

## Mat á umhverfisáættu

### Fylgiskjal með umsókn ORF Líftækni hf um leyfi til ræktunar á erfðabreyttu bygg á landi Landgræðslunnar í Gunnarsholti (2021)

#### **Samantekt**

ORF Líftækni hf (stofnað 2001) hefur búið til og ræktað erfðabreytt bygg í yfir 18 ár í þeim tilgangi að nýta byggð til framleiðslu á sérvirkum próteinum sem eru svo einangruð og hreinsuð úr byggfræjunum. Erfðabreytta byggð er því eingöngu nýtt til sameindaræktunar (molecular farming) en ekki sem fæði eða fóður. ORF Líftækni sækir nú um leyfi til ræktunar á erfðabreyttu bygg í landi Landgræðslu Ríkisins að Gunnarsholti á Rangárvöllum. Tilgangur ræktunarinnar er að kanna hvort hægt er að rækta á Íslandi þau erfðabreyttu byggjyrki sem ORF notar í sínum rannsóknum og framleiðslu. ORF hefur ræktað bygg í um 14 ár í gróðurhúsi sínu í Grindavík auk þess sem ORF hefur einnig framkvæmt tilraunaræktanir á bygg í Kanada síðan 2013. ORF hefur áður prófað ræktun í Gunnarsholti (t.d. árin 2010 – 2013) með afar misjöfnum árangri en nú hefur ORF víxlað nokkrum erfðabreyttum yrkjum inn í betri ræktunaryrki og prófað ræktun þeirra í gróðurhúsi ORF í Grindavík með góðum árangri. Niðurstöður fyrirhugaðrar ræktunar í Gunnarsholti verða bornar saman við ræktanir í Kanada sem og í gróðurhúsi ORF. Ef ræktunin skilar góðum niðurstöðum hefur ORF í hyggju að gera fleiri tilraunaræktanir á stærri skala með ræktanir til framleiðslu að markmiði innan fárra ára. Framleiðslan mun snúa að sameindaræktun á frumvökum og öðrum próteinum sem eru mikilvæg fyrir frumuræktað kjöt (cell cultured meat; CCM) sem er ört vaxandi svið. ORF fékk nýlega 50 MISK styrk frá Tækniþróunarsjóði sem og 2,5 milljónir Evra í styrk frá Evrópusambandinu í gegnum Horizon 2020 sjóðinn til að þróa, besta og skala upp framleiðslu á ódýrum vaxtarþáttum fyrir CCM markaðinn en þessi kostnaður hefur verið ein af stærstu hindrunum í þessu ferli. CCM mun draga verulega úr neikvæðum umhverfisáhrifum sem fylgja hefðbundinni kjötframleiðslu og auka fæðuöryggi ásamt því að draga úr líkum á að sjúkdómar berist úr dýrum í fólk.

## A. Almennar upplýsingar.

### 1. Nafn og heimilisfang umsækjanda (fyrirtækis eða stofnunar).

ORF Líftækni hf., kt. 420202-3540.

Lögheimili: Melhólabraut 4, 240 Grindavík

Skrifstofa: Víkurhvarf 7, 203 Kópavogur

### 2. Nafn, menntun, hæfni og reynsla vísindamanns eða vísindamanna sem bera ábyrgð á verkefninu.

Jón Már Björnsson, framkvæmdastjóri Rannsóknar- og þróunarsviðs hjá ORF Líftækni. Jón Már er með doktorsgráðu í sameindalíffræði og hefur m.a. umsjón með tilbúningi nýrra erfðabreyttra byggjarkja hjá ORF sem og víxlana við önnur yrki. Jón Már hefur starfað hjá ORF síðan í apríl 2009.

Ásta Agnes Jóhannesdóttir: Stöðvarstjóri gróðurhúsi ORF Líftækni, Ásta Agnes er menntuð sem garðyrkjufræðingur á Garðplöntuframleiðslubraut frá Landbúnaðarháskóla Íslands 2010, skrudgarðyrkjumeistari frá Tækniskóla Íslands 2011 og Garðyrkjufræðingur á Ylræktarbraut 2012 frá Landbúnaðarháskóla Íslands. Ásta Agnes hefur langa reynslu af plönturæktun og hefur starfað hjá ORF Líftækni síðan í júlí 2012 við ræktun á erfðabreyttu byggi.

### 3. Heiti verkefnis.

Sameindaræktun (molecular farming) á erfðabreyttu byggi – stuttnefni VakaRækt.

### 4. Upplýsingar um sleppingu:

#### a) Tilgangur sleppingar:

- 1) Kanna hvort hægt er að rækta erfðabreytt byggjarkja á Íslandi,
- 2) Kanna almenna ræktunareiginleika yrkjanna, s.s. spírun, vöxt, sjúkdómaþol, þroska og uppskerumagn per ræktunareiningu.
- 3) Bera saman ræktun í Gunnarsholti við sambærilega tilraunaræktun í Kanada. ORF hefur ræktað nokkur erfðabreytt yrki í tilraunaræktun í Kanada síðan árið 2013 með góðum árangri.
- 4) Bera saman mismunandi byggjarkja m.t.t. tjáningar á markpróteini hvers yrkis.
- 5) Könnun á því hvort sameindaræktun eigi framtíð á Íslandi bæði hvað varðar reglugerðarumhverfi og viðskiptalega forsendur.

#### b) Áætluð dagsetning eða áætlaðar dagsetningar og tímalengd sleppingar:

Áætlað er að sá út á tímabilinu 20. apríl – 10. maí ár hvert á árunum 2021 – 2025. Uppskera er áætluð í september og október sömu ár.

#### c) Aðferð sem notuð er við sleppingu erfðabreyttu háplöntunnar:

Hefðbundin aðferð við sáningu og uppskeru byggs með tækjum til ræktunarrannsókna sem áætlað er að leigja frá Landbúnaðarháskóla Íslands – sjá neðangreindar myndir.



Tækin verða hreinsuð sérstaklega fyrir og eftir notkun við VakaRækt og þess vandlega gætt að engin fræ berist frá ræktunarsvæði með tækjunum.

**d) Vinnubrögð við undirbúning og viðbúnað á sleppingarstað, fyrir, á meðan og eftir sleppingu, m.a. ræktunar- og uppskeruaðferðir:**

Fræ til sáningar á ræktunarsvæði verða flutt í sekkjum í lokuðum ílátum frá húsnæði ORF Líftækni (Víkurbær 7, Kópavogur) sem nú þegar hefur leyfi til ræktunar og meðhöndlunar á erfðabreyttu byggi. Ræktunarreitir í Gunnarsholti verða girtir af með rafgirðingu og merktir kyrfilega skv. reglum þar að lútandi. Reglulegt eftirlit verður með reitunum, sérstaklega strax eftir sáningu og eins er líður að uppskeru og þreskingu. Ræktunaraðferðir eru hefðbundnar þar sem byggfræjum er sáð með áburði og illgresiseyði. Um miðbik ræktunar (júni/júlí) er ráðlagt að úða ræktunarsvæði með blöndu af uppleystum áburði, illgresiseyði og efni gegn myglusveppi. Á seinni hluta ræktunar (ágúst) er ráðlagt að úða aftur með blöndu af uppleystum áburði og efni gegn myglusveppi.

Uppskeyra fer fram með tækjum sem verða leigð frá LbHÍ og hefur þegar verið samið um það með fyrirvara um leyfisveitingu. Byggið er uppskorið í sekki og öxin falla við skurð í vel merkta sekki sem verður vandlega lokað og þeir settir í lokuð ílát (t.d. fiskiker með loki eða tunnur með loki, fer eftir magni) og fluttir í gróðurhús ORF í Grindavík þar sem frekari hreinsun, þurrkun og þresking á sér stað. Uppskeyrumagn verður skráð. Hálmurinn verður hirtur og brenndur á staðnum eða plastaður og fluttur í Sorpbrennslu Suðurnesja (Kalka) og brenndur þar (líkt og gert er við sambærilegan úrgang úr gróðurhúsaræktun ORF).

**e) Áætlaður fjöldi plantna (eða fjöldi plantna á hvern fermetra):**

Miðað er við að uppskeran verði upb 350-400 plöntur á hvern fermetra. Þetta miðast við að spírunarþrósentu fræjanna er góð eða meiri en 90%. Uppskeyrumagn er upb 4-5 g af fræjum per plöntu.

**5. Upplýsingar um sleppingarsvæði:**

**a) Staðsetning og stærð sleppingarsvæðis eða sleppingarsvæða:**

Ræktunarsvæðið verður í landi Landgræðslu Ríkisins að Gunnarsholti á Rangárvöllum og hefur þegar verið samið við Landgræðsluna um ræktunina með fyrirvara um leyfisveitingu. Aðstæður í Gunnarsholti henta mjög vel fyrir þessa ræktun. Um er að ræða mjög stórt svæði sem auðveldar mjög að halda þessari ræktun aðskildri frá annarri ræktun. Vegna þess hversu stórt svæðið er (um 12.000 ha) er auðvelt að velja ræktunareiti er henta best fyrir afmörkun. Lítil hefðbundinn landbúnaður er í Gunnarsholti og afmörkun því auðveld og örugg og nokkuð úr alfaraleið. Út frá því magni sem fyrirhugað er að sá út af erfðabreyttu byggi í Gunnarsholti 2021 má áætla að ræktunarsvæðið geti að hámarki orðið allt að 2.000 m<sup>2</sup> að þessu sinni (sjá töflu í Viðauka aftast í þessu skjali).



**b) Lýsing á vistkerfi sleppingsvæðis, þ.m.t. loftslagi, jurtaríki og dýraríki:**

Fyrrum örfoka sandar sem nú hafa verið græddir upp af Landgræðslu Ríkisins, sem á landið. Þar vaxa nú tré, grös, og stundum bygg, hafrar og lín og jafnframt ýmsar villtar plöntur sem algengar eru á láglandi Íslands. Þar eru til staðar algeng villt dýr á Íslandi, s.s. fuglar sem algengir eru í og nærri ræktuðu landi og einnig má reikna með hagamúsum, ánamöðkum, sniglum, skordýrum o.þ.h. á svæðinu.

**c) Víxlfrjóvgunarhæfar skyldar villijurtir eða ræktaðar jurtategundir á sleppingarstað:**

Engar slíkar eru þekktar sem gætu fræðilegar víxlfrjóvgast við bygg sem er sjálfrjóvgandi planta

**d) Fjarlægð frá opinberlega viðurkenndum lífgerðum eða verndarsvæðum sem gætu orðið fyrir áhrifum:**

Gunnarsholt nær yfir mjög stórt svæði sem auðveldar verulega að halda þessari ræktun aðskildri frá annarri ræktun. Vegna þess hversu stórt svæðið er (um 12.000 ha) er auðvelt að velja ræktunarreiti er henta best fyrir afmörkun. Engin hefðbundinn landbúnaður er í Gunnarsholti og afmörkun því auðveld og örugg og nokkuð úr alfaraleið.

**B. Vísindalegar upplýsingar.****1. Upplýsingar um arfþegaplöntuna eða, eftir því sem við á, móðurplöntu:****a) Fullt heiti: Bygg, Hordeum vulgare**

i. ætt: Poaceae

ii. ættkvísl: Triticeae

iii. tegund: Hordeum

iv. undirtegund: vulgare

**v. ræktunarafrbrigði eða ræktunarlína:**

ORF nýtir yrkið Golden Promise (GP) til erfðabreytinga þar sem það er eina yrkið sem hægt er að erfðabreyta með viðunnandi árangri en GP hentar hinsvegar ekki mjög vel til ræktunar úti á akri. Erfðabreyttum GP bygglínum hefur verið víxlað inn í önnur byggyrki sem hafa betri framleiðslu- og ræktunareiginleika og verða afkvæmin prófuð í tilraunaræktuninni. Víxlunaryrkin sem ORF er að vinna með eru: Conlon og Austenson sem bæði eru kanadísk yrki; Kola sem er dökkt tilraunaryrki sem ORF lét búa til; Risö sem er danskt tilraunaryrki; Kría, Teista og Smyrill sem eru íslensk byggyrki en vinna með þessi yrki er komin styst á veg.

**b) Landfræðileg útbreiðsla og ræktun á plöntunni innan Evrópska efnahagssvæðisins:**

Byggið finnst nánast um allan heim enda þótt það sé frekar bundið við norðlægar slóðir. Ísland er á norðurmörkum kornræktar í heiminum en talið er að rækta megi bygg til nytja á um helmingi bújarða á landinu. Sumarið 2008 var bygg ræktað á um það bil 4.328 hekturum lands, sem er tæplega 0.6% af því ræktarlandi sem gæti talist henta byggæktun (uppl. Bændasamtökin). Uppskera hefur sveiflast milli ára

og var í sögulegu hámarki 2009 þegar hún var um 16,8 þúsund tonn en var svo t.d. um 7.000 tonn árið 2014 (Rit LbHÍ nr. 115, 2019). Best eru skilyrðin syðst á landinu og í innsveitum norðanlands. Þó ber að hafa í huga að hin fjöldamörgu yrki sem prófuð hafa verið hér á landi henta misvel eftir aðstæðum á hverjum stað. Þannig er Golden Promise ekki talið það besta til ræktunar hér á landi enda hafa bændur ekki valið það.

### **c) Upplýsingar um frjóvgun:**

#### **i. frjóvgunarhættir:**

Bygg er sjálffrjógva planta, frjóvgun verður inni í blóminu áður en það opnast og þegar það opnast eru frjókornin dauð þannig að bygg getur ekki víxlfrjógvast.

#### **ii. sérstakir þættir sem hafa áhrif á frjóvgun, ef um þá er að ræða:**

Til að frjóvgun verði þarf blómið að myndast og ræktunaraðstæður því að vera nægilega góðar til þess; t.d. áburðargjöf í byrjun og svo utanaðkomandi þættir eins og veðurfar og hitastig.

#### **iii. kynslóðartími:**

Það tekur byggð um 4 mánuði að verða fullþroska eftir sáningu. Þetta er örlítið breytilegt eftir umhverfisaðstæðum og því hvaða yrki er notað því sum eru aðeins fljótari til en önnur.

### **d) Möguleiki plantnanna til víxlfrjóvgunar við aðra ræktaða stofna eða villtar plöntur:**

Við val á hýsli (þ.e. bygg) fyrir starfsemi ORF (sameindaræktun), var fyrst og fremst haft í huga að kerfið gæti tryggt afmörkun við íslensk jarðræktarskilyrði, þ.e. kerfi sem gæti hindrað genaflæði og dreifingu plöntunnar utan ræktunarsvæða. Afmörkunin var talin bæði líffræðileg og vistfræðileg og þ.a.l. myndi byggð falla vel að ýrtruðu öryggiskröfum sem gerðar eru til ræktunar á erfðabreyttum plöntum í íslenskrari ræktun. Bygg er sjálffrjógva planta sem takmarkar mjög og nánast útilokar möguleika hennar til víxlfrjóvgunar við aðrar plöntur. Frjóvgun á sér stað áður en blómið opnast og þegar það svo opnast þá eru frjókornin dauð. Til að víxlfrjóvgun gæti fræðilega átt sér stað þyrftu yrkin að mynda blóm á sama tíma og standa mjög þétt saman og lifandi frjókorn þyrftu að berast á milli. Það er hinsvegar algengast að mismunandi yrki myndi blóm á mismunandi tíma og víxlunarferlinu lýkur yfirleitt á innan við 2 dögum. Ekki er vitað til þess að bygg víxlist við aðrar plöntutegundir, ræktaðar eða villtar. Engin tegund í íslenskrari flóru eða almennri íslenskrari ræktun er það skyld byggji að búast mætti við víxlfrjóvgun og erfðaflæði af þeim sökum út fyrir ræktunarsvæðið. ORF hefur ræktað erfðabreytt bygg í gróðurhúsi sínu í Grindavík síðan 2006 þar sem mismunandi byggjínur sem framleiða ólík markprótein (e. target protein) eru ræktaðar í miklu návígi og aldrei hefur orðið vart við víxlfrjóvgun milli þessarar byggjína sem allar eru Golden Promise og oft sáð út samtímis.

Rannsóknastofnun landbúnaðarins, RALA, (nú hluti af Landbúnaðarháskóla Íslands, LbHÍ) gerði rannsóknir á byggji árin 2001-2004 þar sem staðfest var að engin víxlfrjóvgun greindist í um 500 þúsund plöntum sem voru skoðaðar og lýsti þessum niðurstöðum í Riti LbHÍ no. 1 árið 2005 (Jónatan Hermannsson ofl; sjá meðfylgjandi). Erlendar rannsóknir og reynsla styðja þessar niðurstöður; t.d. á Skáni í Svíþjóð, þar sem er mun hlýrra en á Íslandi, eru mismunandi kynbótalínur ræktaðar hlið við hlið í tilraunareitum án þess að víxlfrjóvgun trufla starfið með óæskilegri blöndun lína. Auk þess má geta þess að í Kanada er einungis krafist 3 metra fjarlægðar á milli erfðabreytts byggs og annars byggs í tilraunareitum. Samkvæmt þessu yrði ekki mælanleg frjókornadreifing á milli einstaklinga í sama



ræktunarreit, hvað þá til einstaklinga sem gætu verið fjarskyldir og vaxa utan þessara reita í e-i fjarlægð. Skyldi svo fara að lifandi frjó bærast frá plöntunum eru þau einungis frjóvgunarhæf í um eina klukkustund við bestu skilyrði að mati sérfræðinga (Jónatan Hermannsson).

#### **e) Lífvænleiki:**

##### **i. hæfileiki til að mynda formgerðir sem auka lífvænleika eða vaxtardvala:**

Engin ástæða er til að ætla að hin erfðabreyttu byggyrki hafi hæfileika umfram óerfðabreytt byggyrki til myndunar formgerða sem auka lífvænleika þeirra eða vaxtardvala.

##### **ii. þættir sem hafa áhrif á lífvænleika, ef um þá er að ræða:**

Á ekki við

#### **f) Útbreiðsla:**

##### **i. dreifingarleiðir, útbreiðsla og þættir sem hafa áhrif á útbreiðslu:**

Almennt talað dreifast plöntur með víxlfrjóvgun og dreifingu fræja sem geta lifað af sjálfsdáðun í náttúrunni. Í lið 1d hér að ofan hefur verið sýnt fram á að bygg er sjálffrjóvga planta og víxlfrjóvgast ekki á Íslandi. Í greininni sem vísað er í hér að ofan (Rit LbHÍ no. 1 árið 2005; meðfylgjandi), kemur einnig fram að byggfræ hafa afar litla hæfileika til að berast frá ræktunarstað með vindi og að bygg getur ekki þrífist í náttúru Íslands án aðstoðar (ræktunar) mannsins.

Skv. munnlegum upplýsingum Jónatans Hermannssonar, sérfræðings LbHÍ í kynbótum á bygg, er mögulegt að byggkorn á unnu, ræktuðu landi, lifi af veturinn og spíri að vori sé jörð ekki plægð bæði að hausti og vori. Hins vegar er ólíklegt að þessi planta muni ná að bera fullþroskuð fræ í lok sumarins, þar sem þessi fræ spíruðu ekki við hentugustu skilyrðin. Forathugun á þessu fór fram sumrin 2002 og 2003: Sumarið 2001 var sáð bygg í um 0.25 ha stykki á Korpu (land LbHÍ). Um haustið var kornið þreskt en stykkið látið standa óhreyft fram á sumar 2002. Í ágúst 2002 voru liðhlaupar frá fyrra ári (fræ sem lifðu af vetur og spíruðu um vorið) taldir og reyndust þeir 132 á þessum 0.25 ha. Stykkið var enn látið eiga sig fram á sumar 2003. Við talningu þá fannst engin byggplanta. Þessi forathugun styrkti það sem bændur hér á landi hafa löngum vítað að byggfræ sem verða eftir á akrinum eftir þreskingu spírar að mjög litlu leyti vorið eftir. Ennfremur að þau fræ sem þó spíra vorið eftir eigi erfitt uppdráttar. Plantan fer seint af stað og nær varla að mynda fullþroska fræ á þeim tíma sem eftir er sumars.

Utan ræktunarlands gegnir öðru máli, þar sem bæði vantar jarðvinnslu og áburð og samkeppni er frá öðrum gróðri. Þótt byggkorn berist út fyrir ræktunarland eru litlir möguleikar á að þar vaxi upp þroskuð planta sem geti viðhaldið sér. Engar heimildir eru um slíkt hér á landi þrátt fyrir meira en hálfra aldar ræktun þess hér á landi. Þessi sama reynsla hefur fengist í Finnlandi en þar hefur hvorki víxlfrjóvgun við aðrar tegundir átt sér stað, né hefur bygg tekist að nema land utan ræktunarreita (Ritala et al 1999). Í Riti LbHÍ no 1; 2005; (Jónatan ofl) var einnig skoðuð vinddreifing byggfræja og landnám í náttúrulegu vistkerfi. Erfitt getur reynt að mæla þetta þar sem mjög sterkan vind þarf til að fræin losni úr axi. En nóttina 16. september 2004 gerði aftakaveður á Suðurlandi og í Gunnarsholti var vindhraðinn slíkur að annað eins hafði ekki sést. Vindhraði (mælt á Sámstöðum) fór í 44.4 m/sek (skv. Veðurstofu). Þarna gafst því einstakt tækifæri á að mæla fok fræja, sérstaklega þar sem fræin voru fullþroskuð á þessum tíma og því lausari í axinu. Skv. sniðmælingum dreifðust fræi í allt að 35 m fjarlægð undan vindátt en dreifingin féll þó mjög hratt fyrstu metrana enda byggfræ þung. Þau fræ sem náðu inn á villt búsvæði (melur) voru merkt, ljósmynduð og rammi settur yfir til að fylgjast með framvindu þeirra ári seinna. Engin planta óx

upp af þeim fræjum sem voru rammaðir, hvorki innan óhreyfðs akurs (engin jarðvinnsla um vorið) eða utan akurs (10 rammar). Landnám byggs utan akurs var því ekkert skv. þessarri mælingu.

Ef þessar niðurstöður eru teknar saman má vera ljóst að tiltölulega auðvelt ætti að vera að afmarka ræktun erfðabreytts byggs ORF Líftækni og koma þannig í veg fyrir víxlfrjóvgun þess eða dreifingu yfir í önnur búsvæði. Við ræktun yrkjanna verður reynt að tryggja afmörkun m.a. með eftirfarandi aðgerðum:

- ræktunarreitir verða í a.m.k. 100m fjarlægð frá öðrum byggökum sem kynnu að vera í Gunnarsholti. Þetta samsvarar 30-faldri lágmarksfjarlægð sem kanadísk yfirvöld fara fram á milli erfðabreytts byggs og óerfðabreytts byggs.
- ræktunarreitir verður á ræktunartíma umlukinn 10 m breiðu varðbelti hafra sem eru fljótsprottnir og mynda því góða hindrun fyrir dreifingu frjókorna.
- ræktunarreitir verður girtur með rafgirðingu til að hindra aðgang skepna og manna
- varðbeltið tryggir auk þess að gæsir geti komist að bygginu (en þær lenda ekki inn í byggakri); aðferð sem íslenskir bændur nota mikið.
- strax í lok uppskeru hvers ræktunarárs verður hálmurinn hirtur (og brenndur) og reiturinn plægður; næsta vor verður reiturinn aftur plægður ef lokaniðurstaða úr liðhlaupatilraun bendir til mikilvægi þess.
- uppskorin fræ verða flutt strax í lokuðum ílátum í lokaða geymslu og aðgangur að henni einungis heimilaður til þess bærum starfsmönnum ORF Líftækni.
- hinar erfðabreyttu plöntur verða ekki nýttar sem fæða eða fóður.
- uppsöfnun markpróteinanna er takmörkuð í tíma og rúmi við fræin og próteinin eru ekki fyrir hendi í rótum eða stönglum (hálm) byggsins
- verði reiturinn ekki notaður aftur fyrir VakaRækt verður hann plægður um haustið en látinn standa óhreyfður í 2 sumur eftir það. Á þessu tímabili verður fylgst með liðhlaupum og þeim eytt jafnharðan

**g) Ef um er að ræða tegund plantna sem ekki er að öllu jöfnu ræktuð á Íslandi skal lýsa náttúrulegum heimkynnum plöntunnar og veita m.a. upplýsingar um villtar ránverur, sníkjudýr, keppinauta og samlífisverur:**

Á ekki við, bygg er ræktað á Íslandi.

**h) Mögulegar víxlverkanir plöntunnar, sem skipta máli fyrir erfðabreyttu háplöntuna, við lífverur í vistkerfinu þar sem hún vex að jafnaði, þ.m.t. upplýsingar um eiturverkanir á menn, dýr og aðrar lífverur:**

Ekki er hægt að benda á neinar þekktar víxlverkanir byggs, sem skipta byggið máli, við lífverur í vistkerfinu, þ.m.t. upplýsingar um eiturverkanir á menn, dýr og aðrar lífverur. Bygg er hefðbundin nytjaplanta ræktuð til fóðurs og manneldis og hefur svokallaðan GRAS (generally recognized as safe) stimpil. Erfðabreyttar byggplöntur er ORF framleiðir verða ekki nýttar sem fóður eða fæða.

Þá eru engar heimildir til sem sýna aðrar víxlverkanir. T.d. er flutningur á plöntu-DNA úr plöntu í örverur í meltingarvegi mannsins talinn mjög ólíklegur að mati FAO/WHO (FAO/WHO report 2000). Jafnframt



tilgreinir þessi viðkomandi skýrsla að jafnvel valgen sem veita ónæmi fyrir fúkkalyfi sem enn er í notkun muni varla skapa hættu á “horizontal gene transfer”. Engar rannsóknir benda til þess að t.d. valgen úr erfðabreyttri plöntu hafi borist í þarmabakteríur eða spendýrafrumu (mannsins) (Kuiper et al 2001). ORF notar valgenið *hph* (hygromycin B phosphotransferase) til að velja úr erfðabreyttar byggjínur í vefjaræktuninni frá viku 2 og til viku 12-16. *Hph* varð fyrir valinu vegna þess að góð reynsla var komin á notkun þess hjá CSIRO í Ástralíu (Wang et al 1997). Genið er með introni úr plöntu inn í miðri táknað, sem gerir það að verkum að bakteríur geta ekki nýtt það (bakteríur geta ekki tjáð það vegna introns því þær hafa ekki “mRNA splicing mechanism”). Þetta gerir það að verkum að genaflutningur milli bakteríustofna myndi varla auka lífsþrótt (fitness) bakteríunnar, sérstaklega þar sem eiginlegur valþrýstingur væri ekki fyrir hendi, enda er hygromycin ekki notað í lækningum á fólki t.d. (skv. uppl. frá Lyfjaeftirliti), og því ekki einu sinni flutt til landsins. ORF hefur hins vegar fengið leyfi Lyfjaeftirlitsins til að flytja það inn til landsins og nota í þessum tilgangi. Vísindanefnd Matvælaöryggisstofnunar Evrópu (EFSA) flokkar *hph*-genið sem valgen sem mest reynsla sé komin á og ólíklegast sé til að valda skaða. Vísindanefnd EFSA telur engin rök fyrir því að takmarka notkun slíkra valgena.

## 2. Lýsing á sameindaeiginleikum:

### a) Upplýsingar um erfðabreytinguna:

#### i. Lýsing á aðferðum sem eru notaðar við erfðabreytinguna:

Erfðabreytingin er framkvæmd með staðlaðri *Agrobacterium*-mediated ummyndun, þ.e. erfðaeftnið sem flytja á í plöntuna er fyrst flutt inn í binary plasmíðið, á milli TL og TR border repeat-raða (T-DNA svæði) sem síðan er flutt yfir í *A.tumefaciens*. *A.tumefaciens* bakterían ferjar svo T-DNA svæðið inn í byggkím sem skorið hefur verið í til að mynda sár sem bakterían nýtir sér til að koma inn T-DNA hluta af binary vektorinum. Við genaferjun eru endonukleasar í *Agrobacterium* er klippa inn í TL/TR röðina og allt þar á milli flyst yfir í plöntufrumuna og innlimast í genamengi hennar (sjá nánari lýsingu Tzfira & Citovsky, 2006). Að því loknu er byggkímið sett á sérstakt æti sem m.a. inniheldur fúkalýf til að drepa *A.tumefaciens* (timentin). Að því loknu hefst vefjaræktun á nokkrum mismunandi ætum, fyrst er kallusvöxtur örvaður svo blaðvöxtur og að lokum rótarvöxtur. Þessi vöxtur fer fram í hita- og ljósstýrðum skápum á rannsóknarstofu ORF Líftækni. Þegar plantan hefur myndað sterkar rætur er hún flutt í vikurpotta þar sem hún lýkur þroska sínum í gróðurhúsi ORF Líftækni við Grindavík.

#### ii. eðli og uppruni genaferjunnar sem er notuð;

Genoferjan er svokallað binary genaferja sem er u.þ.b. 11 þús nt að stærð tóm (þ.e. án genaassetu ORF Líftækni). Ferjan hefur PVS1 svæði (fyrir “broad host range of replication” fyrir stöðugt viðhald í *Agrobacterium* og *E.coli*), Cole1 svæði (fyrir “high copy maintenance” í *E.coli*) og valgen fyrir spectinomycin (fyrir viðhald í *Agrobacterium* og *E.coli*). Genoferjan byggir á pKOH200 plasmíði (10770 n.t.; Kjell-Ove Holmström), að undanskyldu því að kanamycin valgeni hefur verið skipt út fyrir hygromycin valgen sem er nýtt í vefjaræktuninni. Þessi genaferja var valin fyrst og fremst vegna þess hversu auðvelt er að klóna inn í hana vegna framboðs á skerðisetum.



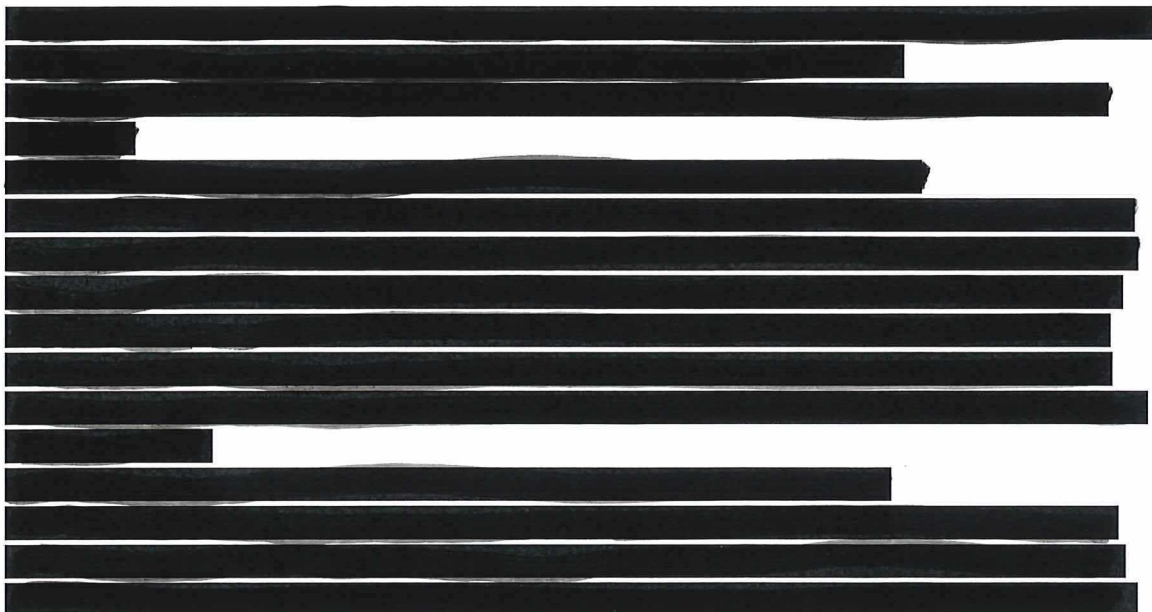
Mikilvægast er auðvitað T-DNA hlutinn sem er afmarkaður af T-left (TL) og T-right (TR) border repeat (24 nt raðir). T-DNA svæðið inniheldur DNA röðina sem fer inn í erfðamengi plöntunnar og getur því innihaldið mismunandi stýrsla, markgen osfr.

**iii. stærð og uppruni kjarnsýru eða kjarnsýra sem notaðar eru og fyrirhugað hlutverk sérhvers þáttar innskotsins.**

Sá hluti binary plasmíðsins sem ferjast yfir í plöntuna er svokallað T-DNA (Transfer DNA) en það er sá hluti DNA sem afmarkast af T-left (TL) og T-right (TR) border repeat og allt DNA þar á milli. Við genaferjun eru endonukleasar í Agrobacterium er klippa inn í TL/TR röðina (24 nt) og allt DNA þar á milli flyst yfir í plöntufrumuna og innlimast í genamengi hennar. Þetta er því hin svokallaða genakassetta. Genin í genakassettunni eru tvennskona, annarsvegar valgen (Hph gen; Hygromycin val) sem nýtist til að velja úr erfðabreytt kím í vefjaræktun og hinsvegar genið sem kóðar fyrir markpróteininu (t.d. vaxtarþáttur/frumuvaki). Hönnun genakassettanna er þess eðlis að tjáning markpróteinsins er undir stjórn fræsérhæfðs stýrils sem tryggir að tjáningin er einungis í fræinu, á ákveðnu þroskastigi þess. Markpróteinið safnast því fyrir í fræinu ásamt náttúrulegum forðapróteinum og hefur ekki áhrif á lífeðlisfræði plöntunnar. Tjáning valgensins er ekki bundin tíma og rúmi en val á stýrisvæðinu (/stýrli) á fyrst og fremst að tryggja nægilega almenna tjáningu á meðan á vefjaræktun stendur. Hér fyrir neðan er skematísk mynd er lýsir í grófum dráttum samsetningu genakassettu eins og þeirri sem notuð er til að ummynda byggkím. Algeng stærð á T-DNA er um 5000-8000 basapör og fer það aðallega eftir stærð gena og stýrsla.

Megingenaferja ORF fyrir erfðabreytingar á byggplöntum:

RB	5' SAR	SSP	GOI	Term Seq	CaMV35S	Sel Gene	Term Seq	3' SAR	LB
----	--------	-----	-----	----------	---------	----------	----------	--------	----



**b) Upplýsingar um erfðabreyttu háplöntuna:****i. Lýsing á einkennum og eiginleikum sem hafa verið kölluð fram eða búið er að breyta**

Engar breytingar verða á ræktunareiginleikum, einkennum eða útliti byggsins. Byggið hefur hinsvegar innlimað genakassettu ORF í erfðamengi sitt sem leiðir til þess að markpróteinið (t.d. vaxtarþáttur) er framleitt í fræjum byggsins á ákveðnu þroskastigi þess. Markpróteinið safnast því fyrir í fræinu ásamt náttúrulegum forðapróteinum og hefur ekki áhrif á lífeðlisfræði plöntunnar. Jafnframt er lítil framleiðsla á Hygromycin í plöntunni sem hefur ekki áhrif á eiginleika eða einkenni byggsins.

**ii. upplýsingar um basaraðir sem hefur verið skotið inn eða felldar burt:****- stærð og eintakafjöldi innskota og aðferðir sem eru notaðar við að skilgreina þau**

Sjá upplýsingar um stærð innskots í lið 2 iii. hér fyrir ofan; ekki er gerð nákvæm athugun á fjölda innskota í erfðamengi byggsins en rannsóknir hafa sýnt að í flestum tilfellum er um 1 innskot að ræða (40-55%); í 30-45% tilfella eru innskotin 2-3 og í 5-15% tilfella eru þau fjögur eða fleiri (Hensel et al. 2008; Stahl et al. 2002; Lange et al. 2006).

**- við brottfall skal nefna stærð og hlutverk brottfallna svæðisins (svæðanna);**

Á ekki við – ekkert svæði fellur burt.

**- staðsetning innskots eða innskota í plöntufrumuhlutum (samþætt í litningi, grænuhornum, eða orkukornum eða varðveitt í ósamþættu formi) og aðferðir við að sannreyna hana.**

Genakassettan innlimast inn í litning byggsins. ORF hefur í einu tilfelli látið greina fjölda og staðsetningu innskots í erfðamengi byggs og fannst eitt innskot á litningi 7H. Notast var við Illumina raðgreiningar og lífupplýsingafræðilegar greiningar (bioinformatic analysis).

**iii. hlutar plöntu þar sem innskot er tjáð;**

Tjáning á geninu sem skráir fyrir markpróteininu er undir stjórn náttúrlegra fræstýrila [REDACTED] og er framleiðsla á markpróteininu því eingöngu í fræinu. Framleiðslan fer af stað á seinni hluta fræþroskunar, þegar fræfylling á sér stað. [REDACTED]

**iv. erfðafræðilegur stöðugleiki innskotsins og stöðugleiki í svipgerð erfðabreyttu háplöntunnar.**

Innskotið er mjög stöðugt í erfðamengi byggsins og sömuleiðis tjáning á markpróteininu sem getur haldist stöðug milli margra kynslóða. Helst er ákveðin hætta á þöggun á genatjáningu eða að framleiðslan minnki eftir því sem kynslóðum fjölgar en það er hinsvegar afar ólíklegt að framleiðslan aukist með tíma. Engin önnur svipfarseinkenni koma fram hjá bygginu við erfðabreytinguna.



**3. Upplýsingar um sértæk áhættusvið:**

**a) allar breytingar á þráfestu eða ágengni erfðabreyttu háplöntunnar og getu hennar til að yfirfæra erfðaefni í skyldar tegundir, sem geta kynblandast henni, ásamt skaðlegum umhverfisáhrifum af þeim;**

Erfðabreytta byggði hefur enga sérstaka getu eða hæfileika til að vaxa eða dreifa sér umfram þá eiginleika sem óerfðabreytt bygg hefur og hefur því ekkert sem veitir því forskot. Byggið er sjálffrjógva (sjá umfjöllun fyrir ofan) og getur því ekki kynblandast öðrum yrkjum eða skyldum tegundum.

**b) allar breytingar á getu erfðabreyttu háplöntunnar til að yfirfæra erfðaefni í örverur ásamt skaðlegum umhverfisáhrifum af þeim;**

Erfðabreytta byggði hefur, líkt og óerfðabreytt bygg, enga getu til þess að yfirfæra erfðaefni yfir í örverur.

**c) gangvirki víxlverkunar milli erfðabreyttu háplöntunnar og viðtökulífveranna (ef við á) og skaðleg umhverfisáhrif af því;**

engin þekkt áhrif - á ekki við

**d) mögulegar breytingar á víxlverkunum erfðabreyttu háplöntunnar og lífvera, annarra en viðtökulífvera, af völdum erfðabreytingarinnar ásamt skaðlegum umhverfisáhrifum af þeim;**

engin þekkt áhrif - á ekki við

**e) mögulegar breytingar á ræktunaraðferðum og stjórnun á erfðabreyttu háplöntunni af völdum erfðabreytingarinnar og skaðleg umhverfisáhrif af þeim;**

engin þekkt áhrif - á ekki við

**f) mögulegar víxlverkanir við lífvana umhverfisþætti og skaðleg umhverfisáhrif af þeim;**

engin þekkt áhrif - á ekki við

**g) upplýsingar um hvers kyns eiturvekanir, ofnæmisvaldandi áhrif eða önnur skaðleg áhrif erfðabreytingarinnar á heilbrigði manna og dýra;**

engin þekkt áhrif - á ekki við

**h) niðurstöður varðandi sértæk áhættusvið.**

engin þekkt áhrif - á ekki við

**4. Upplýsingar um vöktun, eftirlit, skoðun og meðhöndlun úrgangs:**

**a) Varúðarráðstafanir:**

**i. staðbundin og tímabundin einangrun frá víxlfrjógungunarhæfum plöntutegundum, bæði skyldum villtum plöntum og illgresi sem og nytjaplöntum:**

Ræktunarreitir verður í a.m.k. 300m fjarlægð frá öðrum byggðokrum sem kynnu að vera í Gunnarsholti. Þetta samsvarar 100-faldri lágmarksfjarlægð sem kanadísk yfirvöld fara fram á milli erfðabreytts byggs og óerfðabreytts byggs. Ræktunarreitir verður umlukinn 10 m breiðu varðbelti hafra sem eru fljótsprotnir og mynda því góða hindrun fyrir dreifingu frjókorna.

**ii. aðgerðir til að draga úr eða koma í veg fyrir útbreiðslu hluta erfðabreyttu háplantanna sem stuðla að fjölgun:**

Við uppskeru er passað vel upp á að öllum fræjum er safnað í sekki og að engin dreifing verði á þeim. Sekkjunum er svo vandlega lokað og þeir fluttir burt af svæðinu. Fylgst verður með liðhlaupum og þeir upprættir verði þeirra vart. Ef reiturinn verður ekki notaður aftur fyrir VakaRækt verður hann plægður um haustið en látinn standa óhreyfður í 2 sumur eftir það. Á þessu tímabili verður fylgst með liðhlaupum og þeim eytt jafnharðan.

**b) Lýsing á aðferðum við umhirðu svæðis eftir sleppingu:**

Fylgst verður með reitnum eftir sáningu og passað upp á að merkingar og girðingar eru í góðu lagi með reglulegri vöktun. Gert er ráð fyrir næringargjöf á reitinn tvisvar sinnum á meðan á ræktun stendur.

**c) Lýsing á aðferðum við meðhöndlun erfðabreyttra plöntuhluta eftir sleppingu, m.a. förgun úrgangs:**

Eftir uppskeru eru fræin hirt og sett í vel merkta sekki sem er vandlega lokað og þeir settir í lokuð ílát (t.d. fiskiker með loki eða tunnur með loki, fer eftir magni) og þeir fluttir í gróðurhús ORF í Grindavík þar sem frekari hreinsun, þurrkun og þresking á sér stað. Uppskerumagn verður skráð. Hálmurinn verður hirtur og brenndur á staðnum eða plastaður og fluttur í Sorpbrennslu Suðurnesja (Kalka) og brenndur þar (líkt og gert er við sambærilegan úrgang úr gróðurhúsaræktun ORF).

**d) Lýsing á vöktunaráætlunum og -aðferðum:**

Samið verður við verkstjóra í Gunnarsholti um að fylgjast með ræktunarreitnum á meðan á ræktun stendur. Slík vöktun var viðhöfð þegar ræktað var 2010-2013. Fylgst er með vexti plantanna og hvort ræktunarreitir eru lausir við ágang dýra og hvort merkingar eru í lagi. Vakt-aðilar munu gera reglulega (/vikulega) grein fyrir ástandi reitsins til ábyrgðaraðila hjá ORF Líftækni.

**e) Lýsing á öllum neyðaráætlunum:**

Ef erfðabreytt fræ dreifast út í umhverfið, t.d. vegna óhapps í flutningi, skal tilkynna það ORF Líftækni (Jón Már Björnsson, 8211588) ásamt því að tilkynna það til Umhverfisstofnunnar (Rakel Kristjánsdóttir, 5912000) tafarlaust. Tilkynning til Umhverfisstofnunnar skal innihalda upplýsingar um:

- (a) tildrög slyssins;
- (b) tegund og magn erfðabreyttra lífvera sem kunna að hafa dreifst í umhverfið;
- (c) allar nauðsynlegar upplýsingar til að meta áhrif slyssins á heilsu almennings og á umhverfið;
- (d) neyðarráðstafanir sem gerðar hafa verið.

Viðbrögð við slysi sem felur í sér hættu á dreifingu erfðabreyttra planta í umhverfið;

- a) starfsmaður skal afmarka svæðið sem lífverurnar (fræin) hafa borist á með sýnilegum hætti.
- b) starfsmaður skal undir eins byrja að tína saman öll fræ af svæðinu í ílát.
- c) halda skal merkingum á svæðinu til að hægt sé að fylgjast með því áfram.
- d) fylgst verður með svæðinu í 1 ár eftir þrif til að kanna hvort vart verði við erfðabreyttar plöntur



e) verði vart við vöxt erfðabreyttra planta á svæðinu er hún rifin upp og henni fargað eins og ræktunarleyfi gerir ráð fyrir. Einnig má úða svæðið með Roundup plöntueitri sem myndi drepa allar hugsanlegar erfðabreyttar plöntur á svæðinu.

Samskonar tilkynningarskylda er ef vart verður við skemmdarverk eða tilraun til skemmdarverka.

**f) Lýsing á aðferðum og tilhögun til að:**

**i. Forðast eða draga sem mest úr útbreiðslu erfðabreyttu háplantnanna út fyrir sleppingarsvæðið:**

Ræktunarreitir verður umlukinn 10 m breiðu varðbelti hafra sem eru fljótsprotnir og mynda því góða hindrun fyrir dreifingu frjókorna. Varðbeltið hindrar einnig að gæsir geti komist að bygginu (en þær lenda aldrei inn í byggakri); aðferð sem Íslenskir bændur nota mikið.

Reiturinn verður jafnframt girtur með rafgirðingu til að hindra aðgang skepna sem gætu mögulega borið fræ með sér út fyrir ræktunarsvæðið.

**ii. Verja svæðið átroðningi óviðkomandi einstaklinga:**

Ræktunarsvæðið verður vaktað (sjá lið d hér fyrir ofan) og merkingar um að óviðkomandi sé óheimill aðgangur verða settar upp. Reiturinn verður girtur með rafgirðingu til að hindra aðgang óviðkomandi einstaklinga.

**iii. Varna því að aðrar lífverur komist inn á svæðið eða draga sem mest úr slíkri innkomu:**

Líkt og greint hefur verið frá hér að ofan mun varðbelti hindra aðgang gæsa og rafgirðingin mun hindra aðgang skepna inn á ræktunarsvæðið.

**5. Lýsing á aðferðum til leitar og greiningar á erfðabreyttu háplöntunni:**

Erfðabreyttu byggplönturnar líta eins út og venjulegar byggplöntur (fyrir utan Kolu yrkið sem er dökkt) en það er vel hægt að nýta sameindafræðilegar aðferðir til að greina innskotið, einfaldast er að einangra DNA úr bygginu og gera PCR með þreifurum sem bindast við innskots DNA. Þetta er mjög þekkt, stöðluð og traust aðferð.

**6. Upplýsingar um fyrri sleppingar erfðabreyttu háplöntunnar, ef við á:**

ORF hefur áður fengið leyfi til tilraunaræktunar á erfðabreyttu bygg í Gunnarsholti, síðast árin 2010 - 2013. Jafnframt hefur ORF fengið leyfi til tilraunaræktunar í Kanada árlega frá 2013. Á þessum tíma hafa ný, betrubætt yrki orðið til hjá ORF með nýjum genakassettum sem skila mismikilli framleiðslu á markpróteininu en þó mun meiri en 2013 þegar ORF reyndi síðast tilraunaræktun á Íslandi.

## Viðauki – Yrki og áætlað magn til sáningar 2021 í Gunnarsholti

#	Bakgrunnur erfðabreytta byggsins	Markprótein	Magn sáð út (kg frá)
1	Golden Promise (GP)	EGF	0,5 - 2
2	GP x Conlon	EGF	0,5 - 2
3	GP x Austenson	EGF	0,5 - 2
4	GP x Risö M56	EGF	0,5 - 2
5	GP x Kola	EGF	0,5 - 2
6	Golden Promise	Thaumatín	0,5 - 2
7	GP x Conlon	Thaumatín	0,5 - 2
8	GP x Austenson	Thaumatín	0,5 - 2
9	Golden Promise	IGF-1	0,5 - 2
10	Golden Promise	KGF	0,5 - 2
11	Golden Promise	FGFb146	0,5 - 2
12	Golden Promise	Noggin	0,5 - 2
13	Golden Promise	mLIF	0,5 - 2

Áætlað er að allt að 2 kg/línu verði sáð út á um 150 m<sup>2</sup> ræktunarsvæði – heildarflatarmál ræktunarsvæðis gæti því orðið allt að 2.000 m<sup>2</sup>. Tilgangur með sáningu erfðabreyttu yrkjanna númer 1-8 í töflunni er að bera saman ræktunareiginleika þeirra þar sem þau hafa mismunandi bakgrunn vegna víxlanna inn í önnur yrki (en Golden Promise sem er grunnyrkið). Tilgangur með sáningu yrkja númer 9-13 í töflunni er að bera ræktunarniðurstöður saman við útkomuna úr ræktun í Kanada á þessum sömu yrkjum.

Útskýring á markpróteinunum sem öll eru náttúrleg prótein þar sem mótsvarandi DNA röð hefur verið smíðuð hjá Genscript (USA) og kóða-aðlöguð fyrir tjáningu í bygggi:

**EGF:** Epidermal Growth Factor; frumuvaki sem finnst m.a. í húð manna. Notaður í húðvörum sem og í margvíslegum frumuræktunum.

Heildarstærð próteins eru 59 amínósýrur.

**Thaumatín:** Náttúrlegt prótein með sætu- og bragðbreytandi (sweetener & flavour modifier) áhrif sem finnst í ávexti afrískrar plöntu, Thaumatooccus danielli. Thaumatín er leyft sem bragðbætir (E957) og til notkunar í matar- og drykkjargerð víða um heim.

Heildarstærð próteins eru 207 amínósýrur.

**IGF-1:** Insulin-like Growth Factor; frumuvaki sem er aðallega framleiddur í lifrinni. Mikið notaður í ræktun á t.d. vöðvafrumum.

Heildarstærð próteins eru 122 amínósýrur.

**KGF:** Keratinocyte Growth Factor; frumuvaki sem finnst m.a. í húð manna en hefur margvísleg hlutverk.

Heildarstærð próteins eru 169 amínósýrur.

**FGFb:** Fibroblast Growth Factor basic; frumuvaki sem er mikilvægur í þroskunarferli mannsins og er framleiddur af margskonar frumum. Mikið notaður í ræktun á stofnfrumum.

Heildarstærð próteins eru 152 amínósýrur.



**Noggin:** náttúrllegt prótein sem kemur m.a. við sögu í þroskunarferli mannsins.

Heildarstærð próteins eru 211 amínósýrur.

**mLIF:** Mouse Leukemia Inhibitory Factor; prótein sem er framleitt af margskonar frumum og er mikið notað í ræktun á stofnfrumum.

Heildarstærð próteins eru 186 amínósýrur.

Þegar búið er að uppskera og hreinsa fræin verða þau nýtt í samanburðartilraunir þar sem bornir verða saman þættir eins og þyngd, spírur og magn markpróteins í fræjunum við sambærileg fræ úr ræktunum í Kanada og í gróðurhúsi ORF í Grindavík.

Kópavogur, 27.1.2021

/Jón Már Björnsson

Framkvæmdastjóri Rannsóknar- og Þróunarsviðs ORF Líftækni

## Heimildir

*Rit LbHÍ no. 1 (2005) Jónatan Hermannsson ofl*

*Rit LbHÍ no. 115 (2019) Hrannar Smári Hilmarsson ofl*

*Ritala et al 1999: Risk assessment in cultivation of transgenic barley: Nordtest Report 410).*

*Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Geneva, Switzerland 29 May-2 June 2000*

*Kuiper et al 2001. Plant Journal 27:503-528*

*Wang et al 1997: J.Genet. & Breed. 51:325*

*Tzfira & Citovsky, CurrOpinionBiotech, bls.147-154; 2006*

*Hensel, G. et al. (2008) Efficient generation of transgenic barley: the way forward to modulate plant-microbe interactions. J. Plant Physiol. 165, 71–82*

*Stahl, R. et al. (2002) T-DNA integration into the barley genome from single and double cassette vectors. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 2146–2151*

*Lange, M. et al. (2006) Molecular analysis of transgene and vector backbone integration into the barley genome following Agrobacterium-mediated transformation. Plant Cell Rep. 25, 815–820*