

Til Landbrugsstyrelsen

Følgebreve

Dato 29. januar 2021

Journal 2020-0182193

Levering på bestillingen "Bidrag til verificering af forekomst af GM-pampasgræs og vurdering af mulige miljømæssige risici ved en sådan forekomst"

Landbrugsstyrelsen har i en bestilling sendt den 12. november 2020, bedt DCA – Nationalt Center for Fødevarer og Jordbrug – om at afklare hvilken art, en række frø, sendt illegalt fra Kina, tilhører. Desuden at vurdere mulige miljømæssige risici, som vil være forbundet med at udså frøene i Danmark.

Besvarelsen i form af vedlagte notat er udarbejdet af seniorforsker Birte Boelt, seniorforsker Per Gregersen og professor Henrik Brinch-Pedersen fra Institut for Agroøkologi ved Aarhus samt seniorrådgiver Morten Tune Strandberg fra Institut for Bioscience ved Aarhus Universitet.

Lektor Johannes Ravn Jørgensen og seniorforsker Inger Holme fra Institut for Agroøkologi samt professor Christian Damgaard fra Institut for Bioscience, har været fagfællebedømmere, og notatet er revideret i lyset af deres kommentarer.

Besvarelsen er udarbejdet som led i "Rammeaftale om forskningsbaseret myndighedsbetjening mellem Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri og Aarhus Universitet" under ID 1.12 i "Ydelsesaftale Planteproduktion 2020-2023".

Venlig hilsen

Stine Mangaard Sarraf
Specialkonsulent, kvalitetssikrer for DCA-centerenheden



Bidrag til verificering af forekomst af GM-pampasgræs og vurdering af mulige miljømæssige risici ved en sådan forekomst

Af seniorforsker Birte Boelt¹, seniorforsker Per Gregersen¹, professor Henrik Brinch-Pedersen¹ og seniorrådgiver Morten Strandberg²

¹Institut for Agroøkologi, Aarhus Universitet

²Institut for Bioscience, Aarhus Universitet

Fagfællebedømt af Lektor Johannes Ravn Jørgensen¹, seniorforsker Inger Holme¹ og professor Christian Damgaard²

Baggrund

Landbrugsstyrelsen har i en bestilling sendt den 12. november 2020, bedt DCA – Nationalt Center for Fødevarer og Jordbrug – om at afklare hvilken art, en række frø, sendt illegalt fra Kina, tilhører. Desuden at vurdere mulige miljømæssige risici, som vil være forbundet med at udså frøene i Danmark.

Besvarelse

1) Afklaring af hvilken art de pågældende frø tilhører. Mærkningen og frø morfologien kunne tyde på, at der kunne være tale om Pampasgræs, Cortaderia selloana. Betegnelsen "pampasgræs" kan imidlertid også bruges mere bredt og inkludere andre græsser med tilsvarende vækstform, f.eks. tilhørende slægten Miscanthus. Hvis en artsbestemmelse ikke er mulig, kan AU anføre en liste med mulige kandidater.

Birte Boelt, Institut for Agroøkologi

Fagfællebedømmer: Johannes Ravn Jørgensen, Institut for Agroøkologi

Identifikation

En indledende visuel bedømmelse af de modtagne prøver viser, at de enkelte frø er meget lette, at frøprøven er uren og indeholder andre uspecifikke planterester og evt. svampeinfektion. Dette er ikke yderligere undersøgt.

De modtagne frø ligner ikke arter, som normalt optræder i frøsamlinger eller frøprøver af arter dyrket i Danmark. Men det kan fastslås, at det drejer sig om frø fra græs-familien (Poaceae). For nærmere identifikation af frøene er der rettet henvendelse til International Seed Testing Association (ISTA), som udvikler og publicerer standard procedurer for frøanalyser.

Der er udsendt billeder af de modtagne frø til medlemmer i ISTA, specifikt til chair og co-chair af ISTA's renheds komité. Der er modtaget svar fra Canada (chair for ISTA's renheds komite), fra Kina (Forage Seed Lab) og fra Argentina (National Institute for Agricultural Technology).

Fra National Seed Herbarium for Canadian Food Inspection Agency, er modtaget følgende svar:

The spikelet features most closely resemble a species of the genus *Saccharum* (på dansk: Sukkerrør slægten). Here's what the images and the *Saccharum* spp. specimens had in common:

- Flexible white hairs, longer than the spikelet
- Pedicels (rame internodes) with a cup at end and without a central, brownish groove
- Pedicels narrow and unequal lengths, one generally longer than spikelet
- Spikelets appear narrow, pointed, tips of glumes twisted, open at top
- Images of wild sugarcane as an example: <https://www.invasive.org/browse/sub-thumb.cfm?sub=4565>

Fra Forage Seed Lab, China Agricultural University, Beijing, er modtaget:

We think these seeds can be identified as the *Melinis* spp., but we cannot make sure which species.

Fra Argentina er modtaget billeder af frø af pampas græs (*Cortadeira selloana*), som ikke ligner de modtagne frø.

Institut for Agroøkologi ved Aarhus Universitet, har selv forsøgspareceller med elefantgræs (*Mischanthus gigantea*), og herfra er høstet frø, som har en vis lighed med de modtagne frø.

Det har ikke været muligt at artsbestemme de modtagne frø.

Mulige kandidater kan være fra:Sukkerrør slægten *Saccharum* spp, hvor billeder af *Saccharum spontaneum* L. ligner de modtagne frø.

Melinis slægten, *Melinis* spp

Mischanthus slægten *Mischanthus* spp

Undersøgelse af spireevne

Af de først modtagne frø blev 25 frø fra tre prøver samt frø af elefantgræs lagt til spiring i petriskåle den 13. november, 2020 på et opfugtet filterpapir ("top of paper" metoden). Prøverne blev placeret ved konstant temperatur på 24°C, ved konstant lys og sikret mod udtørring.

Efter 3 uger var der ingen tegn på spiring.

Frøene blev flyttet til for-køling (pre-chilling) i køleskab i en uge, og efterfølgende flyttet tilbage til 24°C ved konstant lys, hvilket heller ikke resulterede i spiring.

Den 26. november blev 15 frø fra hver prøve sået i pottes og placeret i drivhus ved ca. 20°C dagtemperatur. Der blev ikke observeret nogen spiring.

Efter modtagelse af den resterende del af de modtagne frø blev 4 x 25 frø af hver prøve lagt til spiring henholdsvis den 8. og den 11. januar. Frøene blev lagt til spiring i petriskåle på et opfugtet filterpapir og placeret ved konstant temperatur på 24°C, ved konstant lys. For to gentagelser af hver prøve blev frøene dækket af et opfugtet filterpapir ("between paper" metoden).

Prøverne er optalt efter 14 dage, og der er ikke registreret spiring.

På baggrund af de foretagne analyser vurderes de modtagne frø ikke at være spiredygtige.

Gen-modificering i arter fra *Saccharum*, *Melinis* og *Miscanthus* – og brug af NPTII selektion.

Per Gregersen, Henrik Brinch-Pedersen, Institut for Agroøkologi

Fagfællebedømmer: Inger Holme, Institut for Agroøkologi

2) Kort beskrivelse af, i hvilken udstrækning ovennævnte art eller arter er blevet genmodificeret samt hvilke genkonstruktioner, der i givet fald er tale om – herunder om det nævnte *nptII*-gen indgår i konstruktionerne? Beskrivelsen kan tage udgangspunkt i en litteratursøgning og en gennemgang af eventuelle patenter, som måtte være udtaget inden for den eller de pågældende arter.

Saccharum spp. - sukkerrør

Sukkerør har de sidste 30 år været genstand for genetisk transformation i forsøg på at indføre nye GM-egenskaber i afgrøden. Allerede Beyene *et al.* (2013) oplistede 23 forskellige eksperimentelle tilfælde af GM sukkerør, hvoraf i hvert fald 13 er baseret på selektion med *nptII*-genet. Mht. markedsførte/godkendte GM-sorter oplister ISAAA (www.isaaa.org) nedenstående seks transgen-events hvori *nptII* genet er kendt at være til stede i de 4 (understreget):

CTC175-A - *cry1Ab* - *nptII* (insektresistens)

CTC91087-6 - *cry1Ac* - *bar* (insektresistens)

CTC93209-4 - *cry1Ac* - *nptII* (insektresistens)

NXI-1T - *EcBetA* - *nptII*/*hpt* (tørkeresistens)

NXI-4T - *RmBetA* - *nptII*/*hpt* (tørkeresistens) (Gianotto *et al.*, 2019)

NXI-6T - *RmBetA* (tørkeresistens). Selektionsgen ukendt.

Umiddelbart rapporteres kun om dyrkning af GM sukkerør i Brasilien (sorter med de tre events for insektresistens). Det er uvist om dyrkning af de tre indonesiske GM sorter (NXI) med tørkeresistens er påbegyndt.

Melinis spp.

Arter af *Melinis* (fx *M. repens* og *M. minutiflora*) anvendes i nogen omfang som pryddplanter og foderafgrøde til kvæg i tropiske/subtropiske egne (<https://www.cabi.org/isc/datasheet/116730og32983>), men der synes at være begrænset direkte forædling relateret til disse arter. Der er ikke rapporteret om forsøg på at gen-modificere disse arter med forædlingsformål. Sandsynligheden for at finde GM-materiale af disse arter synes således lille.

Miscanthus spp.

Miscanthus er pga. sit høje udbytte i biomasse interessant som energiafgrøde. Der er ikke rapporteret om transformations-events for *Miscanthus* i godkendte GM-afgrøder. På det forskningsmæssige plan er der dog rapporteret om transgen *Miscanthus* (især *M. sinensis*). Således er der i det seneste

årti rapporteret flere forsøg på at modificere *Miscanthus* mht. forbedring af ethanolfermentering, fx Yoo *et al.* (2018), der anvendte det klassiske *nptII*-gen som selektionsmarkør i forsøg, hvor ligninbiosyntesen forsøgt nedreguleret. Andre rapporterede protokoller for transformation af *Miscanthus* har ligeledes gjort brug af transformationsvektorer med *nptII*-genet (fx Wu *et al.*, 2021), mens andre har anvendt *hpt*-genet for selektion med hygromycin.

Forekomst af selektionsgenet *nptII* i de uidentificerede frø.

Enzymet NPTII, neomycin phosphotransferase II, kan nedbryde forskellige antibiotika, bl.a. kanamycin og neomycin, og kodes af genet *nptII*, som oprindeligt blev isoleret fra *E. coli* transposonet Tn5 (Bevan *et al.*, 1983). Sidenhen er *nptII*-genet blevet anvendt som selektionsmarkør i talrige plasmidkonstruktioner til fremstilling af transgene planter.

Eftersom *nptII*-genet forekommer naturligt i *E. coli* og andre mikroorganismer (Nap *et al.*, 1992), er der en vis risiko for falske positive resultater, når der testes med PCR/qPCR for genets tilstedeværelse, især hvis primerne anvendt i testen er rettet mod den kodende sekvens af genet (Conner and Dale, 1996). I den klassiske plasmidkonstruktion, som anvendes til transformation af planter, er genpromoter og -terminator for *nptII* som oftest fra 35S-CaMV-genet, hvilket kan anvendes i PCR tests til en mere sikker bestemmelse af forekomsten af det fulde transgen, hvis PCR-primere placeres i områder af forskellig oprindelse, fx i terminator og kodende sekvens (Bevan *et al.*, 1983).

3) Sandsynliggørelse af, på grundlag af 1) og 2), hvilken art/genkonstruktion der kan have givet ophav til de omtalte analyseresultater? AU bedes også overveje eventuelle alternative forklaringer på disse analyseresultater.

PCR-test for det fulde *nptII*-gen i de uidentificerede indførte frø.

Planen for analysen af eventuel forekomst *nptII*-genet i de uidentificerede frø var i denne bestilling oprindeligt at afvente spiring af frøene for at kunne oprense DNA af god kvalitet fra ungt væv. Da det viste sig, at frøene ikke var spiredygtige, måtte disse planer ændres, og oprensning af DNA direkte fra de undseelige frø blev i stedet forsøgt. Det viste sig dog ikke muligt ved brug af standardmetoder at oprense DNA fra ikke-spirende frø af tilstrækkelig kvalitet og mængde til at udføre en PCR-test for tilstedeværelse af det fulde *nptII*-gen. Tilsyneladende blev oprensningen vanskelig gjort af et indhold af sekundære farvestoffer i frøene, som inhiberede PCR'en. Efter aftale med Lotte Hougs, Fødevarestyrelsen, Ringsted, blev en sidste PCR-test derfor lavet med DNA'et fra to af de prøver, som i qPCR-test havde vist indikation på tilstedeværelse af *nptII*-genet. Disse prøver indeholdt også meget lav mængde DNA, hvis tilstedeværelse dog kunne påvises i PCR med 18S kontrolprimere. PCR-test med *nptII*-primere gav et negativ resultat, og vi kunne således ikke eftervise tilstedeværelsen af det fulde *nptII*-gen i dets standardudgave. I qPCR-testen var anvendt primere, som genkender starten af den kodende sekvens for NPTII og amplificerer et mindre produkt på 156 bp, mens vi i vores PCR-test anvendte primere for et produkt på 526 bp, strækkende sig fra terminatoren ind i den kodende sekvens. Primeren i terminatoren genkender 35S terminatoren i standardudgaven af *nptII*-konstruktionen og tager således ikke højde for, at en anden, ukendt terminator kunne have været brugt. En PCR på frø-DNA'et med iblanding af DNA fra en kontrolplante indeholdende *nptII*-genet viste tydelig amplifikation, hvilket viste fravær af inhibering fra frø-DNA-prøverne modtaget fra Fødevarestyrelsen.

Konklusion

Der er kun i begrænset omfang lavet gen-modificering i arter fra de tre forslag til identifikation af frøene, mest for *Saccharum* spp. Udbredelsen af godkendte GM-events er først og fremmest begrænset til Brasilien. I mangel på spiredygtige frø kunne der ikke oprensnes DNA af god kvalitet fra de uidentificerede frø. PCR-test til at eftervise forekomst af nptII-genet i frøene blev derfor vanskeliggjort med negative resultater til følge. PCR-test for standard nptII-konstruktionen i DNA-prøver, som i qPCR-test havde vist indikation på nptII-genet, kunne heller ikke eftervise tilstedeværelse af dette gen i de uidentificerede frø. Baseret på de lave signaler i qPCR-testen og den manglende påvisning af det fulde nptII-gen er sandsynligheden for forekomst af nptII-genet i de uidentificerede frø således lav. Det kan heller ikke udelukkes, at indikationen på tilstedeværelse af nptII-genet i frøene fra qPCR-analyserne skyldes kontaminering med bakterier. En grundigere analyse ville, som oprindeligt planlagt, kræve oprensning af DNA af god kvalitet, hvilket ikke var muligt pga. frøenes manglende spireevne.

Referencer

- Bevan MW, Flavell RB, Chilton M-D. 1983. A chimaeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature* 304, 184-187.
- Beyene G, Curtis IS, Damaj MB, Buenrostro-Nava MT, Mirkov TE. 2013. Genetic Engineering of *Saccharum*. In: Paterson AH, ed. *Genomics of the Saccharinae*. New York, NY: Springer New York, 223-254.
- Conner AJ, Dale PJ. 1996. Reconsideration of pollen dispersal data from field trials of transgenic potatoes. *Theoretical and Applied Genetics* 92, 505-508.
- Gianotto AC, Rocha MS, Cutri L, Lopes FC, Dal'Acqua W, Hjelle JJ, Lirette RP, Oliveira WS, Sereno ML. 2019. The insect-protected CTC91087-6 sugarcane event expresses Cry1Ac protein preferentially in leaves and presents compositional equivalence to conventional sugarcane. *GM Crops & Food* 10, 208-219.
- Nap J-P, Bijvoet J, Stiekema WJ. 1992. Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants. *Transgenic Research* 1, 239-249.
- Wu Y, Zhou N, Ni X, Okoye CO, Wang Y, Li X, Gao L, Zhou G, Jiang J. 2021. Developing a long-term and powerful in vitro culture and Agrobacterium-mediated transformation system for *Miscanthus sinensis* (Poaceae). *Industrial Crops and Products* 161, 113190.
- Yoo JH, Seong ES, Ghimire BK, Heo K, Jin X, Yamada T, Clark LV, Sacks EJ, Yu CY. 2018. Establishment of *Miscanthus sinensis* with decreased lignin biosynthesis by Agrobacterium-mediated transformation using antisense COMT gene. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 133, 359-369.

Natur og miljømæssig risikovurdering ved indførelse af formodede transgene frø af de tre slægter af græs *Miscanthus*, *Melinis* og *Saccharum* under danske forhold

Morten Strandberg, Institut for Bioscience

Fagfællebedømmer: Christian Damgaard, Institut for Bioscience

4) At vurdere eventuelle miljømæssige risici, som ville være forbundet med, at de nævnte frø blev udsået i Danmark? (bl.a. i forhold til etablering og spredning af transgener, herunder til andre arter)?

Melinis

Melinis er en slægt i græsfamilien, som er naturligt udbredt i Afrika og Arabien. Slægten har 22 accepterede arter (<http://www.theplantlist.org/browse/A/Poaceae/Melinis/>). Den flerårige art *Melinis minutiflora*, og muligvis flere med den, er invasiv i store dele af troperne og subtropenerne (Hoffmann et al. 2004; Hoffmann & Haridasan. 2008) uden for slægtens naturlige udbredelsesområde inkl. Australien, Brasilien og på Hawaii (Zenni et al 2019)). Slægten er angiveligt blevet spredt til Amerika med slavetransporterne, hvor den blev anvendt som underlag for slaverne under transporten. Derudover er den blevet spredt til andre tropiske og subtropiske områder, fordi den er et godt fodergræs, som kan gro under tørre forhold. Det er fundet at arten hæmmer spiring af lokale arter af træer på brasiliansk savanne (Hoffmann & Haridasan 2008). I Europa er *Melinis minutiflora* naturaliseret på de Canariske øer, men findes i øvrigt ikke i Danmark og andre dele af Europa. (<https://www.cabi.org/isc/datasheet/32983#toDistributionMaps>).

Der er ikke fundet oplysninger om forekomster i tempererede områder, inkl. Danmark.

Der er ikke fundet oplysninger om at der er foretaget genetisk modifikation af arter i slægten *Melinis*.

(<https://www.cabi.org/isc/datasheet/116730#tosummaryOfInvasiveness>).

Natur og miljømæssig risikovurdering af *Melinis* spp.

Risikovurderingen omfatter:

1. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af den muligvis genmodificerede *Melinis* spp. til naturen
2. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af indsatte gener til vilde eller forvildede slægtninge til *Melinis* spp
3. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af de indsatte gener til dyrket *Melinis* spp.
4. miljø- og naturmæssig risiko for effekter på ikke mål-organismer
5. miljø- og naturmæssig risiko for effekter på miljøet i øvrigt
6. miljø- og naturmæssige behov for overvågning.

1. Da natal-græs (*Melinis repens*) og andre *Melinis*-arter er tropiske eller subtropiske arter er det meget lidt sandsynligt at de kan sprede sig til naturen under danske vækstforhold. Selv om spiring fra frø muligvis kan forekomme under danske forhold er sandsynligheden for at sådanne planter kan danne bestande negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.
2. Da der ikke findes vilde eller forvildede slægtninge til natal-græs eller andre andre *Melinis*-arter i Danmark er sandsynligheden for gen-spredning til vilde slægtninge negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.
3. Da der ikke dyrkes natal-græs eller andre arter af *Melinis* spp. under danske forhold er sandsynligheden for spredning af indsatte gener fra indført transgen *Melinis* spp. til dyrkede slægtninge negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.
4. Eftersom natal-græs, såvel som andre arter fra slægten *Melinis* ikke kan dyrkes i Danmark, vurderes sandsynligheden for effekter på ikke-mål organismer som negligerbar. Risikoen forbundet hermed er ligeledes negligerbar.
5. Sandsynligheden for effekter på miljøet i øvrigt vurderes at være negligerbar, fordi eventuelle spirede planter af den subtropisk og tropisk udbredte slægt *Melinis* spp. fra de importerede muligt transgene frø ikke vil kunne overleve til frøsætning under danske forhold. Risikoen forbundet hermed vurderes ligeledes at være negligerbar.
6. Det vurderes at der ikke er behov for overvågning af forekomster af *Melinis* spp. under danske forhold, da sandsynligheden for at arter tilhørende denne slægt af græsser kan forekomme i Danmark er negligerbar.

Konklusion for *Melinis*

På baggrund af slægtens udbredelse både hvad angår det naturlige udbredelsesområde og de områder den er indført eller indslæbt til, vurderes det at sandsynligheden for at nogle arter fra slægten vil kunne etablere sig under danske forhold er negligerbar. Det vurderes derfor som en konsekvens heraf at risikoen for uønskede effekter på dansk natur og miljø er negligerbar, med det forbehold at der ikke er indsat gener der gør at de indførte frø via genmodifikation har opnået kulderesistens der gør at den kan overleve og sprede sig under danske forhold.

Saccharum spp – sukkerrør

Sukkerrør *Saccharum* spp. er en slægt af flerårige planter græsfamilien med tropisk og subtropisk udbredelse. Sukkerrør *Saccharum* spp. er genmodificeret til kommercielt brug. Blandt de indsatte gener den kan udtrykke er genet nptII som giver resistens over for de to antibiotika neomycin og kanamycin. Disse bruges som selektionsmarkører. I samme event (NXI-1t) af sukkerrør er indsat gener der koden for hygromycin resistens og vandmangel. Derudover er der i andre events indsat gener der gør den resistent over for sommerfugle, tolerant over for vandmangel (<https://www.isaaa.org/>). Der er ved traditionel forædling udviklet en hybridsukkerrør som er mere kuldetolerant (Knoll et al. 2013; Leon et al. 2015). Den anvendes som energifgrøde og kan dyrkes i varmt tempereret klima, fx områder i det sydløstige USA (Knoll et al. 2013).

Der er udviklet hybrider mellem sukkerrør (*Saccharum* spp) og elefantgræs (*Miscanthus* spp) som er nært beslægtede (Dong et al. 2021). Hybriderne har en højere grad af kuldeterolerance end sukkerrør som muliggør dyrkning af hybriderne på Hokkaido i det nordlige Japan (Kar et al. 2020). Kilder citeret i Kar et al. (2020) omtaler observationer af naturlig hybridisering mellem *Miscanthus* og *Saccharum* og at hybriderne overlever vintre med frostgrader ned til -14 °C. Hvorvidt disse hybrider vil kunne klare sig under danske forhold er ikke afklaret, men det vurderes at de vil være mindre hårdføre end *Miscanthus*. Der er ikke fundet oplysninger der afklarer om hybriderne er fertile.

Natur og miljømæssig risikovurdering af *Saccharum* spp.

Risikovurderingen omfatter:

1. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af den muligvis genmodificerede *Melinis* spp. til naturen
2. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af indsatte gener til vilde eller forvildede slægtninge til *Melinis* spp
3. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af de indsatte gener til dyrket *Melinis* spp.
4. miljø- og naturmæssig risiko for effekter på ikke mål-organismer
5. miljø- og naturmæssig risiko for effekter på miljøet i øvrigt
6. miljø- og naturmæssige behov for overvågning.

1. Da arterne af sukkerrør er tropiske eller subtropiske arter er det usandsynligt at de kan sprede sig til naturen under danske vækstforhold. Selv om spiring fra frø muligvis kan forekomme under danske forhold er sandsynligheden for at sådanne planter kan danne bestande negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.

2. I de områder af verden, hvor *Miscanthus* og *Saccharum* findes i samme område, er der observeret hybrider mellem arter fra disse slægter af græs. Selv om der i Danmark findes forvildede populationer af *Miscanthus*, overvejende elefantgræs *Miscanthus sinensis*, så findes der ikke forekomster af sukkerrør og derfor vurderes sandsynligheden for gen-spredning til vilde eller forvildede slægtninge at være negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar. Sandsynligheden for at hybrider af *Miscanthus* og *Saccharum* kan etablere sig under danske forhold er ikke vurderet, da det ikke var en del af bestillingen.

3. Da der ikke kan dyrkes sukkerrør under danske forhold er sandsynligheden for spredning af indsatte gener fra indført transgen sukkerrør til dyrket sukkerrør negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.

4. Eftersom sukkerrør ikke kan dyrkes i Danmark, vurderes sandsynligheden for effekter på ikke-målorganismer som negligerbar. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.

5. Sandsynligheden for effekter på miljøet i øvrigt vurderes at være negligerbar, fordi eventuelle spirede planter af sukkerrør fra de importerede muligvis transgene frø ikke kan overleve under danske forhold. Dermed vurderes det ligeledes at risikoen forbundet hermed er negligerbar.

6. Det vurderes at der ikke er behov for overvågning af forekomster af sukkerrør under danske forhold, da sandsynligheden for at sukkerrør kan forekomme i Danmark er negligerbar.

Konklusion sukkerrør

På baggrund af slægtens udbredelse både hvad angår det naturlige udbredelsesområde og de områder den er indført eller indslæbt til, vurderes det at sandsynligheden for at nogle arter fra slægten vil kunne etablere sig under danske forhold er negligerbar. Det vurderes derfor som en konsekvens heraf at risikoen for uønskede effekter på dansk natur og miljø er negligerbar. Dog skal der tages det forbehold at det antages at der ikke er indsat gener der gør at de indførte frø via genmodifikation har opnået kulderesistens, der gør at de kan overleve og sprede sig under danske forhold. Hybrider mellem de nært beslægtede *Saccharum* spp. og *Miscanthus* spp. har en højere grad af kuldetolerance, og de vil muligvis kunne klare sig i milde danske vintre, dette er dog ikke vurderet i dette notat, da det ikke var en del af bestillingen.

Miscanthus

Slægten *Miscanthus*, hvortil Elefantgræs *Miscanthus sinensis* hører, er en slægt af flerårige græsser der er hjemmehørende i Asien og Oceanien. Den er i sit oprindelsesområde blevet anvendt som foder, stråtage og fremstilling af papir (Clifton-Brown et al. 2018). Arten elefantgræs er hårdfør under tempererede forhold, således også i Danmark (Jørgensen 2011). Særligt er den triploide hybrid *Miscanthus × giganteus* kuldetolerant (Friesen et al. 2014). Denne hybrid vokser lige som *Miscanthus sinensis* forvildet i Danmark (Hartvig 2015). Elefantgræs er sammen med andre *Miscanthus*-arter blandt de arter som er i spil som energijafrøder i Europa (fx Jørgensen 2011; Matthews et al. 2015; McCalmont et al. 2017)

I undersøgelsen Atlas Flora Danica er elefantgræs *Miscanthus sinensis* fundet forvildet i 90 af de kvadrater der indgik i undersøgelsen, dette svarer til 6,9% af de undersøgte kvadrater, medens hybrididen Kæmpe-elefantgræs *Miscanthus × giganteus* er registreret i nogle få af de undersøgte kvadrater (0,5%) (Hartvig 2015). Kæmpe-elefantgræs er en krydsning mellem *M. sinensis* og *M. sacchariflorus*. Disse forekomster er ifølge Hartvig (2015) en ny udvikling, idet *Miscanthus* spp. ikke blev fundet i botaniske undersøgelser udført før Atlas Flora Danica. Dette indikerer at arten er under udbredelse i Danmark, uden at den dog aktuelt er vurderet som invasiv. Arten er dog invasiv i andre tempererede områder i verden, bl.a. i USA (Mutegi et al. 2016) hvor den i særdeleshed er udbredt i den østlige del. Matthews et al. (2015) har vurderet den økologiske risiko ved introduktion af fire arter af *Miscanthus* til Holland som værende mellem lav risiko og medium risiko. Arten med medium risiko var *Miscanthus sacchariflorus*, medens elefantgræs var i den højeste kategori af lav risiko, dvs. tæt på medium risiko. I et review af Lambertini (2019) vurderes det at flerårige energijafrøder (inklusive *Miscanthus*) med kraftig vækst har forudsætninger for at være invasive.

Transgene Miscanthus

Der er ikke fundet oplysninger om markedsføring af transgene *Miscanthus* arter i ISAAA-databasen. Det må dog forventes at dette kommer inden for de kommende år, idet der forskes en del inden for området, primært med henblik på at ændre indholdsstofferne så biomassen er mere velegnet til produktion af bioethanol. Der er dog fundet oplysninger om at der forskes i at udvikle transgene *Miscanthus*, fx har Hwang et al (2014) indsat et gen fra *Arabidopsis* i elefantgræs *Miscanthus sinensis* som gør at den udtrykker phytochrom B fra *Arabidopsis*. Der blev endvidere indsat et markørgen

som udtrykker herbicidresistens. Det er sandsynligt at anden forskning i udvikling af transgene *Miscanthus* har anvendt andre markøgener, heriblandt gener der giver antibiotikaresistens.

Forskningen synes aktuelt at være på et stadie hvor det mere handler om at udvikle metoder til at modificere *Miscanthus* end at udvikle GM-sorter til kommercielt brug. Potentialet af udviklingen sker formentlig i forhold til brug af *Miscanthus* som energijafrøde.

Natur og miljømæssig risikovurdering af *Miscanthus* spp.

Risikovurderingen omfatter:

1. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af den muligvis genmodificerede *Miscanthus* til naturen
2. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af indsatte gener til vilde eller forvildede slægtninge til *Miscanthus*
3. miljø- og naturmæssig risiko forbundet med spredning af de indsatte gener til dyrket *Miscanthus*
4. miljø- og naturmæssig risiko for effekter på ikke mål-organismer
5. miljø- og naturmæssig risiko for effekter på miljøet i øvrigt
6. miljø- og naturmæssige behov for overvågning.

1. Det vurderes at genmodificeret *Miscanthus* i lighed med elefantgræs kan overleve og potentielt sprede sig i dansk natur. Sandsynligheden for at dette sker afhænger af omfanget af import af transgene *Miscanthus*. Det vurderes at effekten af spredning af antibiotikaresistente *Miscanthus* spp. ikke vil adskille sig fra spredning af konventionelle *Miscanthus* arter. Hvis det sker, vurderes det at den hermed forbundne risiko er lille såfremt der alene er tale om spredning af antibiotikaresistente *Miscanthus* spp.

2. Der findes ikke vilde slægtninge til *Miscanthus* spp. i Danmark. Derfor er risikoen for spredning af indsatte gener fra *Miscanthus* til vilde slægtninge negligerbar. Det er derimod sandsynligt at gener fra importerede transgene *Miscanthus* spp. kan spredes til forvildede populationer ved krydsning med forvildet elefantgræs og kæmpe-elefantgræs under danske forhold. Sandsynligheden for at dette sker vurderes som lille, men afhænger af de transgene planters egenskaber generelt. De effekter der er forbundet med sådan spredning af transgener vil afhænge af hvilke egenskaber der spredes, umiddelbart vurderes det at spredning af antibiotikaresistens til forvildede populationer af elefantgræs vil medføre en negligerbar risiko for effekter på natur og miljø.

3. Elefantgræs findes dyrket i haver som prydblade og på marker som energijafrøde. Der er stor sandsynlighed for at der ved krydsning mellem genmodificeret *Miscanthus* spp etableret fra ulovligt importerede transgene frø og almindelig elefantgræs vil kunne dannes spiredygtige frø, som potentielt kan føre til indhold af transgener i efterfølgende generationer af frøetablerede krydsninger. Effekterne på natur og miljø forbundet hermed afhænger af hvilke indsatte egenskaber, ud over antibiotikaresistens, der bliver spredt. Risikoen forbundet hermed kan ikke vurderes uden viden om samtlige indsatte egenskaber. Det vurderes dog at risikoen vil være negligerbar såfremt der alene er tale om antibiotikaresistens.

4. Risikoen for effekter på ikke-målorganismer afhænger af hvilke gener der er indsat. De i bestillingen omtalte gener der giver antibiotiresistens vurderes kun at medføre en negligerbar sandsynlighed for effekter på ikke-målorganismer. Det er på det nuværende grundlag ikke muligt at risikovurdere effekter af genmodificeret *Miscanthus* spp. i forhold til andre potentielt indsatte egenskaber.

5. Sandsynligheden for effekter på miljøet i øvrigt afhænger af hvilke gener der er indsat. De i bestillingen omtalte gener der giver antibiotikaresistens vurderes kun at udgøre en negligerbar risiko for effekter på miljøet i øvrigt.

6. Såfremt det konstateres at de indførte frø er transgene og er fra *Miscanthus* spp. og at de er blevet sået med etablering til følge vil overvågning af den mulige spredning af de indsatte gener til forvildet og dyrket elefantgræs være med til at tilvejebringe vigtig information om genspredning til forvildede populationer af *Miscanthus* spp. under danske forhold.

Konklusion *Miscanthus*

Der findes to arter af *Miscanthus* forvildet i Danmark – *Miscanthus sinensis* og *Miscanthus x giganteus*. Begge er vurderet at være hårdføre under danske forhold. *Miscanthus sinensis* kan sandsynligvis sætte fertile frø og frøspredning er en mulighed. Derved kan der også ske overførsel fra importerede genmodificerede frø af arten til forvildede bestande, hvorved transgener kan blive spredt i miljøet. De muligt indsatte gener for antibiotikaresistens vurderes ikke at øge artens mulighed for at sprede sig under danske forhold og heller at kunne udgøre en risiko for dansk natur og miljø der afviger fra den påvirkning der måtte være fra forvildede populationer af konventionel *Miscanthus* spp. Såfremt det konstateres at de importerede frø er genmodificerede, kan spire og er fra *Miscanthus* spp. vil det være muligt at overvåge om der sker spredning til forvildede populationer af *Miscanthus*. Såfremt det påvises at frøene stammer fra den triploide hybrid *Miscanthus x giganteus* er sandsynligheden for at frøene er spiredygtige negligerbar, og dermed er sandsynligheden for at der sker spredning af transgener til forvildede populationer af *Miscanthus* også negligerbar.

Referencer

Clifton-Brown, J., Harfouche, A., Casler, M.D., Dylan Jones, H., Macalpine, W.J., MurphyBokern, D. et al. 2019. Breeding progress and preparedness for mass-scale deployment of perennial lignocellulosic biomass crops switchgrass, *miscanthus*, willow and poplar. GCB Bioenergy 11 (1), 118–151.

Dong, H., Clark, L.V., Jin, X., Anzoua, K., Bagmet, L., Chebukin, P., et al. 2021. Managing flowering time in *Miscanthus* and sugarcane to facilitate intra- and intergeneric crosses. PLoS ONE 16(1): e0240390.

Friesen, P.C., Peixoto, M.M., Busch, F.A., Johnson, D.C., Sage, R.F. 2014. Chilling and frost tolerance in *Miscanthus* and *Saccharum* genotypes bred for cool temperate climates. Journal of Experimental Botany, 65, 3749–3758.

Hartvig, P. 2015. Atlas Flora Danica. Gyldendal, København.

Hoffmann, W.A., Lucatelli, V.M.P., Silva, F.J. et al. 2004. Impact of the invasive grass *Melinis minutiflora* at the savanna-forest ecotone in the Brazilian Cerrado. Divers. Distrib. 10, 99–103.

- Hoffmann, W.A., Haridasan, M. 2008. The invasive grass, *Melinis minutiflora*, inhibits tree regeneration in a Neotropical savanna. *Austral Ecol* 33:29–36.
- Hwang, O.-J., Lim, S.-H., Han, Y.-J., Shin, A.-Y., Kim, D.-S., & Kim, J.-I. 2014. Phenotypic characterization of transgenic *Miscanthus sinensis* plants overexpressing *Arabidopsis* phytochrome B. *International Journal of Photoenergy*, 2014, 501016.
- Jørgensen, U. 2011. Benefits versus risks of growing biofuel crops: the case of *Miscanthus*. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 3, 24–30.
- Kar, S., Weng, T.Y., Nakashima, T., Villanueva-Morales, A., Stewart, J.R., Sacks, E.J., et al. 2020. Field performance of *Saccharum* × *Miscanthus* intergeneric hybrids (Miscanes) under cool climatic conditions of northern Japan. *Bioenergy Research*. 2020; 13: 132-146.
- Knoll, J.E., Anderson, W.F., Richard, E.P., Doran-Peterson, J., Baldwin, B., Hale, A.L., Viator, R.P. 2013. Harvest date effects on biomass quality and ethanol yield of new energycane (*Saccharum* hyb.) genotypes in the Southeast USA. *Biomass Bioenergy* 56:147–156
- Lambertini, C. 2019. Why are tall-statured energy grasses of polyploid species complexes potentially invasive? A review of their genetic variation patterns and evolutionary plasticity. *Biol Invasions* 21:3019–3041
- Leon, R.G., Gilbert, R.A., Comstock, J.C. 2015. Energycane (*Saccharum* spp. × *Saccharum spontaneum* L.) biomass production, reproduction, and weed risk assessment scoring in the humid Tropics and Subtropics. *Agron J* 107:323–329
- Matthews, J.; Beringen, R.; Huijbregts, M.A.J.; van der Mheen, H.J.; Odé, B.; Trindade, L.; van Valkenburg, J.L.C.H.; van der Velde, G.; Leuven, R.S.E.W. 2015. Horizon scanning and environmental risk analyses of non-native biomass crops in the Netherlands.
- McCalmont J, Hastings A, McNamara NP, Richter GM, Robson P, Clifton-Brown JC (2017) Environmental Costs and Benefits of Growing *Miscanthus* for Bioenergy in the UK. *GCB Bioenergy*.
- Mutegi, E., Snow, A., Bonin, C.L., Heaton, E.A., Chang, H., Gernes, C.J., Palik, D.J., Miriti, M.N. 2016. Population genetics and seed set in feral, ornamental *Miscanthus sacchariflorus*. *Invasive Plant Sci Manag* 9(3):214–228
- Zenni, R.D., Sampaio, A.B., Lima, Y.P., Pessoa-Filho, M., Lins, T.C., Pivello, V.R., Daehler, C. 2019. Invasive *Melinis minutiflora* outperforms native species, but the magnitude of the effect is context-dependent. *Biological Invasions*, 21, 657–667.