



NACIONALINIS MAISTO IR VETERINARIJOS
RIZIKOS VERTINIMO INSTITUTAS

2014-2020 metų Europos Sąjungos fondų investicijų veiksmų programos
5 prioriteto „Aplinkosauga, gamtos išteklių darnus naudojimas ir prisitaikymas
prie klimato kaitos“ 05.5.1 – APVA-V-018 priemonė
„Biologinės įvairovės apsauga“

GMO rizikos poveikio aplinkai vertinimas

studija

Tarpinė ataskaita

Vadovas Prof. Dr. (Habil. p.) Algimantas Paulauskas

Kaunas, 2020

Turinys

IVADAS	4
Tikslas.....	4
1. Situacijos apžvalga	6
1.1 Tiriamasis objektas	6
1.2 Rapsų genetinės modifikacijos.....	7
1.3 ES, nacionaliniai teisės aktų, reglamentuojančių GMO naudojimą, reikalavimai ir tarptautiniai susitarimai	8
1.4 Kitų šalių patirtis, įvertinant galimai išsivysčiusio GM rapsų paplitimo mastą	10
1.4.1. Vizitas į spontaninio GMO stebėseną vykdančias laboratorijas	10
1.4.2. Spontaninių GM augalų populiacijų stebėsenos programos sudarymo metodinės gairės.....	14
1.4.2.1. Spontaninių GM augalų populiacijų stebėjimo būdas	16
1.4.2.2. Stebėsenos vertinimo principai.....	20
1.4.2.3. Reguliavimo sistema	22
1.4.3. Spontaninių GM augalų populiacijų poveikis aplinkai. ES ir pasaulio šalių atliktų tyrimų duomenys ir rezultatai	23
2. GM rapsų, galimai išsivysčiusio Lietuvos teritorijoje, mėginių ėmimo planas	25
2.1 Mėginių ėmimo vietos	25
2.2 Standartizuota galimų GM rapsų mėginių ėmimo metodika	26
2.2.1. Medžiaga galimai GM rapsų ėminiams	26
2.2.2. Ėminio pakavimas/ žymėjimas ir surinkimo formos pildymas	27
2.2.3. Ėminių rinkimo lauke procedūra.....	27
2.2.4. Mėginių transportavimas ir saugojimas	29
3. Pirmųjų metų augalų vegetacijos metu pagal mėginių planą atlikti tyrimai	30
3.1 Augalų surinkimas	30
3.2. Mėginių analizė	33
3.2.1. Mėginių paruošimas ir nukleorūgščių ekstrakcija.....	33
3.2.2. Reagentai ir medžiagos	33
3.2.3. Įranga	33
3.3 DNR išskyrimas	34
3.3.1.DNR išskyrimas iš augalų audinių, sėklų standartiniu metodu ir valymas GeneSpin komerciniu rinkiniu	34
3.3.2. DNR valymas komerciniu GeneSpin rinkiniu	35

3.3.3. DNR išskyrimas iš sėklų, augalų lapų, kurie yra smulkios frakcijos arba juos įmanoma smulkiai sumalti, „GeneSpin“ komerciniu rinkiniu	35
3.3.4. DNR koncentracijos matavimas	36
3.4. Genetiškai modifikuotų rapsų nustatymas realaus laiko PGR metodu	38
3.4.1 Reagentai:	37
3.4.2 Įranga	37
3.5 Kiekybinis ir / ar kokybinis nustatymas (identifikavimas)	40
4. PIRMŲ METŲ REZULTATAI	41
IŠVADOS	41
REKOMENDACIJOS	41
PROJEKTO VIEŠINIMAS	41
LITERATŪROS SARAŠAS	41
PRIEDAI	54

IVADAS

Sparčiai tobulėjant biotechnologijų galimybėms vis daugiau dėmesio skiriama genetiškai modifikuotiems organizmams (GMO), jų kūrimui, auginimui, poveikiui žmogui. Genetiškai modifikuoti (GM) augalai auginami vis daugiau dėl jų didesnio derliaus, atsparumo nepalankioms aplinkos sąlygoms, tokioms kaip sausra, didelis karštis, taip pat genetiškai modifikuoti augalai turi atsparumo herbicidams geną, ko pasekoje augalai nenukenčia naudojant herbicidus ir išlaiko didesnę derlių (Parnell and Curtis, 2012.). GM augalų auginimas turi būti įvertintas ne tik šalies viduje, bet taip pat ir tarptautiniu lygiu, genetiškai modifikuoti augalai turi būti įvertinti atsižvelgiant į galimą pavojų aplinkai ir žmonių sveikatai, prieš juos teikiant rinkai arba išleidžiant į aplinką. Europos Sąjungoje (ES) GMO auginimo sąlygos, apgalvotas išleidimas į aplinką, tiekimas rinkai, produktų ženklinimas reglamentuojamas pagal Europos Sąjungos teisės aktus, tarptautinius įsipareigojimus ir nacionalinius teisės aktus

Kad genetiškai modifikuoti augalai neplistų į vietinių rūšių laukus, jie turi būti auginami tam tikru atstumu nuo kitų tos pačios ar giminingos, galinčios kryžmintis, rūšies laukų (Zünd ir kt, 2018). GMO stebėsenos planavimo procesas turėtų prasidėti nustatant galimą neigiamą tam tikrų GMO poveikį aplinkai. Pagrindinė priemonė neigiamam poveikiui nustatyti yra priežasties ir pasekmės hipotezių formulavimas. Kitas žingsnis - nustatyti prioritetus galimiems efektams ir pasirinkti atitinkamus rodiklius, parametrus ar stebėjimo objektus, kurie yra tinkami galimam neigiamam poveikiui pašalinti ar atitinkamiems apsaugos tikslams įgyvendinti (Zünd ir kt, 2018).

GMO, neatsižvelgiant į tai, ar jie į aplinką išleidžiami dideliais, ar mažais kiekiais, bandymo ar tiekimo rinkai tikslais, gali kryžmintis su kitomis giminingomis laukinėmis rūšimis ir išplisti gamtoje. Jų išnaikinimas būtų sudėtingas ir brangus. ES rinkoje leidžiama naudoti GMO (soja, rapsus, kukurūzai, medvilnė) maistui ir pašarams (EU Register..., 2020). Genetiškai modifikuotas (GM) rapsas (GT73, T45, MON 88302, MON88302xMs8xRf3, MON88302xMs8, MON88302xRf3) kelia didžiausią riziką išplisti gamtoje Lietuvoje (Paulauskas, 2008). Nesandariai vežant GM rapsą perdirbimui (biodegalai, maistas, pašarai) pakelėse gali išbyrėti, susikryžminti su sėjamuoju rapsu, svėre, dirviniu garstuku ir sudaryti naujus hibridus. Dėl mokslinių tyrimų trūkumo Lietuvoje, GMO pavojaus vertinimai nėra išsamūs, o turimos žinios fragmentiškos (Nacionalinė aplinkos apsaugos strategija, 88 str., 2015). Atsižvelgiant į išdėstytas problemas ir siekiant įvertinti esamą situaciją Lietuvoje dėl galimai išsiskėjusio GM rapso „**GMO rizikos poveikio aplinkai vertinimo studija**“ **projekto tikslas** – išnagrinėti teisės aktų, reglamentuojančių GMO naudojimą, reikalavimus, kitų šalių patirtį, įvertinti esamą galimai išsiskėjusio GM rapso Lietuvos teritorijoje situaciją ir parengti GMO rizikos poveikio aplinkai

vertinimo studiją su išvadamis ir rekomendacijomis dėl tolimesnių veiksmų siekiant stiprinti GMO rizikos poveikio aplinkai vertinimą, valdymą.

Vytauto Didžiojo universitetas projektą „GMO rizikos poveikio aplinkai vertinimo studija“ vykdo su partneriais - Lietuvos agrarinių ir miškų mokslo centru (LAMMC) ir Nacionaliniu maisto veterinarijos rizikos vertinimo institutu (NMVRVI) GMO akredituotoje laboratorijoje.

Vykdytojai - ekspertai:

VDU: Prof. dr. (HP) Algimantas Paulauskas (vadovas)

Prof. Dr. Jana Radzijeuskaja

Dr. Loreta Griciuvienė

LAMMC: Dr. Gintaras Brazauskas

Dr. Kristina Jaškūnė

Dr. Rita Armonienė

NMVRVI: Dr. Vaclovas Jurgelevičius

Žygimantas Janeliunas

1. Situacijos apžvalga

1.1. Tiriamasis objektas

Tiriamasis augalas yra aliejiniai rapsai. Tai bastutinių (*Brassicaceae*) šeimos nariai, turintys ryškiai geltonos spalvos apie 17 mm žiedus, auginami daugiausia dėl aliejinės sėklos. Jie yra radialiniai ir susideda iš keturių žiedlapių tipiškoje kryžminėje formoje, kintantį su keturiais riešutais (Parnell, and Curtis, 2012.). Rapsai auga iki 100 cm aukščio su apatiniais ir pilkšvai melsvais apatiniais lapais, o viršutiniai lapai pririša stiebą (Parnell, and Curtis, 2012). *Brassica juncea*, *Brassica napus*, ir *Brassica rapa* yra labiausiai paplitusios rapsų rūšys, naudojamos aliejaus gavyboje. Europoje daugiausiai auginama *Brassica napus* rūšis dėl jos prisitaikymo prie klimato sąlygų. Rapsų derlius mažėja, nes juos naikina patogeniniai grybai, bakterijos, vabzdžiai, stelbia piktžolės (Turrini ir kt., 2015), todėl „Monsanto Co“ kompanija (JAV žemės ūkio biotechnologijų ir genų inžinerijos bendrovė, kurią 2018 m. įsigijo „Bayer AG“) pradėjo genetiškai modifikuoti rapsus, kad jie būtų atsparūs herbicidams, sausras (Monsanto, 2013). Molekuliniam lygmenyje augalai išreiškia arba slopina genus, kai patiria šilumos ir sausros stresus, inicijuodami biocheminių, fiziologinių ir morfologinių reakcijų kaskadą, padidinančią jų tikimybę išgyventi patiriant stresą. Šimtai genų, baltymų, kiekybinių bruožų lokusų (QTL), ir mikroRNR, kaip žinoma, moduliuoja *Brassica* rūšių ar kitų svarbių augalų šilumos ir sausros reakcijas bei toleranciją, ir jie buvo aptikti genetinėmis, genomineis ir molekulineis metodais (Zünd ir kt, 2018).

Valstybinė augalininkystės tarnyba prie Žemės ūkio ministerijos (toliau – Augalininkystės tarnyba) kasmet vykdo žemės ūkio augalų, kuriuose yra didelė tikimybė aptikti GMO priemaišų, pasėlių stebėseną. Augalininkystės tarnybos tyrimų duomenimis (Valstybinė augalininkystės tarnyba. 2019), Lietuvoje nėra auginami genetiškai modifikuoti rapsai. Lietuvoje, kaip ir visoje Europos Sąjungoje, genetiškai modifikuotų kultūrų auginimas ir genetiškai modifikuotų produktų tiekimas rinkai yra griežtai kontroliuojamas. Aplinkos ministerija iki šiol nėra išdavusi nei vieno leidimo ar sutikimo auginti genetiškai modifikuotus augalus, o GMO išleidimo į aplinką kontrolė vykdoma nuolat (<http://gmo.am.lt/page?page=newsItem&id=1fdd6ea7-d228-45a4-a952-65baa34bbe8b>). Tačiau jų gali atsirasti, kuomet transportavimo iš kitų šalių metu pasklinda genetiškai modifikuotų rapsų sėklos ar žiedadulkės. 2012 metų rudenį viename iš Pakruojo rajono ūkininko laukų paimtų sėklos mėginių buvo aptikta GM rapso GT73 pėdsakų, kuris nėra leistas auginti ES (<http://www.vatzum.lt/lt/naujienos/susitikimas-su-pakruojo-rajono-rapsu-augintojais/>).

Vienas iš Nacionalinės aplinkos apsaugos strategijos tikslų biosaugos srityje yra užtikrinti, kad būtų saugiai vykdoma veikla, kurios metu yra kuriami, apdirbami, naudojami, perduodami ir išleidžiami gyvieji modifikuoti organizmai (genetiškai modifikuoti organizmai ir mikroorganizmai), atsirandantys taikant šiuolaikinę biotechnologiją ir galintys daryti neigiamą poveikį biologinės įvairovės išsaugojimui ir tausiam jos naudojimui (Nacionalinė aplinkos apsaugos strategija, 88 str., 2015). Dėl sparčiai pasaulyje kuriamų naujų genetinės modifikacijos metodų ir GMO, kuriuose pakeistas ne vienas, o keli genai, reikia stiprinti GMO rizikos stebėsenos ir kontrolės sistemą. Daug dėmesio turi būti skiriama GMO rizikos aplinkai ir žmonių sveikatai vertinimui, pagrįstam moksliniais tyrimais, užtikrinti, socialiniams ekonominiams aspektams integruoti į moksliniais tyrimais pagrįstą GMO poveikio vertinimą (Nacionalinė aplinkos apsaugos strategija, 89 str., 2015).

1.2 Rapsų genetinės modifikacijos:

GT73-MON-00073-7. Norint sukurti herbicidui „Roundup“ atsparų rapsą, į rapsų genomą buvo įvesti du genai. Vienas iš jų yra genas, gautas iš paprastosios dirvos bakterijos *Agrobacterium* giminės CP4 ir koduojantis EPSPS fermentą. Kitas yra genas iš *Ochrobactrum* antropo kamieno LBAA, kuris koduoja fermentą glifosato oksidazę (GOX). CP4 EPSPS fermentas suteikia didelę toleranciją glifosatui, todėl augalai vis tiek gali sukurti aromatinės aminorūgštis net ir pridėjus glifosato. GOX padeda skaidyti glifosatą augale. Taip augalas tampa atsparus glifosato poveikiui, sukurta linija - **GT73** (Monsanto, 2013). Pilnas fermento dydis yra 1584 bp, tačiau galima aptikti ne tik visą fermentą koduojantį geną, bet ir jo fragmentus, kurie turi specifinius pradmenis. Pradmenys, apimantys cp4 epsps DNR koduojančią sritį, amplifikuotos sekos, kurių dydis yra nuo 300 iki 1363 bp. Fermento masė- 47588.49 Da (Keith Edmisten, 2016).

T45, amonio gliufozinatą toleruojantis rapsas (Glufosinate Ammonium tolerant Canola). Tai rapsų rūšis toleruojanti amonio gliufozinatą, kuris įeina į herbicidų sudėtį. Ši rapsų rūšis gaunama į rapso genomą įterpus *Streptomyces viridochromogenes* geną, koduojantį baltymą fosfinotrichin-acetiltransferazę (phosphinothricin acetyltransferase (PAT)). PAT buvo lyginamas su žinomais toksinais ir alergenais tarptautinėje DNR genų duomenų bazėje GENBANK, kurie parodė, kad PAT baltymo aminorūgščių seka nebuvo panaši į žinomų toksinų ar alergenų sekas.(ARCHIVED, 1997). Geno dydis - 183 bp, masė - 20,618 Da (Yang ir kt. 2006).

MS8, RF3, MS8xRF3, bar (pat) genas, įterptas siekiant užtikrinti toleranciją herbicidams, kurių pagrindą sudaro gliufozinato amonis. Barnazės ir Barstaro baltymų ekspresija yra vyriškos lyties vaisingumo kontrolės sistemos pagrindas, naudojant barnazės geną, kuris pašalina vyriškos lyties vaisingumą, ir barstą geną, atkuriantis vyrų vaisingumą. Bar (pat) genas, įterptas, kad būtų galima toleruoti herbicidus, kurių pagrindą sudaro gliufozinato amonis (Idun Grønsberg and Lilian van Hove, 2017).

1.3 ES, nacionaliniai teisės aktų, reglamentuojančių GMO naudojimą, reikalavimai ir tarptautiniai susitarimai

GMO rizikos poveikio aplinkai vertinimą ir valdymą reglamentuoja ES, nacionaliniai teisės aktai:

Lietuvos Respublikos genetiškai modifikuotų organizmų įstatymas;

Lietuvos Respublikos Biologinės įvairovės konvencijos Kartachenos biosaugos protokolo ratifikavimo įstatymas;

Lietuvos Respublikos Biologinės įvairovės konvencijos Kartachenos protokolo Papildomo Nagojos ir Kvala Lumpūro protokolo dėl atsakomybės ir žalos atlyginimo ratifikavimo įstatymas;

Lietuvos Respublikos Seimo 2015 m. balandžio 16 d. nutarimas Nr. XII-1626 „Dėl nacionalinės aplinkos apsaugos strategijos patvirtinimo“;

Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2015 m. sausio 9 d. įsakymas Nr. D1-12 „Dėl kraštovaizdžio ir biologinės įvairovės išsaugojimo 2015–2020 metų veiksmų plano patvirtinimo“;

Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2004 m. balandžio 29 d. įsakymas Nr. D1-225 „Dėl genetiškai modifikuotų organizmų apgalvoto išleidimo į aplinką, tiekimo rinkai tvarkos aprašo patvirtinimo“;

Valstybinės augalininkystės tarnybos prie Žemės ūkio ministerijos direktoriaus 2012 m. rugsėjo 17 d. įsakymas Nr. A1-269 „Dėl Genetiškai modifikuotų organizmų atsiradimo rizikos kultūrų ir šalių sąrašo patvirtinimo“;

Valstybinės augalininkystės tarnybos prie Žemės ūkio ministerijos direktoriaus 2012 m. sausio 6 d. įsakymas Nr. A1-6, „Dėl Genetiškai modifikuotų augalų pasėlių, žmonių maistui ir gyvūnų pašarams neskirtų genetiškai modifikuotų augalų, augalinių produktų ir dauginamosios

medžiagos siuntų bei tų pasėlių ir siuntų, kurie galėjo būti genetiškai modifikuoti, kontrolės ir stebėsenos Lietuvos Respublikoje tvarkos aprašo patvirtinimo“;

Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2012 m. spalio 29 d. įsakymas Nr. D1-873 „Dėl Genetiškai modifikuotų organizmų išleidimo į aplinką ir riboto naudojimo kontrolės tvarkos aprašo patvirtinimo“;

Įvežamų į Lietuvos Respubliką, vežamų per ją į kitas Europos Sąjungos šalis, taip pat vežamų tranzitu žmonių maistui ir gyvūnų pašarams neskirtų genetiškai modifikuotų augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos bei tokių augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos krovinių, kuriuose galėtų būti genetiškai modifikuotų organizmų, kontrolės ir stebėsenos taisyklės, patvirtintos Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro 2015 m. kovo 24 d. įsakymu Nr. 3D-210 „Dėl įvežamų į Lietuvos Respubliką, vežamų per ją į kitas Europos Sąjungos šalis, taip pat vežamų tranzitu žmonių maistui ir gyvūnų pašarams neskirtų genetiškai modifikuotų augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos bei tokių augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos krovinių, kuriuose galėtų būti genetiškai modifikuotų organizmų, kontrolės ir stebėsenos taisyklių patvirtinimo ir kai kurių žemės ūkio ministro įsakymų pripažinimo netekusiais galios“;

Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro ir Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2007 m. lapkričio 16 d. įsakymas Nr. 3D-504/D1-608 „Dėl Genetiškai modifikuotų augalų pasėlių

Valstybinės augalininkystės tarnybos prie Žemės ūkio ministerijos direktoriaus 2011 m. spalio 24 d. įsakymas Nr. A1-325 „Dėl Mėginių ėmimo laboratoriniams genetinės modifikacijos tyrimams metodikos patvirtinimo“;

2003 m. liepos 15 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 1946/2003 „Dėl genetiškai modifikuotų organizmų tarpvalstybinio judėjimo“;

2001 m. kovo 12 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2001/18/EB dėl genetiškai modifikuotų organizmų apgalvoto išleidimo į aplinką ir panaikinanti Tarybos direktyvą 90/220/EEB;

2015 m. kovo 11 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva (ES) 2015/412, kuria iš dalies keičiamos Direktyvos 2001/18/EB nuostatos dėl valstybių narių galimybės savo teritorijoje riboti ar drausti genetiškai modifikuotų organizmų (GMO) auginimą;

2004 m. balandžio 21 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2004/35/ET dėl atsakomybės už aplinkos apsaugą siekiant išvengti žalos aplinkai ir ją atlyginti ir kiti teisės aktai (www.gmo.am.lt).

1.4. Kitų šalių patirtis, įvertinant galimai išsisėjusio GM rapso paplitimo mastą

1.4.1. Vizitas į savaime išsisėjusio GM rapso stebėseną vykdančias laboratorijas

Europos sąjungoje veikia Jungtinė EPA ENCA genetiškai modifikuotų organizmų (IG GMO) interesų grupė (The Joint EPA ENCA Interest Group on Genetically Modified Organisms), kuri skatina keitimąsi informacija ir patirtimi apie GMO pavojaus aplinkai vertinimą ir stebėjimą tarp Aplinkos apsaugos agentūrų vadovų tinklo (EPA) ir Europos gamtos apsaugos agentūros vadovų tinklo (ENCA) (IG GMO, 2020). Bendras IG GMO mandato tikslas yra sukurti bendras ir konsoliduotas EPA ir ENCA tinklų nuomones ir pozicijas, kad GMO patvirtinimo procedūrų, aplinkos rizikos vertinimo (ERA) ir aplinkos stebėsenos programų metu būtų dar labiau pabrėžiami aplinkos apsaugos aspektai. Į šią grupę 2019 m. įsijungė ir Lietuva. IG GMO vykdo GMO savaime išsisėjusių rapso stebėjimo tyrimus, rengia mėginių ėmimo iš aplinkos metodikas, protokolus ir rekomendacijas.

Siekiant nuodugniau išnagrinėti kitų Europos šalių patirtį vykdant galimai atsitiktinai išsisėjusį GM rapsą, be literatūros (Dolezel ir kt., 2019, Wilhelm ir kt., 2003, Zünd and Wüst, 2018) ir teisės aktų studijavimo, buvo užmegsti kontaktai su Italijos Aukštuoju aplinkos apsaugos ir tyrimų instituto ISPRA-BIO-CFL, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale - Valeria Giovannelli ir Giovanni Staiano), Austrijos aplinkos agentūros (Environmental Agency Austria - Marion Dolezal) ir Šveicarijos Federalinės aplinkos tarnybos (Federal Office for the Environment - Anne Gabrielle Wüst Saucy ir Jan Zünd) mokslininkais.

Šveicarijoje, genetiškai modifikuotų organizmų stebėseną reglamentuojama vadovaujantis federaliniu ne žmogaus genų technologijų įstatymu (Federal Act on Non-Human Gene Technology (Gene Technology Act, GTA)“ (GTA , of 21 March 2003) .

Austrijoje pagal Austrijos genų technologijos įstatymą (Austrian Gene Technology Act, 1995) ir GMO registro potvarkį reikalaujama sukurti GMO registrą, į kurį turėtų būti įtraukta informacija apie GMO, kuriuos leidžiama apgalvotai išleisti į aplinką arba tiekti rinkai, auginimo vietą.

Italijoje GMO stebėseną reglamentuoja Direktyvos 2001/18/EB („Implementing Directive 2001/18/EC on the Deliberate Release of Genetically Modified Organisms, G.U., No. 194, Aug. 22, 2003, Legislative Decree No. 224 of 2003) nuostatos.

2019 m. balandžio 4-5 d. Romoje, ISPRA patalpose, įvyko bendradarbiavimo tarp Lietuvos-Italijos ir Šveicarinos mokslinių institucijų GMO savaime išsisėjusio rapso stebėsenos klausimais seminaras (žr. Programą).

PROPOSED AGENDA OF THE MEETING

Object: Collaboration between ISPRA and Ministry of Environment

Date: 4th of April

Chair: Giovanni Staiano (ISPRA-BIO-CFL)

9.00 - 9.10	Institutional greetings and description of institutional role of ISPRA	ISPRA General Director/Lorenzo Ciccicarese (Head of Unit BIO-CFL)
9.10 - 9.20	ISPRA's activities on the GMOs issue	Giovanni Staiano – ISPRA
9.20 - 10.00	Paper "Recommendations for the Design of a GMO-Monitoring Program": main concepts and key messages	DE, CH
10.00 – 10:40	Institutional greetings and description of institutional role of MoE, VMU, LRCAF and NFVRI	Algimantas Paulauskas, VMU Gintaras Brazauskas, LRCAF Kristina Jaskune, LECAF Žygimantas Janeliunas, NFVRI
10.40 - 11.10	Coffee break	
11.10-11.30	ISPRA/ARPA Campania Pilot project for the evaluation of accidental dispersion in the environment of genetically modified rapeseed in the Campania region	Valeria Giovannelli - ISPRA
11.30 -12.00	Monitoring Protocols	Valentina Rastelli - ISPRA
12.00 - 12.40	Sampling Protocols	Pietro Bianco - Valentina Rastelli ISPRA
12.40 – 13.00	MoE/VMU two years project for the evaluation of accidental dispersion of genetically modified rapeseed in the territory of Lithuania Preliminary plan for rapeseed sampling Preparation of plant samples and their laboratory analysis	Algimantas Paulauskas Rita Armoniene, LRCAF Žygimantas Janeliunas, NFVRI
13.00 – 14.00	Lunch Break	
14.00 – 17:00	Possible collaboration aspects - discussion	

Date: 5th of April

08.00: Departure from ISPRA headquarters

11.30: Arrival at Regional GMOs Laboratory of Avellino's Department of the Regional Protection Agency of Campania

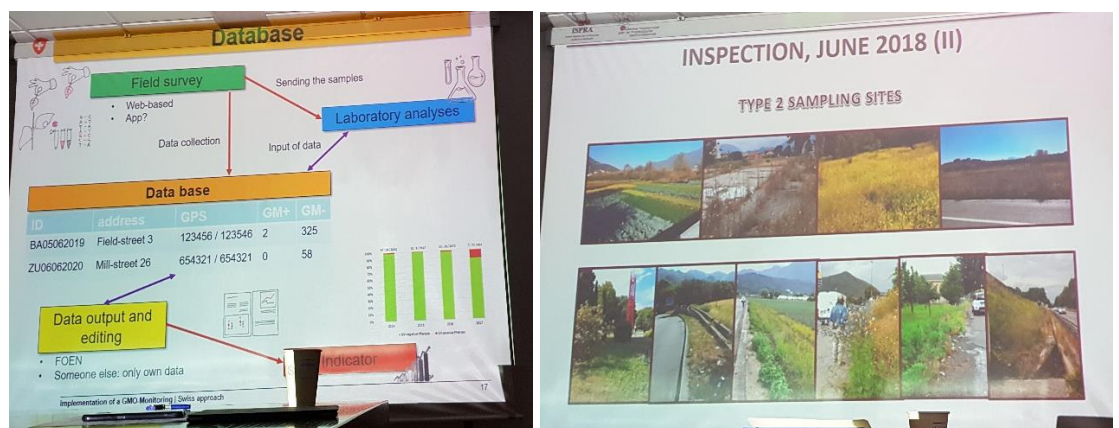
11.30- 12.00	Institutional greetings and description of institutional role of ARPA Campania	To be defined
12.00 – 12.20	Molecular analysis (maybe to be moved on 4th)	Valeria Giovannelli – ISPRA Alfonso Sergio – ARPA Campania
12.20 -	Visit to the Laboratory facilities	

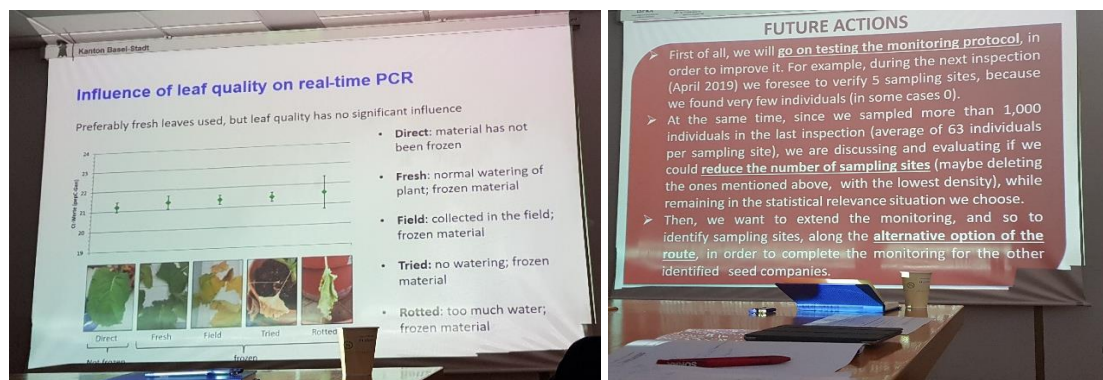
Jame dalyvavę šio projekto vykdytojai (pav. 1.) pristatė GMO rizikos poveikio aplinkai vertinimo situaciją Lietuvoje ir vykdomo ES projekto „Genetiškai modifikuotų augalų rūšių

spontaniškų populiacijų stebėjimas aplinkoje“ (Monitoring of Spontaneous Populations of Genetically Modified Plant Species in the Environment, Šveicarija) veiklas, išklause vykdamus tyrimus Italijoje („Campania“ pilotinis projektas atsitiktinai išsisėjusio genetiškai modifikuoto rapso aplinkoje įvertinimas Kampanijos regione (ISPRA/ARPA Campania Pilot project for the evaluation of accidental dispersion in the environment of genetically modified rapeseed in the Campania region) ir Šveicarijoje (pav. 2.), buvo supažindinti su laboratorijomis, tyrimo metodais Avelino regioninėje GMO laboratorijoje (Regional GMOs Laboratory of Avellino) (pav. 3.)



Pav. 1. Projekto vykdytojai ISPRA organizuotame GMO seminare





Pav. 2. ISPRa mokslininkų tyrimų rezultatų pristatymas



Pav. 3. Vizitas į Avelino regioninę GMO laboratoriją ir ISPRa.

Susitikimo metu taip pat buvo aptartos tolimesnių bendradarbiavimo galimybės vykdant GM augalų spontaninio išsėjimo ir išplitimo Europoje stebėseną. Šio bendradarbiavimo rezultatas – 2019 spalio 30 d. bendras kreipimasis į Europos Sąjungos, Europos Komisijos Aplinkos Generalini Direktoratą dėl GM augalų spontaninio išplitimo Europoje stebėsenos:

A-PRIORITY 3003 Bern POST CH AG
FOEN, Bettina Hiltbold

A-PRIORITY
European Union, European Commission
Directorate-General for Environment (DG ENV)
Mr Daniel CALLEJA CRESPO
Avenue de Beaulieu 5
Beaulieu 5
1160 Bruxelles / Brussel
Belgique

File reference: BAUF-061.312-01-2086/15/14/04
Your reference:
Btigen, 30 October 2019

Technical Report on Monitoring of Spontaneous Populations of Genetically Modified Plant Species in the Environment

Dear Mr Calleja Crespo

The Joint EPA ENCA Interest Group on Risk Assessment and Monitoring of Genetically Modified Organisms (IG GMO) recently published a technical report (see attachment) providing an overview of the experiences gathered with monitoring spontaneous populations of genetically modified organisms (GMOs) and providing best practice examples and recommendations for the design of a monitoring programme for GMOs in the environment.

Many environmental protection agencies and nature conservation agencies are involved in authorisation procedures for the marketing of GMOs and thus regularly evaluate monitoring plans and reports submitted by authorisation holders.

A recent document from EuropaBio¹ describes that in the EU, operators carry out monitoring of the approved and imported GMO exclusively within their premises. At present, there is no monitoring of spillage and loss of genetically modified material during transport, or the potential spread and persistence of these GMOs in the environment outside the premises. These environmental aspects are not addressed sufficiently.

Current data on the presence of GMOs in the environment show that spillage during transport of food and feed products or during manufacturing processes can be a source of release of viable GMOs into the environment even in countries where no GMO cultivation takes place. The IG GMO is concerned about the potential harm that genetically modified plants pose to the environment and biodiversity when

¹ EuropaBio was invited by the EU-Commission to submit clarification regarding the practical implementation of post-market environmental monitoring (PMEM).

Federal Office for the Environment FOEN
Marc Chardonens
3003 Bern
Location: Papierenmühlestrasse 172, 3083 Ittigen
Tel. +41 58 46 085 00, Fax +41 58 46 279 58
Marc.Chardonens@bauf.admin.ch
<https://www.bauf.admin.ch>



BAFU-A-0173401026

File reference: BAUF-061.312-01-2086/15/14/04

released unintentionally, such as through hybridisation with wild relatives and the spread of genetic material in the environment. For this reason, a survey of inadvertently released GMOs and their potential environmental risks is an important aspect of comprehensive GMO-monitoring.

We believe that this technical report can contribute significantly to improving environmental protection and nature conservation by integrating current GMO-monitoring practices into a more comprehensive system of GMO-monitoring, particularly regarding the design of monitoring plans and the monitoring of the unintended release of GMOs outside the operators' premises.

We trust that you will give due consideration to this important issue and inform the authorities responsible for the assessment and implementation of the post-market environmental monitoring plan (PMEM) about the technical report on "Monitoring of Spontaneous Populations of Genetically Modified Plant Species in the Environment".

Please do not hesitate to contact me with any questions or suggestions you might have.

Yours sincerely

Federal Office for the Environment FOEN
Leading Agency of the Joint ENCA EPA Interest Group on Risk Assessment and Monitoring of Genetically Modified Organisms

Marc Chardonens
Director

Member Agencies of the Heads of the European Network of the Environment Protection Agencies (EPA Network) and the Heads of the European Network of Nature Conservation Agencies (ENCA Network) who support this letter:

- Federal Office for the Environment FOEN, Switzerland (chair)
- Environment Agency Austria
- Environment & Resources Authority, Malta
- Federal Agency for Nature Conservation (BfN), Germany
- Finnish Environment Institute
- Italian Institute for Environmental Protection and Research ISPRA
- The Ministry of Environment of Lithuania

Copy to:

- Ms Mari Ertandson, EPA Network Secretariat, Kongens Nytorv 6, 1050 Copenhagen K, Denmark
- Ms Ulrike Lamb, ENCA Secretariat, Spittelauer Lände 5, 1090 Wien, Austria
- Ms Elisabeth Waigmann, European Food Safety Authority EFSA, Scientific Evaluation of Regulated Products Department, Head of Unit GMO, Via Carlo Magno 1A, 43126 Parma (PR), Italy

2/2

BAFU-A-0173401026

Pav. 4. Kreipimasis į ES, EK Aplinkos Generalinį Direktoratą dėl GM augalų spontaninio išplitimo Europoje stebėsenos

1.4.2. Spontaninių GM augalų populiacijų stebėsenos programos sudarymo metodinės gairės

Apibendrinat išanalizuotus Europos šalių teisės aktus bei patirtį siekiant valdyti galimai savaime išsisejusius GM augalus, parengtos šios rekomendacijos. Spontaninių GM augalų populiacijų stebėsenos programos sudarymo metodinės gairės yra geriausios praktinės pagalbos priemonė ir nurodymai, kaip sukurti tokią stebėsenos programą (Zünd and Wüst, 2018). Šios programos tikslinė auditorija yra valdžios institucijos, pranešėjai ir visi kiti asmenys, kuriems tenka užduotis - vykdyti GM augalų stebėseną.

Šioje studijoje vartojamos sąvokos

- Poveikis (GM augalų): nekontroliuojama gamtoje GM augalų populiacija, leidžianti sąveikauti GM augalams su aplinka ir laukiniais organizmais.
- Poveikio kelias: kelias, kuriuo GM augalai ar jų komponentai (pvz., sėklos, žiedadulkės) yra transportuojami prieš juos apgalvotai išleidžiant į aplinką.
- Išleidimo vieta (GM augalų): poveikio kelio pabaiga. Vieta, kurioje GM augalai patenka į aplinką ir kurioje jie gali savaime augti (pvz., vieta, kurioje sudygsta išsisejusios GM augalų sėklos).
- Užteršimas (su GM augalais): Produkto užteršimas GM augalais, t.y. GM augalų maišymas su kitu produktu.
- Rizika: žala, atsirandanti dėl tam tikro įvykio ar elgesys. Rizika reiškia pavojingas situacijas, kurios gali turėti arba gali sukelti neigiamą poveikį užteršiant aplinką GM augalais. (Matematiškai išreikšta: $\text{rizika} = \text{įvykio tikimybė} \times \text{žalos dydis}$).
- Spontaniniai augalai: GM augalų egzemplioriai, augantys savaime gamtinėje aplinkoje dabartinėmis klimato sąlygomis. Šis terminas nereiškia, ar tokie augalai ilgainiui įsitvirtins (taps laukiniai).
- Spontaninė populiacija: Spontaninė populiacija, kurios augalas (-ai) gali bent vieną kartą žydėti ar išbarstyti sėklas arba daugintis vegetatyviniu būdu.
- Spontaninių GM augalų tapimas sulaukėjusiais: tai – GM augalų įsitvirtinimo sinonimas. Tęstinis GM augalų egzistavimas natūralioje arba pusiau natūralioje augalų biocenozeje (kuri gamtoje nekontroliuojama). Augalai sugeba savarankiškai daugintis arba bent jau vegetatyviniu būdu išsilaikyti. Bet koku kitu atveju, ši studija apima tik GM augalų spontanes populiacijas.

Kokio tipo GM augalų stebėseną?

GMO stebimi daugiau nei 30 metų. Stebėsenos programos gali būti nukreiptos į labai skirtingus aspektus. Pavyzdžiui, -galima stebėti, ar maisto produktuose nėra transgenų, arba stebėti GM augalų (pasėlių) auginimo poveikį netiksliniams organizmams. GMO stebėseną pirmiausia apsiriboja nepageidaujamų GM augalų populiacijų nustatymu gamtoje (Katsuta ir kt., 2015).

Tai yra efektyvus GM augalų aptikimo mechanizmas vietose, kuriose jie neturi ar neturėtų augti. Be to, jo metu taip pat nagrinėjamas GM augalų aptikimas tarp neautorizuotų GMO/produktų. Tačiau tik tų produktų, kurių naudojimas gali sukelti GM augalų išleidimą į aplinką ir savaiminį augimą aplinkoje.

Todėl stebėsenos programos atskaitos taškas yra ne GM augalų auginimas, bet patvirtinti importuoti produktai, kurių sudėtyje yra GM augalų, kartu su produktais, skirtais parduoti ar perdirbti (bet ne kaip sėklas).,

Pirmiausia, reikėtų sudaryti **augalų rūšių sąrašą**, į kurį reikėtų atsižvelgti vykdant stebėsenos programą, t. y., tie GM augalai, kurie savaime gali augti Europos klimato sąlygomis. Hipotetiškai, vieno augalo gali pakakti, kad transgenas patektų į aplinką (Zünd ir kt, 2018).

Kai tik bus žinomi GM augalai, kurie gali augti, pvz., Lietuvoje, reikėtų **nustatyti labiausiai tikėtinas patekimo į aplinką ir išleidimo vietas**, per kurias įvyksta netyčinis GM augalų išleidimas ir kur gali atsirasti nepageidaujami GM augalai. Reikėtų labai konkretaus šių vietų sąrašo ar žemėlapio. Pageidaujamą sąrašą galima sudaryti iš paieškų komerciniame registre (pvz. <http://www.vatzum.lt/lt/veiklos-sritys/augalu-dauginamoji-medziaga/>), paklausimų pramonės asociacijose ir pasirinktose rapsų perdirbančiose įmonėse iš Lietuvos statistikos departament0, paieškų internete arba atliekant muitinės duomenų analizę. Grūdus ir rapsus perdirbančios įmonės turi pateikti duomenis apie atskirų grūdų rūšių ir rapsų panaudojimą produktų gamybai Lietuvos statistikos departamentui (Statistikos departamento prie Lietuvos Respublikos Vyriausybės generalinio direktoriaus 2003 m. lapkričio 21 d. įsakymą Nr. DĮ-190 „Dėl augalininkystės produkcijos supirkimo mėnesinio periodiškumo statistinių ataskaitų patvirtinimo“ (Žin., 2003, Nr. 44-2013)

Rizikos aplinkai įvertinimui reikėtų imti **atsitiktinį vietų imtį** (iš vienos vietovės ne mažiau 10 skirtingų augalų vienetų, kurie molekulinį tyrimų metu sudedami į vieną pulą (*ISPRA patirtis ir rekomendacijos*), kuri leistų daryti teiginius apie spontaniškai išsisejusius, atsitiktinai atsiradusius augalus, ar jau susiformavusias GM augalų populiacijas.

Atsitiktinė imtis apibrėžiama remiantis viena iš trijų strategijų:

- a) visiškai atsitiktine imtimi pavyzdžiai imami iš įvairių vietovių, kur gali būti aptinkamas tiriamas augalas;
 - b) atsitiktine imtimi, didesnę dėmesį skiriant į vietas, kurioms būdinga žinoma didžiausia tikimybė (pvz. transporto magistralės, perdirbimo įmonės);
 - c) GM augalų buvimo, arba
 - d) atsitiktine imtimi, ypač atkreipiant dėmesį į vietas, apie kurias trūksta žinių dėl GM augalų buvimo tikimybės.
- b) ir c) strategijoms atsitiktinę imtį galima optimizuoti kiekvieno tyrimo etapo metu, skubiai įtraukiant įgytas žinias (adaptyvusis dizainas). Jei vietovės, kuriose yra didesnė nei įprasta GM augalų buvimo tikimybė, turi bendras charakteristikas, tokia adaptyvi atrankos schema žymiai pagerina patvirtintų GM augalų skaičių arba apskaičiavimo tikslumą visai GM augalų populiacijai.

1.4.2.1. Spontaninių GM augalų populiacijų stebėjimo būdas

Prieš pradėdant GM augalų spontaninio išplitimo stebėseną reikalingi preliminarūs veiksmai, būtini tiksliniam nepageidaujamų GM augalų populiacijų stebėjimui. Pirmiausia, tai susiję su tų GM augalų, kuriems turėtų būti teikiama pirmenybė stebint, nustatymo kriterijais. Antra, tai susiję su prekėmis, kurios gali būti užterštos GM augalais, paieškomis. Tai svarbu, nes spontaniškos GM augalų populiacijos dažnai gali būti atsektos gabenant krovinius, kuriuose yra GM augalų. Be to, tai apima būdus, kuriais šie GM augalų netyčia išleidžiami į aplinką.

Pradinis GM augalų stebėjimo taškas

Kai stebėseną yra importas patvirtinimo dalis, pirmiausia reikia išsiaiškinti esamą teisinę padėtį konkrečioje ES šalyje. Kokios teisės aktai reglamentuoja importuojamus augalus ar jų dalis Lietuvoje aptarta:

- LR aplinkos ministro 2004 m. balandžio 29 d. įsakymas Nr. D1-225 „Dėl genetiškai modifikuotų organizmų apgalvoto išleidimo į aplinką, tiekimo rinkai tvarkos aprašo patvirtinimo“;
- Valstybinės augalininkystės tarnybos prie ŽŪ ministerijos direktoriaus 2012 m. rugsėjo 17 d. įsakymas Nr. A1-269 „Dėl Genetiškai modifikuotų organizmų atsiradimo rizikos kultūrų ir šalių sąrašo patvirtinimo“;

- Valstybinės augalininkystės tarnybos prie ŽŪ ministerijos direktoriaus 2012 m. sausio 6 d. įsakymas Nr. A1-6, „Dėl Genetiškai modifikuotų augalų pasėlių, žmonių maistui ir gyvūnų pašarams neskirtų genetiškai modifikuotų augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos siuntų bei tų pasėlių ir siuntų, kurie galėjo būti genetiškai modifikuoti, kontrolės ir stebėsenos Lietuvos Respublikoje tvarkos aprašo patvirtinimo“;
- LR ŽŪ ministro 2015 m. kovo 24 d. įsakymu Nr. 3D-210 „Dėl įvežamų į Lietuvos Respubliką, vežamų per ją į kitas Europos Sąjungos šalis, taip pat vežamų tranzitu žmonių maistui ir gyvūnų pašarams neskirtų genetiškai modifikuotų augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos bei tokių augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos krovinių, kuriuose galėtų būti genetiškai modifikuotų organizmų, kontrolės ir stebėsenos taisyklių patvirtinimo ir kai kurių žemės ūkio ministro įsakymų pripažinimo netekusiais galios“.

Atitinkamų GM augalų nustatymas

Gebėjimas atpažinti spontaniškai išplitusias GM augalų populiacijas gamtoje yra pagrindinis išsamios GM augalų stebėsenos komponentas. Tai būtina sąlyga norint ištirti spontaniškai išleistų GMP galimą poveikį aplinkai.

Būtina išsiaiškinti kokie GM augalai/produktai, yra leisti ES rinkoje auginti ar tiekti rinkai?

Kurie iš jų galėtų savaime augti pasirinktame regione/rajone?

Spontaniškai išplisti gali tik tie GM augalai kurie dažniausiai šalyje jau yra auginami. Apie šiuos pasėlių augalus (t. y. ne transgeninius augalus) yra turima patikimos informacijos, leidžiančios įvertinti, ar yra spontaniškų GM populiacijų atsiradimo tikimybė, ar ne. Šiuo tikslu galima pasinaudoti įvairius informacijos šaltinius (Zünd ir kt, 2018):

- a. Dokumentuoti spontaniškų populiacijų įrašai floros, botanikos žurnaluose ar floristikos duomenų bazėse. Jei rūšis yra įtraukta į bet kurią iš šių leidinių, galima daryti prielaidą, kad ji sugebės išgyventi esant vietinėms klimato sąlygoms;
- b. Leidiniai apie auginimą, atsparumą agronominėje literatūroje. Paieška internete, pvz. naudojant „Google Scholar“, mokslinių straipsnių „Web of Science“ sistemą, suteikiančią visapusišką ir tikslingą prieigą prie žurnalų straipsnių.

- c. Specialistų vertinimai: Žemės ūkio tyrimų centrų ar tyrimų institutų darbuotojai apie savo tiriamuosius dalykus žino daug daugiau, nei tai gali būti greitai prieinamas leidiniuose. Pvz., be ekspertų žinių apie šiuo metu turimų veislių klimatotinkamumą būtų labai sunku įtikinamai atsakyti į klausimą, ar, pvz., soja gali tapti laukine Vidurio Europoje, ar ne.

Kurie iš jų galėtų patekti į tiriamąją teritoriją?

Tam būtina įvertinti šiuos kriterijus:

- Ar GM augalai patvirtinti importui, perdirbimui, maistui ar pašarams;
- Ar GM augalai naudojami auginimo bandymuose moksliniams tyrimams;
- Ar yra didelis žemės ūkio produktų (maždaug 100 tonų ar daugiau) importas iš šalių, kuriose auginama GM augalai;
- Ar iš šalių, kuriose auginama GM augalai, yra importuotų žemės ūkio produktų, kurie tikslingai įvežami į aplinką (sėklos, šienas, šiaudai, pašarai, dekoratyvinė augalinė medžiaga). Tokiais atvejais, reikšmingas yra ir mažesnis nei 100 tonų importuotas kiekis;
- Ar GM augalai yra tiesiogiai kaimyninėse šalyse / regionuose, kurie yra sujungti su tyrimo teritorija per pagrindines paskirstymo ašis, tokias kaip geležinkelio linijos, keliai ar vandens telkiniai.

Kuriuos iš jų pirmiausia reiktų stebėti?

Jei bent į vieną iš galimų patekti į šalį kriterijų bus atsakyta teigiamai, GM augalai aiškiai išliks potencialiu kandidatu patekti į spontaniškų GMO stebėsenos sąrašą. Jei į visus klausimus būtų atsakyta neigiamai, aptariamai GM augalai šiuo metu neturi reikšmės stebėsenos programai, nepaisant jos polinkio įvykti spontaniškai.

Neatidėliotina specifinių GM augalų populiacijų stebėseną didėja atsižvelgiant į žalą, susijusią su spontanine populiacija, GM augalų plitimu, įsitvirtinimu ir peržengimu, mastą ir tikimybę. Žalos tikimybė didėja (Zünd ir kt, 2018):

- atsižvelgiant į tai, koku laipsniu GM augalai linkę augti laukinėje gamtoje (didelis daigumas, ilgas sėklos gyvybingumas, nėra jokių specialių reikalavimų vietai),

- tokiu dažniu, kuriuo GM augalai linkę ne tik laikinai augti, bet ir sudaryti savaimines populiacijas iš savaimė atsirandančių augalų,
- tokiu laipsniu, kai augalas, kurio variantas be GM, jau rodo nekontroliuojamą augimą ir plitimą (pvz., kaip piktžolė ar invazinis neofitas),
- jei spontaninės populiacijos randamos greta įprastinių tos pačios augalų rūšies augalų, arba
- jei vietinėje floroje yra laukinių hibridizacijos atitikmenų, augančių šalia spontaniškų GM augalų populiacijų.

Atitinkamų importuotų GM produktų identifikavimas

Kurioje iš importuotų prekių gali būti nustatyta, kad GM augalai yra sudedamoji dalis ar gali būti panaudoti jas gaminant?

- ES valstybėse narėse svarbu atskirti ar GM augalas yra leistas ir neleistas išleisti į aplinką ar tiekti rinkai. Stebėsenos planai yra privalomi. Kitose šalyse, pavyzdžiui, Šveicarijoje, visos spontaninės GM augalų populiacijos yra stebimos, nepaisant galimo patvirtinimo (Schulze ir kt., 2015).

Kokiais kiekiais jie importuojami ir kas juos gauna?

Išleidimo vietos identifikavimas

Siekiant sumažinti galimą spontaninio GM augalų išsiskidimo vietų bei kontrolės (pavyzdžių rinkimo vietų, molekulinę tyrimų) apimtį, būtina identifikuoti

Kokie yra išsiskidimo būdai? – Išsiaiškinti kokios transporto rūšys gali pervežti GM augalus, kokio sandarumo pakuotės ir prekių gavėjų sąlygos.

Netyčinis išbarstymas transportavimo metu gali įvykti

- transporto keliais,
- komutatoriuose,
- saugojimo ar perdirbimo patalpose.

Tikslingas GM produktų platinimas, paprastai įvyksta atsižvelgiant į jų paskirtį

- žemės ūkio dirbimas iš sėklų (ariamos kultūros, pievos, veja),
- sklaida pašarų pavidalu gyvulių laikymo vietose, tiektuvuose, paukštynuose ir tt,

- naudojant kaip kraiką gyvūnų aptvaruose,
- naudojant kaip dekoratyvinę medžiagą, pvz. skintos gėlės, floristinės kompozicijos,
- fejerverkų naudojimas (gali būti rapsų sėklų).

Kuriose vietose būtų galimas GM augalų išsiejimas? - Reikalingas gavėjų vietų ir prieigos maršrutų sąrašų ir žemėlapių sudarymas. Tam gali pasitarnauti:

- komercinio registro išrašai,
- prekybos asociacijų narių sąrašai,
- pasienio kontrolės duomenys arba muitinių duomenų bazės,
- krovinių uostų, esančių ant jūros kranto ir prie plaukiojamų upių, sąrašai,
- telefonų katalogų ir geltonųjų puslapių paieškos,
- importuotojų klientų bazės,
- paieška įmonių svetainių internete.

Išsiaiškinus kokius augalus ir kuriose vietovėse reikia tirti, žemiau pateikiame stebėsenos pagrindinių principų schemą:

1.4.2.2. Stebėsenos vertinimo principai

I. Stebėsenos plano struktūra:

1. Stebėsenos strategija:

1.1 Idėja

- Rizikos aplinkai vertinimo (RAV) svarstymas;
- Atsižvelgiant į pagrindinę informaciją

1.1.1 Konkretaus atvejo stebėjimas

- Atitinkamų tikslų svarstymas (pagal RAV rezultatus)

1.1.2 Bendroji priežiūra

- Atitinkamo OLP ir AoC svarstymas

1.2 Pradinė padėtis ir kontrolė

1.3 Stebėsenos laiko skalė

1.4 Atsakomybės

2. Stebėsenos metodai

2.1 Tinkamų parametrų ir metodų identifikavimas

2.2 Mėginių ėmimo ir analizės metodai

- Taikyti standartizuotus metodus (jei taikoma)
- Prisitaikymas prie „šiuolaikinio lygio“

2.3 Mėginių ėmimo vietos ir tinklai

2.4 Dažniai

2.5 (Pavienių) rezultatų / įrašytų duomenų rinkimas ir palyginimas

- Atsakomybės
- Dažniai ir terminai
- Formatai

3. Numatyta analizė ir ataskaitos

3.1 Bendros analizės peržiūros ir aptarimo dažnumas

3.2 Numatyta duomenų analizė

- Nepaprastų sąlygų svarstymas
- Statistika

3.3 Numatytos ataskaitų teikimo ir skelbimo sąlygos

- Pranešėjo/pareiškėjo, valdžios institucijų ir trečiųjų šalių bendravimas
- Rezultatų paskelbimas

II. Įvertinimas ir ataskaita

1. Stebėsenos rezultatų įvertinimas

2. Stebėsenos plano ir jo elementų efektyvumo įvertinimas, jei reikia modifikacija

3. Atvejis: papildomų priemonių svarstymas

4. Sutikimo atnaujinimo rezultatų pristatymas
5. Stebėsenos atstovo publikacija

Stebėsenos kategorijos pagal įvairius kriterijus pateikiamos 5 priede.

1.4.2.3. Reguliavimo sistema

GM augalų stebėsenai yra taikomi teisės aktų reikalavimai. Importo patvirtinimai ar veiklos leidimai gali įpareigoti stebėti leidimo gavėją ir/arba valdžios institucijos gali inicijuoti GM augalų aplinkoje stebėsenos vykdymą.

ES lygiu Direktyva 2001/18/EB reglamentuoja genetiškai modifikuotų organizmų apgalvotą išleidimą į aplinką ir tiekimą rinkai. Tai taip pat apima GMO stebėsenos nuostatas, kurios turi būti perkeltos į ES valstybių narių nacionalinę teisę. Lietuvoje tai reglamentuoja LR Aplinkos ministro 2004 m. balandžio 29 d. įsakymas Nr. D1-225 „Dėl genetiškai modifikuotų organizmų apgalvoto išleidimo į aplinką, tiekimą rinkai tvarkos aprašo patvirtinimo“ (2019 m. birželio 3 d. Nr. D1-340, pakeitimas).

1.4.3. Spontaninių GM augalų populiacijų poveikis aplinkai.

ES ir pasaulio šalių atliktų tyrimų duomenys ir rezultatai

Jeigu GM augalai aplinkoje atsiranda spontaniškai, tai gali būti priežastis stebėti šiuos įvykius. Šie spontaniškai augantys GM augalai gali neigiamai paveikti aplinką arba padaryti ekonominę žalą. Be to, atsižvelgiant į konkrečią šalį ar situaciją, spontaniškos GM augalų populiacijos gali būti neteisėtos, nepageidautinos.

Nors yra tikėtina, kad tai gali turėti žalingą poveikį aplinkai, tačiau dar nėra įtikinamų įrodymų šiuo klausimu. Iki šiol nebuvo atlikta pakankamai tyrimų apie savaime išsiskęsiusių GM rapsų buvimą ir poveikį gamtoje, tačiau kai kuriose šalyse registruoti kitų GM augalų (kukurūzų, sojos, ryžių, vilnamedžio, liucernos) spontaninės populiacijos, leidžia įvertinti jų plitimo kelius ir įsitvirtinimo sąlygas (Yoshimura ir kt., 2006, Nishizawa ir kt., 2009, Bailleul ir kt. 2012, Bauer-Panskus ir kt., 2013 and 2015).

Įvairiuose šalyse, pvz., Japonijoje, Kanadoje, Šveicarijoje, nustatyti įvairūs nepageidaujamų GM augalų spontaninių populiacijų atsiradimo atvejai, įvykę dėl transportavimo metu išbarstytų sėklų. Tai yra vienas iš pagrindinių poveikio aplinkai būdų, susijusių su šiais atvejais:

- Japonijoje savaime išsiskęsiusių ir augančių GM rapsų augalai buvo rasti 80% tirtų jūrų uostų (Katsuta et al. 2015). Matyt, kad augalai atsirado iš sėklų, išbyrėjusių iškraunant importuotas prekes. Panaši situacija Pietų Korėjoje, kurioje papildomai buvo registruojamos GM kukurūzų ir GM sojos augalų populiacijos (Bauer-Panskus et al. 2015). Šiuo metu GM augalai nėra auginami nei Japonijoje, nei Pietų Korėjoje. Taip pat, rasta GM rapsų augalų Reino uoste Bazelyje, Šveicarijoje (Schulze et al. 2014). Labai tikėtina, kad šie augalai pateko gabenant į Bazelį laivu Kanados kietuosius kviečius, o vėliau transportuojami į siloso ir geležinkelio vagonus tolimesniam gabenimui (Schulze et al. 2015). Atlikus šių augalų atgabentų į Šveicariją, genetinius tyrimus, nustatyti trijų skirtingų GM rapsų GT73, RF3 ir MS8 × RF3 veislių pavyzdžiai tarp spontaniškai augančių rapsų. Be to, atliekant tyrimą nustatyti GT73 rapsų hibridai su į dviem ne GM rapsų augalais. Tačiau, šio transgeno perėjimo į giminingų laukinių rūšių augalus nenustatytas.
- Spontaniškos GM aliejinių rapsų populiacijos buvo rastos geležinkelio linijose Kanadoje ir Šveicarijoje (Yoshimura et al. 2006, Schönenberger & D'Andrea 2012). Tai atsiranda dėl transportavimo talpų nesandarumo. Meksikoje dėl geležinkelio avarių išbyrėjo nesmulkintos Bt medvilnės sėklos ir Bt kukurūzai. Vien tik nuo 2010 iki 2013 m. buvo

užregistruota apie 800 tonų transgeninių kukurūzų ir transgeninės medvilnės nuostolių transportavimo metu. Manoma, kad šie transportavimo nuostoliai lėmė šių dviejų GMP rūšių transgenų plitimą (Piñeyro-Nelson et al. 2009; Dyer et al. 2009, Bauer-Panskus et al. 2015).

- Kanados rapsų auginimo regione užfiksuota savaiminė išsivysčiusių GM rapsų populiacija (Knispel et al. 2008). Bent jau pakelėse augančių GM rapsų augalai yra kilę iš derliaus nuėmimo metu žemės ūkio transporto išbarstytų sėklų. Atsparumas glifosatui buvo nustatytas 88% įvairiose pakelės augaluose ir maždaug pusė populiacijos buvo atsparūs dviem veikliosioms medžiagoms. Nepageidaujamas GM rapsų išsivysėjimas pakelėse, greičiausiai dėl sėklų išsibėrimo transportavimo metu, taip pat buvo užfiksuotas JAV (Schafer et al. 2011) ir Australijoje (Busi & Powles 2016).
- Pagrindinėse JAV liucernos sėklų auginimo vietovėse dokumentuojamos nepageidaujamos GM herbicidams toleruojančios liucernos populiacijos pakelėse (Greene et al. 2015). Šios spontaninės populiacijos buvo susidariusios pakelėse vežant nuimtus augalus į perdirbimo įmones. Augalai, atsižvelgiant į vietovę ir transportavimo maršrutą, atsirado nuo 1 iki 8 augalų 100 km kelio. Vietų, kuriose auga transgeniniai liucernos augalai, dažnis skirtingose tyrimo vietose buvo nuo 8,3 iki 32,7%. Šiaurės Amerikoje mažai tikėtina, kad GM liucerna bus susikryžminusi su laukinėms rūšims, nes žemyne nėra artimų liucernos giminių.
- Šveicarijoje buvo atliktas analogiškas tyrimas (Zünd ir kt, 2018). Jo metu buvo renkami mėginiai netoli geležinkelio bėgių. Genetiškai modifikuotų rapsų sėklos gali išsibirstyti keliais variantais. Pirmiausia, sėklos išsibarsto, kai krovinių traukinių konteineriai pakraunami, supurtomos ir išpučiamos traukiniui judant, taip praplėčiant jų paplitimo plotą. Antra, vykstant tranzitu per geležinkelį dėl vibracijos sėklos patenka į aplinką, nes jos išbyra iš konteinerių, kurie nėra visiškai užsandarinti, taip plisdamos per visą ruožo ilgį. Per dvejus metus buvo ištirtos 9 zonos aplink kelius, vedančius į uostą taip pat netoli rapsų ūkių ir nustatyta, kad iš 655 tirtų rapsų 134 (20%) turėjo geną, koduojantį toleranciją herbicidams. Taip pat, buvo tiriami atsitiktinai augantys rapsai tam tikrose atkarpose. Iš viso surinkta 1922 mėginių, iš kurių atsparumą herbicidui Roundup turėjo 9 augalai (0,5%).

2. GM rapso, galimai išsisėjusio Lietuvos teritorijoje, mėginių ėmimo planas

Siekiant užtikrinti, kad skirtingu metu surinktų mėginių rezultatai gali būti lyginami tarpusavyje, mėginių surinkimo procedūra turi būti standartizuota.

Rapsų sėklos yra daigios viso vegetacijos periodo metu, todėl mėginių surinkimas gali būti vykdomas nuo balandžio iki spalio mėnesio. Siekiant standartizuoti mėginių surinkimo laiką, pasirinkti 6 mėginių surinkimo laiko taškai per vieną augalų vegetacijos sezoną (1 lentelė).

1 lentelė. Mėginių surinkimo laikas, dažnis, skaičius.

Pirmieji tyrimo metai, 2019					
<i>Mėginiai</i>	<i>Mėginių ėmimo dažnis</i>	<i>Mėginių ėmimo laikas</i>	<i>Mėginių skaičius, vnt</i>	<i>Viso mėginių per vegetaciją, vnt</i>	
Žieminio rapso	3	04 23-26 05 23-26 06 23-26	12	36	
Vasarinio rapso	3	06 23-26 07 23-26 08 23-26	12	36	
Galimų GMO rapso hibridų	6	04 23-26 05 23-26 06 23-26 07 23-26 08 23-26 09 23-26	5	30	
Antrieji tyrimo metai, 2020					
<i>Mėginiai</i>	<i>Mėginių ėmimo dažnis</i>	<i>Mėginių ėmimo laikas</i>	<i>Mėginių skaičius, vnt</i>	<i>Viso mėginių per vegetaciją, vnt</i>	
Žieminio rapso	3	04 23-26 05 23-26 06 23-26	3	9	
Vasarinio rapso	3	06 23-26 07 23-26 08 23-26	3	9	
Galimų GMO rapso hibridų	6	04 23-26 05 23-26 06 23-26 07 23-26 08 23-26 09 23-26	1	6	

2.1. Mėginių ėmimo vietos

Prioriteto tvarka pasirinktos 5 vietos, bei vienas geležinkelio ruožas ir automagistralė A1 (5 paveikslas), kuriose mėginiai bus renkami nustatytu grafiku (1 lentelė).

- Netoli (100m) Klaipėdos jūrų uosto teritorijos;
- Netoli (100 m) rapsų perdirbimo įmonių UAB „Mestilla“, „Obelių aliejus“, UAB „Rapsoila“, UAB „Rukola“ teritorijų;
- Geležinkelio atkarpos Kena-Vilnius-Kaunas-Šiauliai-Klaipėda ruožas ties Kėdainiais-Akademija;
- Automagistralės Vilnius-Klaipėda A1 pakelėse.

Pastaba: Kadangi išlieka rizika, pasirinktose mėginių rinkimo vietose ar mėginio rinkimo laiko momentu, neaptikti rapsų augalų, dėl piktžolių kontrolės (nušienavimo ar herbicidų panaudojimo) ar kitų priežasčių, pasilikame galimybę keisti mėginių skaičių, atitinkamai surenkant didesnę mėginių skaičių kitose mėginių rinkimo vietose ar kitu rinkimo laiko momentu.



5 pav. Planuojamos mėginių rinkimo vietos.

2.2. Standartizuota galimų GM rapsų mėginių ėmimo metodika

Siekiant užtikrinti, kad skirtingu metu surinktų ėminių rezultatai galėtų būti lyginami tarpusavyje, jų surinkimo procedūra turi būti standartizuota.

2.2.1. Medžiaga galimai GM rapsų ėminiams

- ☐ Iš vieno augalo paimamas 1 šviežias jaunas lapas ar jo dalis (5 x 5 cm)
- ☐ Jei augalas yra labai mažas ar daigo stadijoje, paimamas visas augalas (be žemių) arba antžeminė augalo dalis

- ☐ Jei neįmanoma paimti lapų (lapai nugeltę/nudžiuvę), gali būti vietoj lapų paimama sėklų dėžutė

Jei yra dvejonų dėl augalo rūšies, reikia atskirai surinkti visas įmanomas augalo dalis, kad būtų galima atlikti rūšies identifikavimą. Ėminiai renkami pagal pateiktą Detalų galimų GM rapsų ėminių ėmimo planą, kuriame nurodytas ėmimo vietovės datos.

2.2.2. Ėminio pakavimas/ žymėjimas ir surinkimo formos pildymas

- ☐ Ėminiai surenkami į užspaudžiamus plastikinius maišelius
- ☐ Ėminio numeris užrašomas ant maišelio vandeniu atspariu žymekliu
- ☐ Kiekvieno mėginio paėmimo GPS koordinatės ir kita informacija pažymima ėminių surinkimo formoje: .

Mėginių surinkimo forma

(pildoma kiekvienai mėginio rinkimo vietai atskirame lape)

Mėginių surinkimo vieta:	
Mėginių rinkėjas:	Data:
Pastabos:	

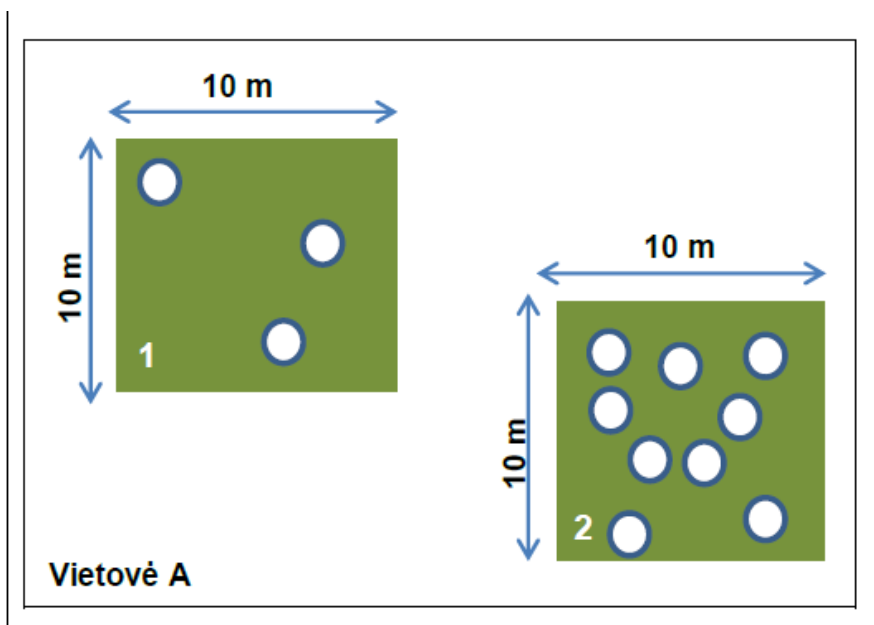
Mėginio numeris (ID)	Augalų skaičius mėginyje	Geografinės koordinatės (ar GPS koordinatės)	Pastabos

2.2.3. Ėminių rinkimo lauke procedūra

Augalų tankumas vietovėje yra ≤ 30 augalų/4 m² (mažas tankumas)

- paimami visi augalai
- iki 10 augalų gali būti apjungiami į vieną ėminį (iš kiekvieno augalo paimama po vieną lapą ar jo dalį).

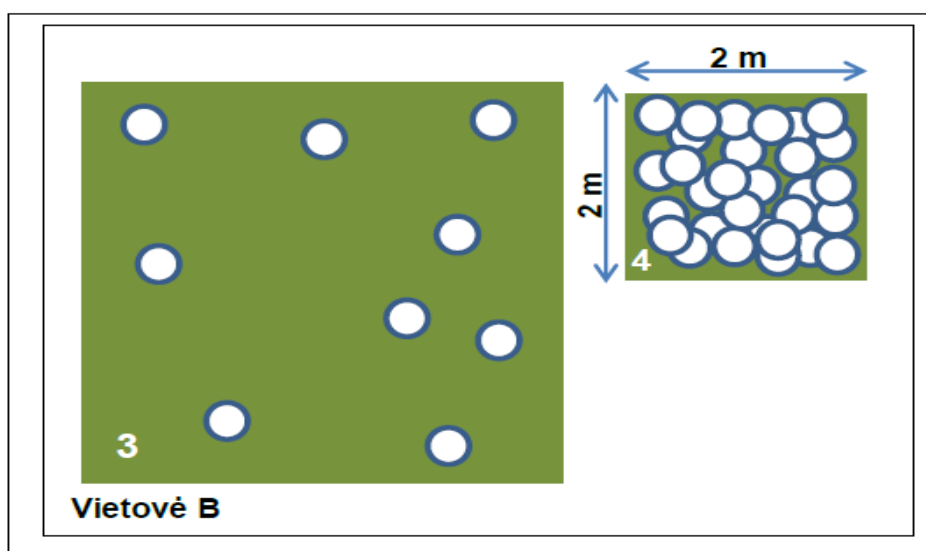
Pagrindinė taisyklė: augalai kurie auga 10x10 m teritorijoje gali būti apjungiami į vieną ėminį. Jei augalai auga didesniu atstumu vienas nuo kito, jie turi būti surenkami kaip atskiri ėminiai.



6 paveikslas. Vietovėje kur augalų tankis yra mažas, augalai 10 x 10 m plote gali būti renkami kaip jungtinis mėginys. Tuo tarpu augalai augantis toliau vienas nuo kitos turėtų būti renkami atskirai (1 ir 2 mėginiai).

Augalų tankumas vietovėje yra >30 augalų/4 m² (didelis tankumas)

- atsitiktine tvarka pasirenkami augalai jungtiniam ėminiui (ne mažiau 10 augalų vienam ėminiui)
Kadangi, augančios tankiai augalų grupės gali būti kilę iš vieno motininio augalo ir gali būti genetiškai identiškos, atsitiktinis mėginių pasirinkimas yra kompromisas tarp laiko ir finansinių išteklių bei visų žinių apie kiekvieną genotipą toje pačioje vietoje.



7 paveikslas. Vietovėje, kur augalai auga dideliu tankumu (>30 augalų/4 m²) mėginiai renkami atsitiktinai paimant ne mažiau 10 augalų jungtiniam mėginiui (4 ėminys); Jei augalai auga netoli

vienas nuo kito, tačiau nedideliu tankiu, jie taip pat surenkami kaip jungtinis mėginys (3 ėminys).

2.2.4. Mėginių transportavimas ir saugojimas

□ Transportavimas

- Ėminiai saugojami plastikiniuose maišeliuose.
- Ėminiai transportuojami šaltkreipšyje su šaldymo elementais (tiesiogiai ėminių nededant ant šaldymo elementų, kad jie nesusaltų)

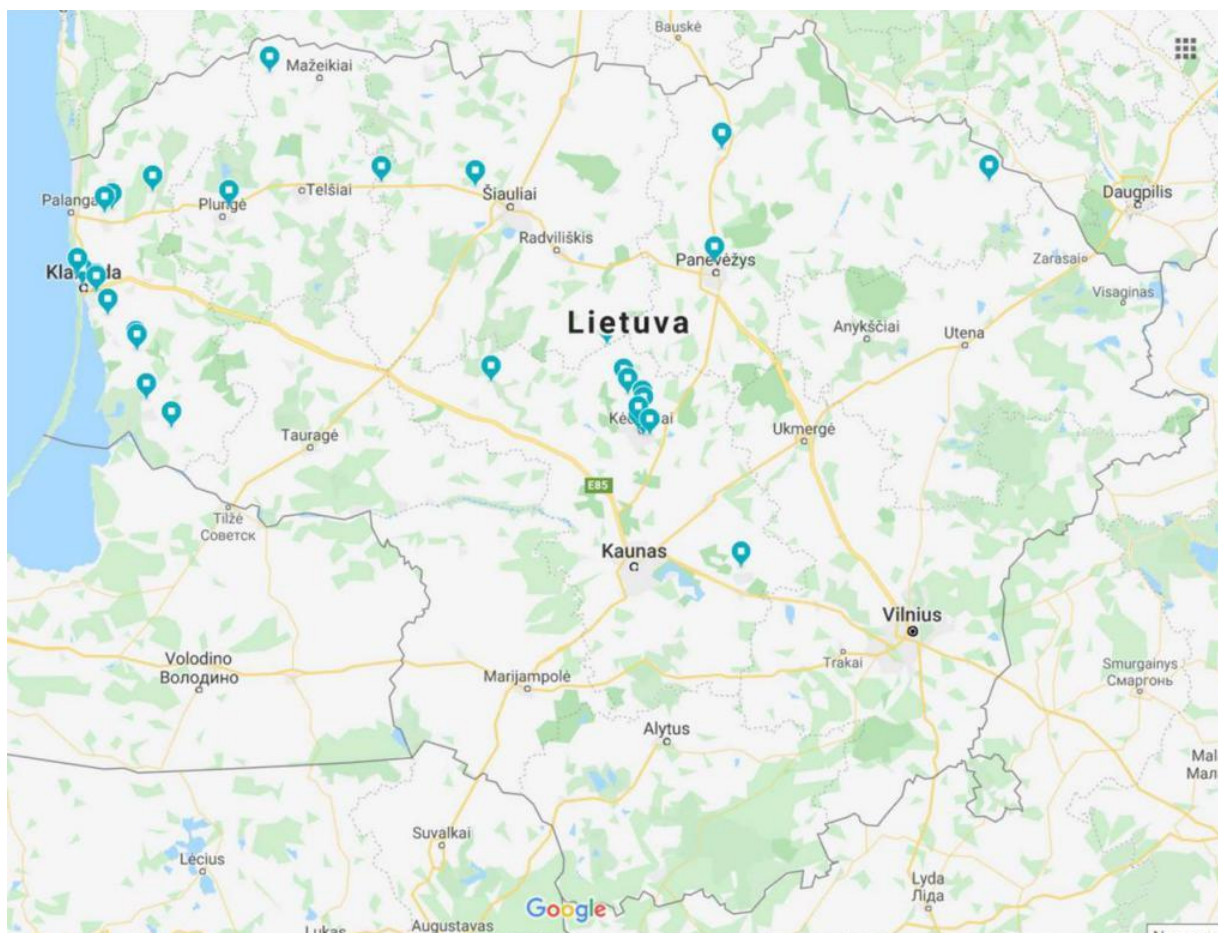
□ Saugojimas

- Laboratorijoje ėminiai užšaldomi ir saugojami šaldiklyje -80 °C temperatūroje iki analizės.

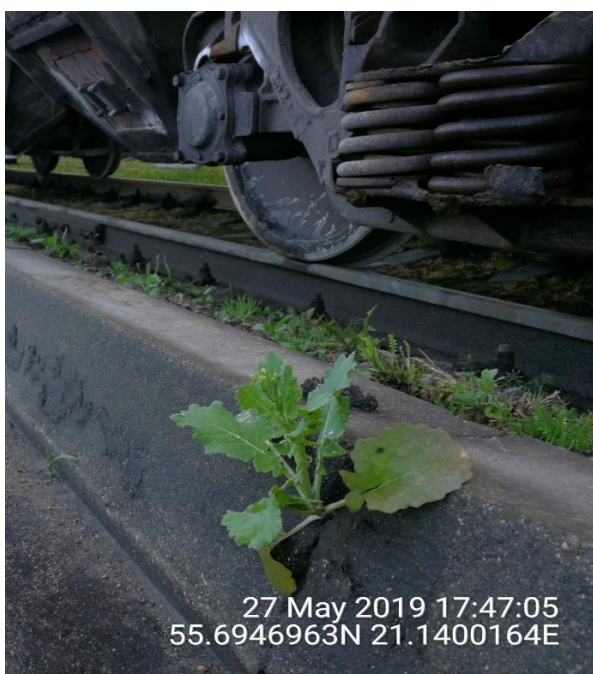
3. Pirmųjų metų augalų vegetacijos metu pagal mėginių planą atlikti tyrimai

3.1 Augalų surinkimas

Ėminių surinkimo vietos- augalai buvo surenkami palei geležinkelio bėgius ir kelius įvairiuose Lietuvos rajonuose (8 pav.) . Ėminiai buvo surinkti iš 14 skirtingų vietų juos renkant 5 etapais (1 Priedas). Iš viso surinkti 114 ėminių. Daugiausia mėginių surinkta Pasvalio, Klaipėdos, Mažeikių, Rokiškio, Kėdainių rajonuose.



8 pav. Pirmų metų (2019) ėminių vietos žemėlapyje



9 pav. Ėminiai šalia bėgių (koordinatės nuotraukose)



10 pav. Ėminiai šalikelėse

3.2. Mėginių analizė

Visi laboratoriniai DNR išskyrimo, genetinės modifikacijos nustatymo tyrimai buvo atliekami Nacionaliniu maisto veterinarijos rizikos vertinimo instituto (NMVRVI) GMO akredituotoje laboratorijoje vadovaujantis akredituotais GMO tyrimo metodais (<https://ec.europa.eu/jrc/en/research-topic/reference-materials-gmo-analysis>)

3.2.1. Mėginių paruošimas ir nukleorūgščių ekstrakcija

Metodas yra paremtas eukariotinės ar prokariotinės ląstelės lize (suardymu), DNR ir RNR ekstrakcija iš tirpalo. Išskirtos nukleorūgštys išvalymu nuo inhibitorių.

Metodas yra skirtas DNR ir RNR skyrimui iš augalinės kilmės matricų: sėklų, augalo lapų ir kt.

Ekstrakcijos metodai:

1. DNR išskyrimas standartiniu metodu ir išskirtos DNR valymas „Gene Spin“ komerciniu rinkiniu.
2. DNR išskyrimas „GeneSpin“ komerciniu rinkiniu.
3. DNR išskyrimas standartiniu metodu ir išskirtos DNR valymas „DNA Clean & ConcentratorTM“ komerciniu rinkiniu;

3.2.2. Reagentai ir medžiagos

Reagentai:

Naudojami komerciniai rinkiniai:

GeneScan „GENESpin“;

Zymo Research „DNA Clean & Concentrator“ ;

Kiti reagentai:

- Etanolis 96%
- Dejonizuotas vanduo
- GS lizės buferis
- Lizės buferis lecitinui
- Proteinazė K
- Chloroformas
- Izopropanolis

3.2.3. Įranga

- Audinių homogenizatorius (~30Hz);

- Malūnas (~50Hz);
- Purtyklės (~200-2500 rpm);
- Mėgintuvėliai (1.5-2 ml);
- Antgaliai su filtrais (įvairių tūrių);
- Šaldytuvai ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$);
- Šaldikliai ($-20\pm 3^{\circ}\text{C}$);
- Termostatai ($\sim 37^{\circ}\text{C}$ - 99°C);
- Centrifugos (apsisukimų greitis nemažesnis nei 4000 aps/min);
- Vakuuminis kolektorius;
- Vakuuminis siurblys;
- Automatinės pipetės (0.5-10 μl ; 2-20 μl , 5-50 μl , 10-100 μl , 20-200 μl ; 100-1000 μl ; 500-5000 μl);
- Elektroninės pipetės (1 μl -50 ml);
- Automatinė ekstrakcijos sistema.
- Fluorimetras;
- Spektrofotometras;
- Svarstyklės (tikslumas nemažesnis nei $\pm 0,001\text{g}$).

3.3 DNR išskyrimas

3.3.1.DNR išskyrimas iš augalų audinių, sėklų standartiniu metodu ir valymas GeneSpin komerciniu rinkiniu:

1. Ekstrakcijai pasverama ~2 g tiriamojo mėginio į 50 ml mėgintuvėlį;
2. Užpilama 10-15 ml lizės (GS) buferio bei pridedama 40-60 μl Proteinazės K tirpalo (20 mg/ml);
3. Inkubuojama ne mažiau 2 val. $\sim 65^{\circ}\text{C}$ temperatūroje;
4. Gerai supurtoma ir centrifuguojama 15-25 min. apie 8000-10.000 aps/min;
5. Į švarų mėgintuvėlį įnešamas įmanomas didžiausias kiekis švaraus supernatanto ir užpilamas lygus tūris chloroformo;
6. Gerai supurtoma 30s ir centrifuguojama 10-15 min. apie 8000-10.000 aps/min, kad atsiskirtų fazės;
7. Viršutinė fazė perkeliama į naują mėgintuvėlį ir užpilama 0,7 tūrio izopropanolio;

8. Inkubuojama apie 30 min. kambario temperatūroje;
9. Centrifuguojama 10 min. apie 8000-10.000 aps/min;
10. Gautos DNR nuosėdos plaunamos 500 - 1000 μ l (nuosėdos turi būti apsemtos) 75% etanolio tirpalu;
11. Centrifuguojama 5 – 10 min. apie 8000-10.000 aps/min, supernatantas švariai nusiurbiamas ir išmetamas.
12. DNR nuosėdos tirpinamos 500-1000 μ l dejonizuoto vandens (jei nuosėdos netirpsta pridedama papildomas kiekis vandens).

3.3.2. DNR valymas GeneSpin rinkiniu

1. DNR tirpalas sumaišomas su 1 tūriu Binding Buffer ir vienu tūriu 95% etanolio, viskas sumaišoma;
2. Gautas tirpalas perkeliamas ant filtravimo kolonėlių. Centrifuguojama >10 000 rpm, 1 minutę;
3. Kolonėlės perkeliamos į švarius centrifugavimo mėgintuvėlius, o filtratas išmetamas. Šis žingsnis kartojamas tol, kol ant kolonėlės sunešamas visas tirpalas gautas praeitame žingsnyje;
4. Ant kolonėlės užnešama 400 μ L Wash Buffer 1 tirpalo. Centrifuguojama >10 000 rpm, 1 minutę. Kolonėlės perkeliamos į švarius centrifugavimo mėgintuvėlius, o filtratas išmetamas;
5. Ant kolonėlės užnešama 600 μ L Wash Buffer 2 buferinio tirpalo. Centrifuguojama >10 000 rpm, 1 minutę;
6. Ant kolonėlės užnešama 300 μ L Wash Buffer 2 buferinio tirpalo. Centrifuguojama >10 000 rpm, 2 minutes;
7. Kolonėlės perkeliamos į švarius 1,5 mL arba 2 mL mėgintuvėlius, o filtratas išmetamas;
8. Ant kolonėlių užnešama apie 100 μ L eliacijos buferio, centrifuguojama apie 7000 rpm 1 min. Gautame tirpale yra mūsų išgryninta DNR;
9. Išskirta DNR saugoma šaldytuve $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, ilgesniam saugojimui DNR tirpalas laikomas šaldiklyje $-20\pm 3^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

3.3.3. DNR išskyrimas iš sėklų, augalų lapų, kurie yra smulkios frakcijos arba juos įmanoma smulkiai sumalti, „GeneSpin“ komerciniu rinkiniu.

1. Ekstrakcijai pasveriami 0,1-0,2 g tiriamojo mėginio į 2 ml mėgintuvėlį.
2. Įpilama 550-1100 µL Lizės buferio, pašildyto iki ~65 °C. Sumaišoma apie 15s. Pridedama 10-20 µL proteinazės K ir vėl sumaišoma. Lizės buferio galima pridėti papildomai, tam, kad mėginys būtų pilnai suspenduotas. Atitinkamai pridedama ir proteinazės K.
3. Mėginys inkubuojamas ~65 °C temperatūroje apie 30 min. vis supurtant.
4. Po lizės mėginys centrifuguojamas 10 min. >10 000 rpm.
5. Supernatantas atsargiai perkeliamas į naują 2 ml mėgintuvėlį.
6. Į supernatantą pridedamas 1 tūris Binding Buffer ir vienas tūris 95% etanolio, viskas sumaišoma;
7. Gautas tirpalas perkeliamas ant filtravimo kolonėlių. Centrifuguojama >10 000 rpm, 1 minutę;
8. Kolonėlės perkeliamos į švarius centrifugavimo mėgintuvėlius, o filtratas išmetamas. Šis žingsnis kartojamas tol, kol ant kolonėlės sunešamas visas tirpalas gautas 10.1.2.6. žingsnyje;
9. Ant kolonėlės užnešama 400µL Wash Buffer 1 tirpalo. Centrifuguojama >10 000 rpm, 1 minutę. Kolonėlės perkeliamos į švarius centrifugavimo mėgintuvėlius, o filtratas išmetamas;
10. Ant kolonėlės užnešama 600µL Wash Buffer 2 buferinio tirpalo. Centrifuguojama >10 000 rpm, 1 minutę;
11. Ant kolonėlės užnešama 300µL Wash Buffer 2 buferinio tirpalo. Centrifuguojama >10 000 rpm, 2 minutes;
12. Kolonėlės perkeliamos į švarius 1,5 mL arba 2 mL mėgintuvėlius, o filtratas išmetamas;
13. Ant kolonėlių užnešama apie 100 µL eliacijos buferio, centrifuguojama apie 7000 rpm 1min. Gautame tirpale yra mūsų išgryninta DNR;
14. Išskirta DNR saugoma šaldytuve 5±3°C temperatūroje, ilgesniam saugojimui DNR tirpalas laikomas šaldiklyje -20±3 °C temperatūroje.

3.3.4 DNR koncentracijos matavimas

DNR ar RNR koncentracijai įvertinti naudojamas fluorimetras ir/ ar spektrofotometras. DNR koncentracijos matavimas atliekamas pagal skyriaus procedūras „Qubit™ fluorimetro priežiūra ir naudojimas“.

3.4. Genetiškai modifikuotų rapsų nustatymas realaus laiko PGR metodu

Metodas paremtas Monsanto Biotechnology Regulatory Sciences sukurtais ir JRC (Joint Research Centre – European Commission, Biotechnology & GMOs Unit) įtvirtintais protokolais.

Metodas yra skirtas nustatyti genetiškai modifikuotų rapsų linijų, pateiktų GMO linijų sąraše, DNR kiekį augalų audiniuose, sėklose, perdirbtame/neperdirbtame maiste, pašaruose.

3.4.1 Reagentai:

DNR amplifikacijos reagentai:

- Realus laiko PGR buferinis tirpalas,
- Pradmenys ir zondai,
- Dejonizuotas vanduo

3.4.2 Įranga

1. Centrifugos (apsisukimų greitis ne mažesnis nei 10.000 rpm);
2. Purtyklės (200-2500 rpm);
3. 96 šulinėlių mikroplokštelės (0.1 ml, 0.2 ml);
4. Mėgintuvėliai (1.5-2 ml);
5. Antgaliai su filtrais (įvairių tūrių);
6. Šaldytuvai ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$);
7. Šaldikliai ($-20\pm 3^{\circ}\text{C}$);
8. Automatinės pipetės (0.1-2.5µl; 0.5-10µl; 2-20µl; 5-50 µl; 10-100µl; 20-200µl; 100-1000µl);
9. Realus laiko PGR sistema.

3.4.3 PGR kontrolė (NTC):

Ši kontrolė yra skirta sistemos veikimo patikrinimui. Realus laiko PGR vandens kontrolė rodo, kad ruošiant realaus laiko PGR reakcijas buvo išvengta DNR užteršimo. Yra labai svarbu, kad šiose reakcijose nebūtų jokių amplifikavimo produktų. Jei PGR vandens kontrolė rodo teigiamą reakciją, rezultatų interpretuoti tokiu atveju negalima, atliekami korekciniai veiksmai remiantis neatitikčių kontrolės ir korekcinio veiksmų procedūromis bei pakartojamas tyrimas.

3.4.4 Teigiama kontrolė:

Ši kontrolė yra skirta sistemos veikimo patikrinimui, kontrolinio mėginio teigiamas signalas įrodo, kad tyrimas atliktas teisingai. Jei rezultatai neigiami, atsakingas specialistas informuoja vedėją ir imasi priemonių, numatytų pagal neatitiktųjų kontrolės ir korekcinų veiksmų procedūras bei pakartojamas tyrimas.

2 lentelė. Reakcijos mišinio sudėtis vienai GM rapsų linijos reakcijai

Reagentas	Kiekis vienai reakcijai (μl)
Realaus laiko PGR buferinis tirpalas	12,5
Rapsų linijos pradmenų ir zondo mišinys (10x)	2,5
Dej. H ₂ O	5
Mėginys/kontrolė	5
Viso:	25

3 lentelė. Reakcijos mišinio sudėtis vienai FAT-A reakcijai

Reagentas	Kiekis vienai reakcijai (μl)
Realaus laiko PGR buferinis tirpalas	12,5
Rapso referentinio žymens pradmenų ir zondo mišinys (10x)	2,5
Dej. H ₂ O	5
Mėginys/kontrolė	5
Viso:	25

3. Į mikroplokštelės šulinėlius įpilame po 20 μl reakcijos mišinio, taip pat į kiekvieną šulinėlį pridedame po 5 μl mėginio, arba teigiamos/neigiamos kontrolės.
4. Kiekybiniame tyrime vienam mėginiui atliekamos 6 reakcijos (pakartojimai) GM rapsų linijos sistemai ir 6 reakcijos FAT-A sistemai.
5. Kiekybiniame tyrime vienai teigiamai žinomos procentinės koncentracijos kontrolei atliekamos 3 reakcijos (pakartojimai) GM rapsų linijos sistemai ir 3 reakcijos FAT-A sistemai.

6. Kiekybinio tyrimo neigiamai PGR kontrolei atliekama 1 reakcija GM rapsų linijos sistemai ir 1 reakcija FAT-A sistemai.
7. Mikroplokštelė užklijuojama, bei nucentrifuguojama ~2000 rpm.
8. Mikroplokštelė dedama į aparatą ir nustatomas temperatūrinis režimas.
9. PGR reakcijų mišiniai, reagentai, kontrolinės medžiagos ilgesniam saugojimui laikomi šaldikliuose, o mėginiai iki tyrimų pabaigos laikomi šaldytuvuose.

4 lentelė. Reakcijos temperatūrinė programa

Žingsnio Nr.	Žingsnio pavadinimas	Žingsnio temperatūra	Žingsnio trukmė	Ciklų skaičius
1.	UNG pre-PGR dekontaminacija	50 °C	2 min.	1
2.	Pradinė denatūracija	95 °C	5 min.	1
3.	DNR denatūracija kiekviename cikle	95 °C	15 s.	45

3.5 Kiekybinis ir / ar kokybinis nustatymas (identifikavimas)

Pasibaigus realaus laiko PGR, rezultatai analizuojami realaus laiko sistemos kompiuterine programa, jei reikalinga, pažymimas referentinis dažas ROX, nustatomas automatinis bazinės linijos parinkimas, nustatomas reikalingas slenkstis „threshold“ kiekvienai sistemai (GM rapsų linijos ir FAT-A). Kompiuterinė programa apskaičiuoja kiekvieno mėginio Ct reikšmes. Gauti rezultatai eksportuojami į Excel formatą.

Bendru atveju procentinė modifikacija apskaičiuojama:

$$\text{GMO linija (\%)} = (\text{GM geno kopijų skaičius} / \text{referentinio geno kopijų skaičius}) \times 100\%.$$

 Skaičiuojamas procentinis GM rapsų linijos kiekis nuo visų mėginyje esančių rapsų.

Gautas mėginio/teigiamos kontrolės variacijos koeficientas neturi viršyti 25% ribos, priešingu atveju fiksuojama ir pildoma neatitiktį ir korekcinių veiksmų ataskaita.

Kontrolės rezultatai registruojami į kontrolinę diagramą. Nustačius, kad kontrolinio mėginio analizės rezultatas patenka už veiksmo ribų ir/ar du iš trijų nuoseklių rezultatų patenka už įspėjamosios linijos ir/ar septyni nuoseklūs rezultatai patenka į tą pačią bendros vidutinės vertės linijos pusę ir/ar septyni nuoseklūs rezultatai sudaro aiškiai didėjančią ar aiškiai mažėjančią tiesią liniją, galima daryti išvadas, kad pakito prietaiso tikslumas ar atsirado sisteminė klaida.

4. PIRMŲ METŲ REZULTATAI

Visi laboratoriniai DNR išskyrimo, genetinės modifikacijos nustatymo tyrimai buvo atliekami tik GMO akredituotoje laboratorijoje vadovaujantis akredituotais GMO tyrimo metodais (<https://ec.europa.eu/jrc/en/research-topic/reference-materials-gmo-analysis>) - Nacionaliniame maisto veterinarijos rizikos vertinimo instituto (NMVRVI) GMO akredituotoje laboratorijoje.

Rezultato pateikimas priklauso nuo gauto GM ir/ar referentinio geno kopijų skaičiaus ir gautos procentinės išraiškos.

Kokybiniam ir kiekybiniam tyrimui atitinkamos GM rapsų linijos nustatymui pakankamas rapsų kopijų skaičius t. y. aptikimo ir nustatymo riba pateikta GMO linijų sąrašė.

Jei gautas atitinkamos GM rapsų linijos ir FAT-A genų kopijų skaičius mažesnis nei nustatymo riba, bet didesnis nei aptikimo riba – atsakyme pateikiama, kad rasta GM rapsų linijos mažiau už kiekybinio nustatymo ribą.

Jei gautas atitinkamos GM rapsų linijos ir FAT-A genų kopijų skaičius mažesnis nei nustatymo riba ir mažesnis nei aptikimo riba – atsakyme pateikiama, kad nerasta GM rapsų linijos.

Jei gautas atitinkamos GM rapsų linijos ir FAT-A genų kopijų skaičius didesnis nei nustatymo riba, atsakyme pateikiama:

- Jeį apskaičiuota tiksli GM rapsų linijos procentinė modifikacija yra skaičius mažesnis už 0,1%, tuomet atsakyme pateikiama, kad rasta GM rapsų mažiau už 0,1%.
- Jeį apskaičiuota tiksli GM rapsų linijos procentinė modifikacija yra skaičius didesnis už 0,1%, tuomet atsakyme pateikiama, tiksli GM rapsų procentinė išraiška $\pm$ metodo neapibrėžtis.
- Jeį apskaičiuota tiksli atitinkamos GM rapsų linijos procentinė modifikacija yra bet koks skaičius didesnis už 5%, tuomet atsakyme pateikiama, kad rasta GM rapsų daugiau už 5%.

2019 m. pavasario ėminiai

Augalų skaičius viename mėginyje skirtingose vietovėse svyravo nuo 1 iki 18

5 lentelė. Tyrimo mėginių aprašymas 1-29 mėginiai

Eil. nr	Mėginys	Mėginio kiekis, g	Eil. nr	Mėginys	Mėginio kiekis, g
1	Rapsai P-8	10 g	16	Rapsai ŽUT-7	10 g
2	Rapsai P-9	10 g	17	Rapsai ŽUT-8	10 g
3	Rapsai P-10	10 g	18	Rapsai ŽUT-9	10 g
4	Rapsai P-11	10 g	19	Rapsai ŽUT-10	10 g
2	Rapsai P-12	10 g	20	Rapsai ŽUT-11	10 g
6	Rapsai P-13	10 g	21	Rapsai ŽUT-12	10 g
7	Rapsai P-14	10 g	22	Rapsai ŽUT-13	10 g
8	Rapsai P-15	10 g	23	Rapsai MEST-13	10 g
9	Rapsai P-16	10 g	24	Rapsai MEST-14	10 g
10	Rapsai P-17	10 g	25	Rapsai MEST-15	10 g
11	Rapsai P-18	10 g	26	Rapsai MEST-16	10 g
12	Rapsai P-19	10 g	27	Rapsai DGS-04	10 g
13	Rapsai P-H2	10 g	28	Rapsai DGS-05	10 g
14	Rapsai P-20	10 g	29	Rapsai DGS 06	10 g
15	Rapsai P-21	10 g			

6 lentelė. Tyrimo mėginių aprašymas 30-64 mėginiai

Eil. nr	Mėginys	Mėginio kiekis, g	Eil. nr	Mėginys	Mėginio kiekis, g
30	Rapsai OBE-1	10 g	48	Rapsai PAN-H1	10 g
31	Rapsai OBE-2	10 g	49	Rapsai PAN-02	10 g
32	Rapsai OBE-3	10 g	50	Rapsai PAN-03	10 g
33	Rapsai OBE-4	10 g	51	Rapsai ŠL-01	10 g
34	Rapsai OBE-5	10 g	52	Rapsai ŠL-02	10 g
35	Rapsai OBE-6	10 g	53	Rapsai ŠL-03	10 g
36	Rapsai OBE-7	10 g	54	Rapsai ŠL-04	10 g
37	Rapsai OBE-8	10 g	55	Rapsai KED-1	10 g
38	Rapsai OBE-9	10 g	56	Rapsai KED-2	10 g
39	Rapsai OBE-10	10 g	57	Rapsai KED-3	10 g
40	Rapsai OBE-H1	10 g	58	Rapsai KED-4	10 g
41	Rapsai OBE-H2	10 g	59	Rapsai KED-5	10 g
42	Rapsai Gkal-1	10 g	60	Rapsai KED-6	10 g
43	Rapsai Gkal-2	10 g	61	Rapsai KED-7	10 g
44	Rapsai Gkal-3	10 g	62	Rapsai KED-8	10 g
45	Rapsai Gkal-4	10 g	63	Rapsai KED-9	10 g
46	Rapsai Gkal-5	10 g	64	Rapsai KED-10	10 g
47	Rapsai PAN-01	10 g			

7 lentelė. Genetiškai modifikuotų rapų kiekis mėginiuose. Išsamesni genetiškai modifikuotų augalų nustatymo tyrimo rezultatai patekiami 3 priede.

Mėginio nr.	Rasto GMO kiekis	Mėginio nr.	Rasto GMO kiekis	Mėginio nr.	Rasto GMO kiekis
1	NERASTA	11	NERASTA	21	NERASTA
2	NERASTA	12	NERASTA	22	NERASTA
3	NERASTA	13	NERASTA	23	NERASTA
4	NERASTA	14	NERASTA	24	NERASTA
5	NERASTA	15	NERASTA	25	NERASTA
6	NERASTA	16	NERASTA	26	NERASTA
7	NERASTA	17	NERASTA	27	NERASTA
8	NERASTA	18	NERASTA	28	NERASTA
9	NERASTA	19	NERASTA	29	NERASTA
10	NERASTA	20	NERASTA		

8 lentelė. Genetiškai modifikuotų rapų kiekis mėginiuose. Išsamesni genetiškai modifikuotų augalų nustatymo tyrimo rezultatai patekiami 4 priede.

Mėginio nr.	Rasto GMO kiekis	Mėginio nr.	Rasto GMO kiekis	Mėginio nr.	Rasto GMO kiekis
30	NERASTA	42	NERASTA	54	NERASTA
31	NERASTA	43	NERASTA	55	NERASTA
32	NERASTA	44	NERASTA	56	NERASTA
33	NERASTA	45	NERASTA	57	NERASTA
34	NERASTA	46	NERASTA	58	NERASTA
35	NERASTA	47	NERASTA	59	NERASTA
36	NERASTA	48	NERASTA	60	NERASTA
37	NERASTA	49	NERASTA	61	NERASTA
38	NERASTA	50	NERASTA	62	NERASTA
39	NERASTA	51	NERASTA	63	NERASTA
40	NERASTA	52	NERASTA	64	NERASTA
41	NERASTA	53	NERASTA		

Pirmaisiais šio projekto metais, atlikus rapso augalų, surinktų per du skirtingus laikotarpius (pavasario 79 mėginius, vasaros 35 mėginius), tyrimą ir išanalizavus gautus rezultatus nei viename mėginyje nebuvo aptikta genetiškai modifikuotų rapsų rūšių, arba buvo mažiau nei naudotojo tyrimo metodo kokybinio nustatymo riba.

IŠVADOS

1. Išnagrinėtuose teisės aktuose, reglamentuojančiuose GMO naudojimą, transportavimą, apgalvotą išleidimą į aplinką, spontaniškai išsiskėjusių augalų rizikos aplinkai vertinimą, pabrėžama būtinybė stiprinti GMO rizikos stebėsenos ir kontrolės sistemą. Dėl sparčiai pasaulyje kuriamų naujų genetinės modifikacijos metodų ir GMO, kuriuose pakeistas ne vienas, o keli genai, būtina vykdyti stebėseną ir kontrolę nuolat.
2. Įvertinus kitų šalių patirtį, nustatyta, kad GM augalai gali išsiskirti ir tose šalyse, kuriose GM augalai nėra auginami (Japonija, Šveicarija), tačiau, yra naudojami produktų perdirbimo procese, aliejaus, biokuro gamyboje.
3. Atlikus mokslinius tyrimus kitose šalyse nustatyta, kad GM rapsas gali išbyrėti transportuojant skirtingomis transporto priemonėmis - jūrų uostuose perkraunant sėklas, geležinkelio ruožuose, vežant automobiliais sėklos gali išbyrėti dėl nesandarios jų pakuotės ar nesandarių talpų, o taip pat saugojimo ir perdirbimo patalpose, netgi fejerverkų gamybos ir naudojimo metu (gali būti rapsų sėklų).
4. Projekto metu identifikuotos mėginių ėmimo vietos Lietuvos teritorijoje pagal galimą GM rapso išsiskėjimo riziką keliančius objektus: biodegalų gamyklas, kitas rapso perdirbimo vietas, krovinių gabenimo tranzitinių/magistralinių kelių, geležinkelių atkarpas; prioriteto tvarka parengtas mėginių ėmimo vietų sąrašas; nurodytas kiekvienoje identifikuotoje vietoje mėginių ėmimo laikas/dažnis/skaičius buvo suderintos su Užsakovu.
5. Pirmųjų metų augalų vegetacijos metu pagal mėginių planą atlikus rapso vegetacinio augalų dalių iš 114 taškų, surinktų aplink pagrindines geležinkelio linijas, pagrindines aliejaus perdirbimo įmones įvairiuose Lietuvos rajonuose, GMO akredituotoje laboratorijoje vadovaujantis akredituotais GMO tyrimo metodais su visomis specifinėmis GM rapsų rūšimis, nei viename iš 114 mėginių nebuvo nustatyta bent vienos genetinės modifikacijos iš ieškotų genetiškai modifikuotų rapsų rūšių.
6. Užmegsti ryšiai su kitų Europos šalių moklo tyrimo institucijomis (pvz., ISPRA) sudarė galimybes Lietuvos mokslininkams dalyvauti GM augalų spontaninio išplitimo Europoje stebėsenos programose teikiant rekomendacijas Europos Sąjungos, Europos Komisijos Aplinkos Generaliniam Direktoratui.

7. Spontaninio GM rapso išsisklidimo metu galimi jų hibridų, susikryžminusių su sėjamoju rapsu, svėre ir dirviniu garstuku atvejai, todėl būtina antraisiais šio projekto metais įvertinti spontaninio rapso hibridizacijos mechanizmą Lietuvoje (Šveicarijos mokslininkų atlikto tyrimo patirtis).

Rekomendacijos

1. Dėl sparčiai pasaulyje kuriamų naujų genetinės modifikacijos metodų ir GMO, kuriuose pakeistas ne vienas, o keli genai, būtina galimai išsisklidusio GM rapso Lietuvos teritorijoje stebėseną vykdyti nuolat.
2. Stebėseną tikslinga vykdyti jūrų uosto perkrovos punktuose, GM rapso išsisklidimo riziką keliančiuose objektuose: biodegalų gamyklose, rapso aliejaus perdirbimo vietose, krovinių gabenimo tranzitinių/magistralinių kelių, geležinkelių atkarpose.

Projekto viešinimas

Pristatyti 4 pranešimai seminare „Collaboration between ISPRA and Ministry of Environment LT“, 20219 balandžio 4-5, Roma, Italija:

- 1 Algimantas Paulauskas, Gintaras Brazauskas, Kristina Jaskune, Žygimantas Janeliunas, Institutional greetings and description of institutional role of MoE, VMU, LRCAF and NFVRI
2. Algimantas Paulauskas. MoE/VMU two years project for the evaluation of accidental dispersion of genetically modified rapeseed in the territory of Lithuania
3. Rita Armonienė. Preliminary plan for rapeseed sampling
4. Žygimantas Janeliunas Preparation of plant samples and their laboratory analysis

- **Numatyta dalyvauti** 12th meeting of the Joint EPA / ENCA Interest Group on Risk Assessment and Monitoring of GMOs 20th – 21st April 2020, Bonn, Germany (*dėl CoViD-19 atšauktas*)
- IOBC Meeting GMOs in Integrated Plant Production: new date. 13.-15. September 2020, Berlynas

Rengiamas straipsnis CA WOS žurnalui

Paulauskas A., Brazauskas G., Jurgelevičius V., Radzijeuskaja J., Gričiuvienė L., Jaškūnė K., Armonienė R., Janeliunas Ž. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Lithuanian roadside. **Weed Science**.

LITERATŪROS SARAŠAS

1. ARCHIVED - Glufosinate Ammonium Tolerant Canola (T45), 1997, AgrEvo Canada
2. Austrian Gene Technology Act, 1995 <http://www.gentechnik.gv.at>
3. Bailleul D., Ollier, S., Huet, S., Gardarin, A., Lecomte, J. 2012. Seed spillage from grain trailers on road verges during oilseed rape harvest: an experimental survey. PloS ONE: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032752>.
4. Bauer-Panskus A., Breckling, B., Hamberger, S., Schumm, M., Then, C. 2013: Cultivation-independent establishment of genetically engineered plants in natural populations: current evidence and implications for EU regulation. Environmental Sciences Europe 25. doi: 10.1186/2190-4715-25-34.
5. Bauer-Panskus A., Hamberger, S., Then, C. 2015 : Die unkontrollierte Aus-breitung gentechnisch veränderter Organismen – eine Übersicht über aktuelle Fälle und neue Risiken durch die Synthetische Biologie. Testbiotech, Munich. 40 pp.
6. Bendrasis žemės ūkio augalų rūšių veislių katalogas, GM maisto ir pašarų, leistų ES, registras — http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm;
7. Bendrasis žemės ūkio augalų rūšių veislių katalogas, GM maisto ir pašarų, leistų ES, registras — http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm
8. Busi, R., Powles, S. B. 2016: Transgenic glyphosate-resistant canola (Brassica napus) can persist outside agricultural fields in Australia. Agriculture, Ecosystems & Environment, 220: 28-34.
9. Busi, R., Powles, S. B. 2016: Transgenic glyphosate-resistant canola (Brassica napus) can persist outside agricultural fields in Australia. Agriculture, Ecosystems & Environment, 220: 28-34.
10. David B Resnik*1 and Daniel B Vorhaus, 2006, “Genetic modification and genetic determinism Philosophy, Ethics, and Humanities in Medicine”
11. Definition of Minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing. European Network of GMO Laboratories (ENGL), 2015.
12. Dėl genetiškai modifikuotų augalų pasėlių sambūvio su tradicinių ir ekologiškų augalų pasėliais taisyklių patvirtinimo
13. DNA Clean & ConcentratorTM – 25“ rinkinio aprašymas.
14. DNR koncentracijos matavimo rinkinio “Quant-iTTM dsDNA BR Assay Kit” rinkinio aprašymas.
15. DNR koncentracijos matavimo rinkinio “Quant-iTTM dsDNA HS Assay Kit” rinkinio aprašymas.
16. Dolezel Marion, Simon Samson, Otto Mathias, Engelhard Margret, Züghart Wiebke. Gene Drive Organisms. Implications for the Environment and Nature Conservation. Wien, 2019 Reports, Band 0705 ISBN: 978-3-99004-524-4 35 S.
17. EU Register of authorised GMOs https://webgate.ec.europa.eu/dyna/gm_register/index_en.cfm
18. Europos Komisijos 2002 m. liepos 24 d. sprendimas 2002/623/EB, pateikiantis nurodymus, papildančius Direktyvos 2001/18/EB II priedą
19. Europos Komisijos įgyvendinimo reglamentas Nr. 503/2013 dėl paraiškų genetiškai modifikuotų maisto produktų ir pašarų leidimams gauti pagal Europos Parlamento ir

- Tarybos reglamentą (EB) Nr. 1829/2003 ir iš dalies jį keičiančius Komisijos reglamentą (EB) Nr. 641/2004 ir Komisijos reglamentą (EB) Nr. 1981/2006
20. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva (ES) 2015/412, kuria iš dalies keičiamos Direktyvos 2001/18/EB nuostatos dėl valstybių narių galimybės savo teritorijoje riboti ar drausti genetiškai modifikuotų organizmų (GMO) auginimą
 21. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas Nr. 1829/2003 dėl genetiškai modifikuoto maisto ir pašarų.
 22. Event-specific Method for the Quantification of Oilseed Rape Line T45 Using Real-time PCR.“ http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/T45_validated_RTPCR_method.pdf
 23. Event-specific Method for the Quantification of Oilseed Rape Line MS8 Using Real-time PCR.
http://gmocrl.jrc.ec.europa.eu/summaries/Ms8_validated_Method_Corrected%20version%201.pdf
 24. Event-specific Method for the Quantification of Oilseed Rape Line Rf3 Using Real-time PCR.“
 25. Event-specific Method for the Quantification of Oilseed Rape Line RT73 Using Real-time PCR.“ http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/RT73_validated_Method.pdf
 26. Federal Act on Non-Human Gene Technology (Gene Technology Act, GTA , of 21 March 2003 (Status as of 1 January 2018) <https://www.admin.ch/opc/814.91.pdf>
 27. Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – General requirements and definitions (ISO 24276:2006).
 28. GENESpin, GeneScan rinkinio aprašymas.
 29. Genetiškai modifikuotų mikroorganizmų, genetiškai modifikuotų organizmų arba jų, kaip atskirų produktų ar esančių kituose produktuose, rizikos žmonių sveikatai ir aplinkai įvertinimo reikalavimai
 30. Greene, S.L.; Kesoju, S.R.; Martin, R.C.; Kramer, M., 2015. Occurrence of Transgenic Feral Alfalfa (*Medicago sativa* subsp. *sativa* L.) in Alfalfa Seed Production Areas in the United States. PLoS ONE:
<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0143296>.
 31. Guidance Document for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events by the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO);
 32. Guidance Document for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events by the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO);
 33. Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants, *EFSA Journal* 2010;8(11):1879[111 pp.];
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1879.htm>;
 34. Henk J. Schouten, Frans A. Krens & Evert Jacobsen, 2006, „Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants“, EMBO reports.
 35. Yang L, Pan A, Zhang H, Guo J, Yin C, Zhang D. 2006, “Event-specific qualitative and quantitative polymerase chain reaction analysis for genetically modified canola T45”

36. Idun Grønsberg and Lilian van Hove, 2017, "MS8, RF3 and MS8xRF3 oilseed rape"
37. IG GMO, 2020. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/info-specialists/ig-gmo.html>
38. Yoshimura Y., Beckie, H.J., Matsuo, K. 2006: Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada. *Environmental Biosafety Research* 5 (2): 67-75.
39. Katsuta K., Matsuo, K., Yoshimura, Y., Ohsawa, R. 2015: Long-term monitoring of feral genetically modified herbicide-tolerant *Brassica napus* populations around unloading Japanese ports. *Breeding Science* 65: 265-275.
40. Keith Edmisten, „What Is the Difference Between Genetically Modified Organisms and Genetically Engineered Organisms?“ 2016, (NC State Extension, NC State University)
41. Knispel A.L., McLachlan, S.M., Van Acker, R.C., Friesen, L.F. 2008: Gene flow and multiple herbicide resistance in escaped canola populations. *Weed Science*, 56 (1): 72-80.
42. Lang A., Oehen, B., Ross, J-H., Bieri, K., Steinbrich, A. 2015: Potential exposure of butterflies in protected habitats by *Bt* maize cultivation: A case study in Switzerland. *Biological Conservation* 192: 369-377.
43. Li Maoteng, Liu Jianmin, Zhangyi, Wang Pei, Gan Lu and Yu Longjiang *Pakistan Journal of Biological Science*, 2007 „A Simple DNA Extraction Method for PCR Amplification from Dry Seeds of *Brassica napus*“
44. Lietuvos respublikos aplinkos ministras, Lietuvos respublikos sveikatos apsaugos ministras, Lietuvos respublikos žemės ūkio ministras, valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos direktorius įsakymas „dėl genetiškai modifikuotų mikroorganizmų, genetiškai modifikuotų organizmų arba jų, kaip atskirų produktų ar esančių kituose produktuose, rizikos žmonių sveikatai ir aplinkai vertinimo tvarkos aprašo patvirtinimo
45. Lietuvos Respublikos aplinkos ministro 2004 m. balandžio 29 d. įsakymu Nr. D1-225 „Dėl Genetiškai modifikuotų organizmų apgalvoto išleidimo į aplinką, tiekimo rinkai tvarkos aprašo patvirtinimo“ pakeitimas (2019 m. birželio 3 d. Nr. D1-340) <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/c9dd09f085fc11e98a8298567570d639>
46. Lietuvos respublikos aplinkos ministro įsakymas dėl genetiškai modifikuotų organizmų apgalvoto išleidimo į aplinką, pateikimo į rinką tvarkos aprašo patvirtinimo.
47. Lietuvos Respublikos genetiškai modifikuotų organizmų įstatymas priimtas 2001 metais
48. Lyklema, J. (1995). *Fundamentals of Interface and Colloid Science*.
49. LST EN ISO 21571:2005 „Maisto produktai. Analizės metodai aptikti genetiškai modifikuotus organizmus ir jų produktus. Nukleorūgščių ekstrahavimas.“
50. Malorny, B. J. Hoorfar, B. and R. Helmuth, 2003, „Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of Salmonella PCR towards an International Standard“, *Applied and Environmental Microbiology*, 290 – 296.
51. Mariam Sticklen, 2015, „Transgenic, Cisgenic, Intragenic and Subgenic Crops“, *Advances in Crop Science and Technology*, USA
52. Monsanto. "What is Roundup Ready canola?", 2013
53. Nacionalinė aplinkos apsaugos strategija. 2015. <http://gmo.am.lt/page?page=view&format=frontend&id=b7450b83-0ef2-4f2e-a20a-83b6f3037328>

54. Nishizawa T., Nakajima, N., Aono, M., Tamaoki, M., Kubbo, A., Saji, H. 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environmental Biosafety Research* 8.01: 33-44.
55. Nishizawa T., Nakajima, N., Aono, M., Tamaoki, M., Kubbo, A., Saji, H. 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environmental Biosafety Research* 8.01: 33-44.
56. OECD Consensus document „Safety Assessment of transgenic organisms in the environment“, Volume 5;
57. Parnell, J. and Curtis, T. 2012. Webb's An Irish Flora Cork University Press.
58. Pascher K., Hainz-Renetzeder C., Gollmann G. and Schneeweiss G.M. 2017: Spillage of Viable Seeds of Oilseed Rape along Transportation Routes: Ecological Risk Assessment and Perspectives on Management Efforts. *Frontiers in Ecology and Evolution* 5:104. doi: 10.3389/fevo.2017.00104
59. Paulauskas A.; Studija „Rapsų pasėlių minimalių izoliacinių atstumų nuo kryžmažiedžių augalų modeliavimas“, 2008
60. Piñeyro-Nelson A., Van Heerwaarden, J., Perales, H.R., Serratos-Hernández, J.A., Rangel, A., Hufford, M.B., Gepts, B., Garay-Arroyo, A., Rivera-Bustamante, R., Álvarez-Buylla, E.R. 2009. Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. *Molecular Ecology*, 18 (4): 750-761.
61. Price, B. and Cotter, J. 2014: The GM Contamination Register: a review of recorded contamination incidents associated with genetically modified organisms (GMOs), 1997–2013. *International Journal of Food Contamination*, 1(1), 1-13.
62. Rachel Ross, 2019, “What Is Genetic Modification”, Live Science.
63. Rosie S. Hails, 2000, „Genetically modified plants – the debate continues“, Elsevier Science Ltd.
64. Saji H., Nakajima N., Aono M., Tamaoki M., Kubo A., Wakiyama S., Hatase Y., Nagatsu M. 2005: Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environmental Biosafety Research*, 4(4): 217-222.
65. Schafer M.G., Ross, A.A., Londo, J.P., Burdick, C.A., Lee, E.H., Travers S.E. Van de Water, P.K., Sagers, C.L. 2011: The Establishment of Genetically Engineered Canola Populations in the U.S. *PLoS ONE*: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025736>.
66. Schönenberger N., D’Andrea, L. 2012: Surveying the occurrence of subspontan-eous glyphosate-tolerant genetically engineered *Brassica napus* L. (*Brassica-ceae*) along Swiss railways. *Environmental Sciences Europe*, 24 (1): 1-8.
<http://link.springer.com/article/10.1186/2190-4715-24-23>.
67. Schönenberger N., D’Andrea, L. 2012: Surveying the occurrence of subspontan-eous glyphosate-tolerant genetically engineered *Brassica napus* L. (*Brassica-ceae*) along Swiss railways. *Environmental Sciences Europe*, 24 (1): 1-8.
<http://link.springer.com/article/10.1186/2190-4715-24-23>.
68. Schulze J., Brodmann, P., Oehen, B., Bagutti, C. 2015: Low level impurities in imported wheat are a likely source of feral transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.) in Switzerland. *Environmental Science and Pollution Research* 22 (21): 16936–16942.
69. Schulze J., Frauenknecht, T., Brodmann, P., Bagutti, C. 2014: Unexpected Diversity of Feral Genetically Modified Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) Despite a Cultivation and Import Ban in Switzerland. *PLoS ONE*

70. Statistikos departamento prie Lietuvos Respublikos Vyriausybės generalinio direktoriaus 2003 m. lapkričio 21 d. įsakymą Nr. DĮ-190 „Dėl augalininkystės produkcijos supirkimo mėnesinio periodiškumo statistinių ataskaitų patvirtinimo“ (Žin., 2003, Nr. 44-2013)
71. Suzie Key; Julian K-C Ma; Pascal MW Drake, 2008 „Genetically modified plants and human health“ UK
72. Todd Nickle, Isabelle Barrette-Ng, 2019, „Transgenic Organisms“
73. Turrini A., Sbrana C., Giovannetti M. Belowground environmental effects of transgenic crops: a soil microbial perspective. *Research in Microbiology*, 166, (2015), 121-131
<http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2015.02.006>
74. Valstybinė augalininkystės tarnyba. 2019. 12. 16.
http://www.vatsum.lt/lt/naujienos/lietuvoje_nera_auginama_gmo/
75. Valstybinės augalininkystės tarnybos prie žemės ūkio ministerijos direktoriaus 2012 m. sausio 6 d. Nr. A1-6 į s a k y m a s “Dėl genetiškai modifikuotų augalų pasėlių, žmonių maistui ir gyvūnų pašarams neskirtų genetiškai modifikuotų augalų, augalinių produktų ir dauginamosios medžiagos siuntų bei tų pasėlių ir siuntų, kurie galėjo būti genetiškai modifikuoti, kontrolės ir stebėsenos Lietuvos respublikoje tvarkos aprašo patvirtinimo”
<https://www.e-tar.lt/portal/lt/legalAct/TAR.DD1212C37FAA/asr>
76. Warren I. Schaeffer, 1990, “Terminology Associated with Cell, Tissue and Organ Culture, Molecular Biology and Molecular Genetics”.
77. Wei Wu*,x, Baoe Luo Ma*,l and Joann K. Whalen, “Enhancing Rapeseed Toleranceto Heat and Drought Stresses in a Changing Climate: Perspectives for Stress Adaptation from Root System Architecture” State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Areas, College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, China
78. Wilhelm Ralf, Beissner Lutz, Schiemann Joachim. Concep for the realisation of a GMO monitoring in Germany. 2003 Braunsvhweig.
79. Wu G., Zhang L., Wu Y., Cao Y., Lu C., Comparison of Five Endogenous Reference Genes for Specific PCR Detection and Quantification of Brassica napus, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58 (5), psl. 2812–2817
80. Zünd Jan, Wüst Saucy Anne Gabrielle, 2018. Monitoring of Spontaneous Populations of Genetically Modified Plant Species in the Environment - Experiences and Recommendations for the Design of a Monitoring Programme. Federal Agency for Nature Conservation (BfN), Germany Wiebke, Züghart , Hintermann & Weber AG, Christoph Bühler,

Internetiniai šaltiniai:

81. <http://bch.cbd.int/protocol/>;
82. <http://bch.cbd.int/protocol/>;
83. <http://gmo.am.lt>
84. <http://gmo.am.lt/page?page=newsItem&id=1fdd6ea7-d228-45a4-a952-65baa34bbe8b>
85. <http://gmo.am.lt>;
86. http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/accredited_methods.htm
87. http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/accredited_methods.html;
88. http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/Rf3_validated_Method.pdf

89. <http://www.oecd.org/science/biotrack/>;
90. [http://www.vatzum.lt/lt/naujienos/susitikimas su pakruojo rajono rapsu augintojais/](http://www.vatzum.lt/lt/naujienos/susitikimas_su_pakruojo_rajono_rapsu_augintojais/)
91. <http://www.vatzum.lt/lt/veiklos-sritys/augalu-dauginamoji-medziaga/>

PRIEDAI

1 Priedas. Ėminių surinkimo suvestinė

Jungtinių ėminių skaičius									
Ėminių surinkimo vieta	I etapas			II etapas			IV etapas		
	B. napus	R. raphanistrum	2019 05 27 - 06 04	B. napus	R. raphanistrum	2019 07 16 - 17	B. napus	R. raphanistrum	2019 09 27
Pasvalys, UAB "Pasvalio agrochemija"	3		4	1	7	4	3	1	
Rapsoliai	2		3						
Korkisio r. Obelių aliejinė					4		6	2	
Klaipėda, UAB "Mestila"	8	1	4		4				
produktų krovos terminalas	3		3	1	5	2			
Kaistatorius			4	1					
Gudžiūnai-Akademija-Kėdainiai XIB koridorius	2		1			2	1		
Kretinga-Padvarys - Kūlpėnai, Klaipėdos r. XIB koridorius			5						
Gelėžinkelio atkarpą Kaliningradas-Klaipėda				1		4			
Siauliai-Telsiai XIB koridorius						4			
Rancuzys						1	2		
Kedainiai						10			
Plungės r. pakelės	3								
Raseinių r. pakelės	1								
Višo		20		27	21	20			
	114								

2 Priedas. 2019 metų pavasario ėminiai.

Eil. nr	Kodas	Augalų skaičius mėginyje	Eil. nr	Kodas	Augalų skaičius mėginyje
1	P1	2	26	MEST-6	13
2	P2	12	27	MEST-7	9
3	P3	5	28	MEST-8	10
4	P4	10	29	HIB	2
5	P5	8	30	MEST-9	4
6	P6	14	31	MEST-10	8
7	P7	17	32	MEST-11	7
8	P-H1	3	33	MEST-12	12
9	M1	5	34	Plunge1	10
10	M2	5	35	Plunge2	5
11	M3	10	36	Plunge3	3
12	M4	12	37	225-1	3
13	M5	10	38	DGS-1	13
14	ŽUT-1	2	39	DGS-2	18
15	ŽUT-2	5	40	DGS-03	9
16	ŽUT-3	11	41	KAI-01	7
17	ŽUT-4	12	42	KAI-02	13
18	ŽUT-5	10	43	KAI-03	12
19	ŽUT-6	4	44	KAI-04	12
20	ŽUT-H1	1	45	KAI-H1	3
21	MEST-1	9	46	KRE-01	14
22	MEST-2	3	47	KRE-02	13
23	MEST-3	7	48	KRE-03	10
24	MEST-4	9	49	KRE-04	12
25	MEST-5	8	50	KRE-05	12

[illegible]

[illegible]

[illegible]

MS8rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	MS8rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
RF3 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	RF3 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
T45 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	T45 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
Mėginio Nr.	62		Mėginio Nr.	63	
GT(RT) 73 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	GT(RT) 73 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
MS8rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	MS8rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
RF3 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	RF3 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
T45 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)	T45 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)
Mėginio Nr.	64				
GT(RT) 73 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)			
MS8rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)			
RF3 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)			
T45 rapso kiekis, %	NERASTA	SDP 5.4.4.G.49 (4 leidimas)			

5 priedas. Monitoringo kategorijos pagal kriterijus.

Kriterijus	Stebėsenos kategorija
Galimo neigiamo kaupiamojo ilgalaikio poveikio stebėseną turėtų būti laikoma privaloma stebėjimo plano dalimi.	konkreto atvejo stebėjimas, bendroji priežiūra
Į stebėsenos planą įtrauktas konkretus atvejo stebėsenos atvejo turėtų sutelkti dėmesį į galimą poveikį, kurį gali sukelti GMO pateikimas į rinką, kurie buvo išryškinti remiantis rizikos aplinkai vertinimo išvadomis ir prielaidomis.	konkreto atvejo stebėjimas
Reikėtų atsižvelgti į konkretus atvejo stebėsenos ir bendros priežiūros ekonominį efektyvumą.	konkreto atvejo stebėjimas, bendroji priežiūra
remiantis naujausiomis mokslo įžvalgomis ir praktika	
tinkamas požiūris	konkreto atvejo stebėjimas, bendroji priežiūra
tinkama laiko skalė; pakankamai ilgas laikotarpis	
galimo tiesioginio, netiesioginio, tiesioginio ar uždelsto neigiamo poveikio tikimybė	
ciklinio stebėjimo proceso sukūrimas, kad būtų galima nuolat gerinti programos kokybę	konkreto atvejo stebėjimas, bendroji priežiūra
GMO stebėsenos planų projektas turėtų būti kuriamas palaipsniui	
nustatyti galimą neigiamą poveikį ankstyvoje stadijoje	

Atlikdami rizikos aplinkai patvirtinkite moksliskai pagrįstas prielaidas	konkreto atvejo stebėjimas
Tačiau jei rizikos įvertinimo išvadose nustatoma, kad nėra rizikos arba kad rizika yra nereikšminga, stebėjimo konkrečiu atveju gali būti nereikalaujama.	
Galimas neigiamas poveikis, nustatytas rizikos aplinkai vertinime, turėtų būti įtrauktas į stebėsenos planą tik tuo pagrindu, kad stebėseną galėtų padėti patvirtinti arba paneigti su šiuo poveikiu susijusias prielaidas.	
daugiausia paremtas įprastiniais stebėjimais	bendroji priežiūra
ilgesnis laikotarpis	
platesnė sritis	



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Federal Department of the Environment, Transport,
Energy and Communications DETEC
Federal Office for the Environment FOEN

12th meeting of the Joint EPA / ENCA Interest Group on Risk Assessment and Monitoring of GMOs

20th – 21st April 2020, Bonn, Germany

Programme

File reference: BAFU-061.312-01-2098/24/6

1 Detailed Programme

Will follow!

2 Preliminary Programme

- **What next?**
 - o Current Work Programme ends by the end of 2021. Discussion the preparation of the final report for the work period 2017-2021.
 - o Discussing the option of preparing a new mandate / work programme (2022-2026) to be endorsed by the EPA and ENCA plenaries.
 - **NBT:**
 - o Report on legal analysis commissioned by the BfN on new technologies by Professor Tade Spranger, University of Bonn
 - **Gene Drive Organisms:**
 - o Discussion and finalization of the opinion paper directly at the meeting. Following the meeting, all members will seek their hierarchy's endorsement until the autumn plenaries of EPA and ENCA, where we will present it to request its endorsement. See also *
 - o We are considering publishing an adjusted version of the opinion paper in a scientific journal. We would like to discuss this idea with you and come to a decision at the meeting.
- *The drafting group, composed of members from BfN (D), UBA (A), ISPRA (I) and FOEN (CH), is currently working on the opinion paper on GDO. All IG GMO members will receive the draft of the document and a schedule for its finalization and forwarding as soon as possible. We will request you to send your feedback on the draft at the latest one week before the IG GMO meeting in Bonn (i.e. by April 13th). Additionally, we would like you to inquire into your agency's endorsement of the opinion paper. Based on your feedback, the drafting group will revise the document, identify differences of opinion and prepare a basis for discussion at the meeting.
- **GMO-Monitoring:**
 - o Short presentation of two new research projects for GMO-monitoring (genome editing) (BfN)
 - o New concept in Switzerland: Adaptive Monitoring and a new definition of the survey area.
 - o The Italian experience with developing a GMO-monitoring concept and its extension to the national level (to be confirmed!)
 - o Discussion about preparing a scientific paper with all the GMO-monitoring concepts and results.

Federal Office for the Environment FOEN
Jan Zünd
3003 Bern
Location: Worblentalstrasse 68, 3063 Ittigen
Tel. +41 58 46 220 82, Fax +41 58 46 479 78
Jan.Zuend@bafu.admin.ch
<https://www.bafu.admin.ch>



BAFU-D-1A3B3401/1150

- **Methods for detection of products derived from new breeding techniques:**
 - o Report on a currently running research project on "Detection methods for genome edited and classical GM plants" (Michael Eckerstorfer (UBA), Samson Simon (BfN))
 - o Round robin test (or interlaboratory test)
 - o Current situation – challenge, projects, collaborations
- **COP MOP:**
 - o Sharing views and positions regarding GMO risk assessment and emerging issues such as environmental aspects related to organisms containing gene drive and issued from new breeding technologies.
- **Future document on genome editing:**
 - o Regulation, traceability, risk assessment, risk management, monitoring, nature conservation, categorization, ...

3 Participants

Country	Member State	Contact Details
Austria	Environment Agency Austria	Michael Eckerstorfer michael.eckerstorfer@umweltbundesamt.at +43 31304 3313 Marion Dolezel marion.dolezel@umweltbundesamt.at +43 31304 3120
Czech Republic	Ministry of the Environment	Milena Roudná milena.roudna@seznam.cz +420 731 376 256
Finland	Finnish Environment Institute	Marja Ruohonen-Lehto marja.ruohonen-lehto@ym.fi +358 400 148 641
Germany	Federal Agency for Nature Conservation	Wiebke Züghart wiebke.zueghart@bfn.de +49 228 8491 1460 Margret Engelhard margret.engelhard@bfn.de +49 228 8491 4860
Italy	Italian Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA)	Valeria Giovannelli valeria.giovannelli@isprambiente.it +39 06 5007 2444
Lithuania	Ministry of Environment of the Republic of Lithuania Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry	Odeta Pivorienė odeta.pivoriene@am.lt +370 706 63564 Gintaras Brazauskas gintaras.brazauskas@lammo.lt +370 347 37 057
Malta	Environment & Resources Authority, Malta	Frankie Meilak frankie.meilak@era.org.mt +356 229 238 88
Poland	The Ministry of Environment, Department Nature Conservation, GMO Unit	Marcin Grabowski marcin.grabowski@mos.gov.pl +48 22 369 2027
Switzerland	Federal Office for the Environment (FOEN)	Anne Gabrielle Wüst Saucy annegabrielle.wuestsaucy@bafu.admin.ch +41 58 46 383 44 Jan Zünd jan.zuend@bafu.admin.ch +41 58 462 20 82