla beståndsdelar av den region som är avsedd att införas

För pDIRECT_22C-kontroll gäller att T-DNA:t ser ut som följer

Från vänster till höger gränssekvens; vänster gränssekvens (LB) med ursprung *Agrobacterium tumefaciens*, polyadenyleringssekvens från cauliflower mosaic virus 35S transkript (35S_T), resistens gen som kan isoleras från olika bakterier bl.a. *Escherichia coli*; neomycin fosfotransferas II kodande sekvens (NptII), 2x35S promotor (2x35S_P) från cauliflower mosaic virus, 35S promotor (35S_P) från cauliflower mosaic virus, Csy4 ribonuclease gen från *Pseudomonas aeruginosa* som kodon-optimerats för tomat (Csy4_enz, Tsai et al., 2014), P2A ribosomal skipping sekvens (P2A), Cas 9 gen som kodon-optimerats för *Arabidopsis thaliana* (Cas9), heat shock protein terminator (HSP_T) från växter, CmYLCV promotor från yellow leaf curling virus (CmYLCV_P), Csy4 klyvnings-site (Csy4_k), gRNA Scaffold som är nödvändig för Cas9 bindning (gRNA_Scaffold), Csy4 klyvnings-site (Csy4_k), Ccdb5'UTR – 5' otranslaterad sekvens från ccdB genen, ccdB gen för selektion av *E. coli* som innehåller plasmid med rätt insert (såsom i resterande konstruktioner i ansökan), därefter en polyadenyleringssekvens från cauliflower mosaic virus 35S transkript (35S_T), samt höger gränssekvens (RB).

För resterande plasmider gäller att T-DNA:t ser ut som följer

Från vänster till höger gränssekvens; vänster gränssekvens (LB) med ursprung *Agrobacterium tumefaciens*, polyadenyleringssekvens från cauliflower mosaic virus 35S transkript (35S_T), resistens gen som kan isoleras från olika bakterier bl.a. *Escherichia coli*; för pDIRECT_22C (DMR6, AsS1, PiS1); neomycin fosfotransferas II kodande sekvens (NptII), för pDIRECT_21C (CHL1) istället hygromycin fosfotransferas gen kodande för hygromycinresistens (HygR), 2x35S promotor (2x35S_P) från cauliflower mosaic virus, 35S promotor (35S_P) från cauliflower mosaic virus, Csy4 ribonuclease gen från *Pseudomonas aeruginosa* som kodon-optimerats för tomat (Csy4_enz, Tsai et al., 2014), P2A ribosomal skipping sekvens (P2A), Cas 9 gen som kodon-optimerats för *Arabidopsis thaliana* (Cas9), heat shock protein terminator (HSP_T) från växter, CmYLCV promotor från yellow leaf curling virus (CmYLCV_P), följt av två eller fyra repetitioner av Csy4 klyvnings-site (Csy4_k) + 20bp lång spacer (CRISPR_A/B/C eller D) + gRNA Scaffold som är nödvändig för Cas9 bindning (gRNA_Scaffold), därefter en polyadenyleringssekvens från cauliflower mosaic virus 35S transkript (35S_T), samt höger gränssekvens (RB).

Förklaring:

T-DNA:t innehåller alltså två eller fyra olika gRNA sekvenser, vardera bestående av en 20bp så kallad "spacer" (CRISPR_A/B/C eller D) samt en 96bp lång gRNA sekvens (gRNA_Scaffold). Uttrycket av de två eller fyra gRNA riktade mot olika ställen i en möjliggör deletion av genom-DNA:t mellan dessa CRISPRs. gRNA sekvenserna uttrycks som ett polycistroniskt transcript som, med hjälp av Csy4 ribonucleaset klyvs i flera bitar vid Csy_k. Csy4 och Cas9 uttrycks som ett polyprotein-RNA som när det translateras klyvs i två delar med hjälp av en P2A ribosomal skipping sekvens.

B.5. Om genetiskt material ska avlägsnas eller modifieras, ange de avlägsnade eller modifierade sekvensernas funktion

DMR6+ CHL1: Deletionerna finns i DMR6 gene och i CHL1 genen. Borttagandet av dessa regioner avser att ge icke-funktionella DMR6 och CHL1-protein

AsS1: Deletionerna finns i AsS1 genen. Borttagandet av dessa regioner avser att ge ett icke-funktionellt protein

PiS1: Deletionerna finns i PiS1-genen. Borttagandet av dessa regioner avser att ge ett icke-funktionellt PiS1-protein

pDIRECT_22C_kontroll: Ej tillämpligt

B.6. Kort beskrivning av de metoder som använts för den genetiska modifieringen

Vi har muterat/nedreglerat sensitivitetfaktorer - gener som gör växten mer känsliga för angrepp av vissa patogener. Förlorad funktion hos en sensitivitetfaktor ger recessiv resistens. För mutation har gensaxen CRISPR/Cas9 använts.

För transformation av potatis har ett binärt vektorsystem använts där sekvenser som skall överföras återfinns innanför gränssekvenser som bildar ett transfer DNA (T-DNA). De DNA mobiliserade funktionerna finns i en modifierad Ti plasmid som inte överförs till växten. För transformation av T-DNA till potatis har Agrobacterium tumefaciens innehållande vektorn använts. Transformation har skett till klippt bladvävnad och transgena skott har selekterats på antibiotika. Efter transformation har Agrobacterium avdödat med 400 mg/ml Cefotaxim.

B.7. Om mottagar- eller moderväxten är en skogsträdart, ange spridningsvägar och spridningens omfattning samt redogör för särskilda faktorer som påverkar spridningen

Ej tillämpligt

C. UPPGIFTER OM FÖRSÖKSUTSÄTTNINGEN

C.1. Utsättningens syfte (inbegripet tillgängliga relevanta uppgifter), t.ex agronomiska ändamål, hybridiseringsförsök, ändrad överlevnads- eller spridningsförmåga, test avseende effekter på mål- eller icke-målorganismer

Forskningens långsiktiga mål är att få kunskap om resistens mot patogener och hur växternas egna sensitivites- och resistensmekanismer fungerar. Detta kan i slutänden komma att leda till odlingsvärda potatissorter med motståndskraft mot potatisbladmögel och torrfläcksjuka. Detta skulle i sin tur möjliggöra en minskad användning av bekämpningsmedel vilket är positivt för såväl människors och djurs hälsa som för miljön.

I det kortare perspektivet är syftet med utsättningen att under fältförhållanden utvärdera agrikulturellt värde inklusive resistensegenskaper. Vi kommer också identifiera eventuella morfologiska avvikelser, producera fältodlat material för laboratorieförsök, och producera utsäde för nästföljande års fältförsök. Försöket är enbart ur forskningssyfte

C.2. Utsättningsplatsens lokalisering

Skåne (Kristianstad, Lomma samt Kävlinge)

C.3. Platsens storlek (m²)

<10000 m²

C.4. Relevanta uppgifter om eventuella tidigare utsättningar av samma genetiskt modifierade växt, särskilt avseende potentiell inverkan på miljön och människors hälsa

Ej tillämpligt

D. SAMMANFATTNING AV DEN POTENTIELLA INVERKAN PÅ MILJÖN AV UTSÄTTNINGEN AV DE GENETISKT MODIFIERADE VÄXTERNA I ENLIGHET MED BILAGA 1, D.2 TILL FÖRORDNINGEN 2002:1086

Ange särskilt huruvida de införda egenskaperna direkt eller indirekt kan medföra selektiva fördelar i en naturlig miljö och redogör för eventuella betydande förväntade miljöfördelar

Potatis odlas på 1% av jordbrukarealen, men cirka 20% av alla fungicider som används i Sverige sprutas på potatis. Odling av resistent potatis skulle ge stora miljöfördelar då mängden använd fungicid skulle kunna reduceras.

Potatis är inte känd som kolonisationsorganism av obearbetade ekosystem (OECD, 1997), och förekommer inte utanför fält. Våldigt sällan förekommer spillplanter av potatis i det odlade landskapet då knölar förstörs vid nästföljande års jordbearbetning, användning av herbicider samt konkurrens av efterföljande gröda. Resistens mot patogener skulle i teorin kunna ge ett övertag mot icke-resistenta potatissorter, men det finns inga uppgifter om att de patogenresistenta potatissorter som odlas idag är invasiva eller ger upphov till fler övervintrade spillplanter. En ökad resistens antas inte ge någon förändring i överlevnadsförmåga eller ökad risk för hälsa eller miljö.

E. KORT REDOGÖRELSE FÖR EVENTUELLA ÅTGÄRDER SOM VIDTAGITS AV SÖKANDE FÖR ATT KONTROLLERA RISKERNA, INBEGRIPET ISOLERING FÖR ATT BEGRÄNSA SPRIDNING, T.EX. FÖRSLAG AVSEENDE ÖVERVAKNING, ÄVEN EFTER SKÖRD

De flesta moderna potatissorter har en låg pollenfertilitet och bildning av potatisbär och frön sker mycket sällan. Enligt litteraturen är avståndet för spridning av potatispollen maximalt ett tiotal meter. För att minimera spridning av pollen till annan odlad potatis, kommer ett skyddsavstånd på minst 20 meter att hållas. Alla blomknoppar från de genetiskt modifierade växterna kommer att tas bort. Rengöring av maskiner, verktyg och transportfordon kommer att ske efter kontakt med modifierade linjer. För att efter skörd kontrollera eventuella överlevande knölar kommer annan potatis tidigast odlas på fälten då inga överliggare observerats under en odlingssäsong. Eventuella spillplanter kommer dokumenteras och destrueras.

Transport av skördad potatis kommer att ske med bil eller lastbil i tillslutna dubbla säckar. Transport kommer inte ske tillsammans med annan odlad potatis. Vid transport skall dokumentation, där det framgår att det är GMO samt namn och telefonnummer till en kontaktperson, finnas med. Skördad potatis kommer lagras i SLUs lokaler som har tillstånd för sådan verksamhet eller destrueras antingen genom förångning, autoklavering, eller frysning och komposteras eller förbränns. Analyser av material kommer att ske i SLUs lokaler och överblivna växtrester kommer att förstöras genom autoklavering eller förbränning.

F. SAMMANFATTNING AV PLANERADE FÄLTFÖRSÖK I SYFTE ATT FÅ FRAM NYA UPPGIFTER OM UTSÄTTNINGENS INVERKAN PÅ MILJÖN OCH MÄNNISKORS HÄLSA (I FÖREKOMMANDE FALL)

Ej tillämpligt