

## Oppotunity, et tværeuropæisk samarbejde om udsætning af kartofler til produktion af kartoffelstivelse, med forbedret tolerance imod kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*)

*Oppotunity-projekt: Et fælles forskningsprojekt mellem stivelseskartoffelavlere, stivelsesindustri, kartoffelforædlere, universiteter, institutioner og NGO'er indenfor EU, om udvikling af kartofler med forbedret tolerance imod kartoffelskimmel (Phytophthora infestans).*

Forår 2025, 2026 og 2027.



## Indhold

A. Generelle oplysninger .....	3
A.1. Anmelderens navn og adresse .....	3
A.2. De ansvarligere forskeres navne .....	3
A.3. Projektets titel .....	4
A.4. Udsætningen .....	4
A.5. Oplysninger om udsætningsstedet .....	5
B. Videnskabelige oplysninger .....	7
B.1. Oplysninger om recipientplanten eller - hvor det er relevant - forældreplanter .....	7
B.2. Molekylær karakterisering .....	10
a) Oplysninger om den genetiske modifikation .....	10
b) Oplysning om GMHP'erne .....	11
c) Konklusioner af den molekulære karakterisering .....	15
B.3. Oplysninger om specifikke risikoområder .....	16
a) Eventuelle ændringer i GMHP'ernes persistens .....	16
b) Eventuelle ændringer i GMHP'ernes evne... ..	16
c) Vekselvirkningsmekanisme mellem GMHP'erne og målorganismerne... ..	16
d) Potentielle ændringer i GMHP'ernes vekselvirkninger... ..	16
e) Potentielle ændringer i landbrugspraksis .....	16
f) Potentielle vekselvirkninger med det abiotiske miljø... ..	16
g) Oplysninger om enhver toksisk, allergenisk... ..	16
h) Konklusioner vedrørende de specifikke risikoområder .....	16
B.4. Oplysninger om kontrol, overvågning og efterbehandling- og affaldshåndteringsplaner .....	18
4.a. Trufne forholdsregler .....	18
4.b. Metoder til efterbehandling af stedet efter udsætning .....	18
4.c. Behandlingsmetoder, efter udsætning, herunder affald .....	19
4.d. Overvågningsplaner og teknikker .....	20
4.e. Beredskabsplaner .....	20
4.f. Metoder og procedurer til beskyttelse af stedet .....	20
B.5. Beskrivelse af teknikker til påvisning og identifikation af GMHP'erne .....	21
B.6. Oplysninger om tidligere udsætninger af GMPH'erne .....	22
Underskrift .....	23
Bilag: .....	24



# Oppotunity, et tværeuropæisk samarbejde om udsætning af kartofler til produktion af kartoffelstivelse, med forbedret tolerance imod kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*)

*Oppotunity-projekt: Et fælles forskningsprojekt mellem stivelseskartoffelavlere, stivelsesindustri, kartoffelforædlere, universiteter, institutioner og NGO'er indenfor EU, om udvikling af kartofler med forbedret tolerance imod kartoffelskimmel (Phytophthora infestans).*

## A. Generelle oplysninger

### A.1. Anmelderens navn og adresse

Mariette Andersson, CEO SolEdits AB, Scheelevägen 8B, 223 63 Lund, Sweden  
e-mail: mariette.andersson@soledits.com

Christian Feder, Agrochef KMC Amba, Herningvej 60, 7330 Brande  
e-mail: cf@kmc.dk

### A.2. De ansvarligere forskeres navne

**Christian Feder**, Cand.agro og Agrochef hos KMC A.m.b.a. Har arbejdet med udvikling, avl og forædling af kartofler siden 1990.  
Erhvervede GMO- kørekort i 2021.

**Mariette Andersson**, CEO at SolEdits, holds a PhD in Biochemistry. Has more than 25 years of experience in potato biotechnology and GM field trials.

Markpersonalet er uddannede jordbrugsteknologer og har erhvervet GMO - kørekort på Bygholm Landbrugsskole i december 2021 eller marts 2023.  
Forsøgsarbejdet vil blive udført i samarbejde med Ytteborg Field Trials, Hjernmvej 94, 7560 Hjern.



### A.3. Projektets titel

Oppotunity, et tværeuropæisk samarbejde om udsætning af kartofler til produktion af kartoffelstivelse, med forbedret tolerance imod kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*)

### A.4. Udsætningen

#### A.4.a. Formålet med udsætningen

Undersøge muligheden for at reducere anvendelse af kemiske plantebeskyttelsesmidler imod kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*) i kartoffel.

Forsøget vil bestå af delvist ubehandlede og/eller delvist behandlede parceller.

#### A.4.b. Udsætningens startdato og varighed.

Udsætning sker i perioden 01. april – 31. maj 2025/2026/2027 og høst i perioden 01. september – 30. oktober 2025/2026/2027.

#### A.4.c. Udsætningsmetode

Kartoffelknolde håndlægges i rækker og dækkes med kartoffelkamme (hyppes), og/eller der udplantes pottedyrkede kartoffelplanter, som sættes i en færdighyppet kam.

#### A.4.d. Fremgangsmåde ved forberedelse og behandling af udsætningsstedet inden, under og efter udsætningen, herunder dyrknings- og høstpraksis:

##### **Forår:**

Marken er pløjet og/eller harvet op inden lægning af kartoffelknolde/udplantning af pottedyrkede kartoffelplanter.

##### **Under (udsætningen) væksten:**

Normal behandling mod ukrudt, skadedyr og sygdomsbekæmpelse imod andre svampesygdomme end kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*). Forsøget vil bestå af delvist ubehandlede og/eller delvist behandlede parceller mod kartoffelskimmel (*Phytophthora infestans*).

Planterne vil løbende blive vandet efter behov.

**Høst (optagning):**

Høst af de CRISPR-Cas editerede planter vil foregå ved en rodunderskæring og løsning af kammen, efterfulgt af håndopgravning og opsamling samt vejning i marken.

Måling af stivelsesindhold vil ske indendørs ved hjælp af en special vægt der kan udregne indholdet af tørstof (og heraf stivelsesindhold).

De høstede knolde forarbejdes til kartoffelmel på KMCs GMO godkendte laboratorium i Brande.

A.4.e. Omtrentlig antal planter per kvm.

3 - 6 planter per kvm.

**A.5. Oplysninger om udsætningsstedet**A.5.a. Udsætningsstedets størrelse og beliggenhed

Udsætningsstedet er beliggende i markbloksnummer 500207-20.

Området, der vil blive tilplantet med den CRISPR-Cas modificerede kartoffel, vil være 250-2500 m<sup>2</sup> brutto og 100-1500 m<sup>2</sup> netto.

Forskel mellem brutto og netto areal er værn og sti.

A.5.b. Beskrivelse af udsætningsstedets økosystem, herunder klima, flora og fauna.

Udsætningsstedet er beliggende i et konventionelt dansk landbrugsareal.

A.5.c. Forekomsten af krydsningskompatible beslægtede vilde eller dyrkede plantearter.

Kartoffel krydser ikke spontant med vilde arter af kartoffel eller andre dyrkede *Solanum* arter.

Ved blomstringen i begyndelsen af juli vil vi, som ekstra sikkerhed, klippe blomsterne af planterne i de CRISPR-Cas editerede planter. Dette vil forhindre en evt. teoretisk mulighed for krydsninger.

Afklipping af blomsterne anvendes bl.a. også ved SLU (Sveriges Lantbruks Universitet).



A.5.d. Afstanden til officielt anerkendte biotoper eller beskyttede områder, som vil påvirkes.

Afstande

§3 Hede: 230 meter

§3 Overdrev: 470 meter

§3 Eng: 550 meter

Fredskov: min. 15 meter





## B. Videnskabelige oplysninger

### B.1. Oplysninger om recipientplanten eller - hvor det er relevant - forældreplanter

#### B.1.a. Fuldstændigt navn

Taxonomi	Latinske navn
i) Familie	<i>Solanaceae</i>
ii) Slægt	<i>Solanum</i>
iii) Art	<i>Solanum tuberosum</i>
iv) Underart	<i>Tuberosum</i>
v) Kultivar	Kuras
vi) Almindeligt navn	Kartoffel (stivelse) "Kuras"

#### B.1.b. Udbredelse og dyrkning i Unionen

Kartofler dyrkes bredt i alle lande i Unionen og anvendes til almindeligt konsum, pommes frites, chips, dehydrerede produkter, alkohol og stivelsesproduktion.

#### B.1.c. Reproduktion

i)

Kartofler opformerer (reproduceres) normalt klonalt ved udplantning af læggeknolde, som producerer nye knolde.

I forsknings- og forædlingsøjemed bruges frø til at frembringe F1 generationen, som producerer den første knold. Bestøvning foregår her i drivhuse, hvor pollen overføres til støvdrager med hånden, dette kan lidt populært betegnes som "kunstig befrugtning".

Langt de fleste kommercielle kartoffel kultivarer (sorter), som fx Kuras, er tetraploide, hvilket vil sige at der er fire kopier (kaldet alleler) af hvert gen i kartofflens genom.

ii)

I naturen sker der yderst sjældent spontant krydsning mellem kultivarer (sorter) af kartofler, hvorfor risiko for krydsbestøvning anses som værende teoretisk.

For at eliminere selv den mindste risiko, vil vi klippe blomsterne af, når planterne begynder at blomstre – typisk primo juli.

iii)

Kartofler er 1. årige.



#### **B.1.d. Krydsningskompatibilitet med andre dyrkede eller vilde plantearter, herunder udbredelsen i Europa af de kompatible arter.**

Der kendes ikke til krydsninger mellem kartofler og andre dyrkede eller vilde arter i Europa. Krydsningskompatibiliteten må derfor anses for at være ikke eksisterende.

#### **B.1.e. Overlevelsessevne:**

i)

Evne til at danne strukturer, der fremmer overlevelse eller vækstdvale:

Ikke høstede knolde kan overleve i jorden hen over en mild vinter uden betydende frost. Almindeligt vintervejr med gentagen nat og dagsfrost vil slå eventuelle overskydende knolde i jorden ihjel, de fryser væk.

Alle kartoffelknolde i forsøget på udsætningsstedet vil blive rodunderskåret og jordløsnet, efterfulgt af håndopgravning og opsamling, hvorfor sandsynligheden for at der skal være knolde i jorden efter høst er ubetydelig.

ii)

Ingen særlige faktorer.

#### **B.1.f. Spredning**

i)

Maskinoptagning vil i nogle tilfælde spille små knolde, som kan give ny vækst året efter. Derfor vælges den manuelle håndopgravning og opsamling, som er et effektivt værn imod knolde, der ikke bliver høstet.

ii)

*Generel betragtning vedr. risiko for spredning*

Det er meget vanskeligt at forstille sig at et givent patogen/mikroorganisme skulle få selektive fordele ved overførsel af et destrueret plante-modtagelighedsgen, der i planten bremser plantens forsvar overfor patogenet – snarere tværtimod. Pathogenet udnytter plantens funktionelle modtagelighedsgen til at gøre planten mere modtagelig overfor patogenet.

Vi forventer ikke en 100 % modstandskraft, nærmere en udsættelse af angrebet med 3 – 6 uger.

Kartoffelskimmel er epidemisk og vil per erfaring altid angribe planten. Mere end 100 års erfaring med kartoffeldyrkning har vist at 100 % modstandskraft *ikke* findes.

Målet er at udsætte og reducere anvendelsen af fungicider, *ikke* at skabe en plante, der har 100 % modstandskraft. Kartoffelskimmel tilpasser sig, hvorfor balancen mellem plante og patogen blot forrykkes i forhold til en mere modtagelig sort.

- Generelt er tab af gen funktion ledsaget af reduceret konkurrence evne i naturen.





- Der er desuden ingen rapporter om produktion af giftige forbindelser som følge af mutationer i modtageligheds gener.

**B.1.g.**

Ikke relevant

**B.1.h.**

Kartoflen vekselvirker ikke med andre planter eller organismer, hvor den dyrkes konventionelt, og der er ikke nogen kendt toksisk virkning på mennesker, dyr eller andre organismer.



## B.2. Molekylær karakterisering

### a) Oplysninger om den genetiske modifikation

#### i) Beskrivelse af de metoder der er anvendt

SolEdits has developed 17 edited Kuras-lines using CRISPR-Cas9. The gene targeted is DMR6-1 with the aim of increased tolerance to late blight. The method used by SolEdits is a DNA-free CRISPR-Cas9 through Ribonucleoprotein (RNP) transfection of potato protoplasts isolated from potato leaves. The exact and full method used can be found in recent publications (Andersson et al. 2018 and Nicolia et al. 2021). The method prevents the possibility of any new DNA to be inserted in the genome.

Three regions of DMR6-1 have been targeted named DMR6T4, DMR6T5 and DMR6T6 with target sequence and exon localisation described in Table 1.

**Table 1.** Target name, target sequence and exon localisation of target

DMR6T4	TCAGGAGCATATTTCTCCAG AGG	Exon 2
DMR6T5	CCAATAATTGACTTAGGTTGCGG	Exon 1
DMR6T6	AAAAGGAGACAGTTCATAATTGG	Exon 2

Corresponding gRNA has been synthetically produced by Synthego and preassembled with TrueCut™ Cas9 from Invitrogen before transfected to Kuras protoplasts using 25% Polyethylene glycol (PEG).

The regenerated lines have been analysed using PCR amplification and fragment analysis, named as IDAA in the previous description and HRFA in some other publications. DNA was extracted from a small leaf of each regenerated events and used for PCR amplification spanning the target sites. The PCR amplicons were analysed on a 3500 Genetic analyser (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). All protocols for the analysis can be found in Andersson et al. 2017. The method reveals the size of the indels in each line, and mutation patterns for each of the 17 lines can be seen in Table 2. Mutation has further been confirmed by amplicon sequencing of the events flanking the target region (Table 3), page 12.

**Table 2.** Edited lines with unique ID and the size of indels in respective allele. Lines in pink has at least one remaining wild type allele, lines in orange have all four alleles edited but at least one allele in frame seen as “-3 or -6” (= a protein is still expressed but might have a lower activity), and in yellow full knockout plants where the protein should be completely suppressed. Indels with “-” represents a deletion and with “+” represents an insertion. Less than four different indels indicates that at least two alleles share the same size of indel. Lack of “0” means no wild type allele remaining in the line.

Line #ID	Mutations
23014	-5;-4;-2;-1
23016	-3;-1;;



Line #ID	Mutations
23018	'-3;-1;;
23020	-8;-4;-3;-1
23023	-4;-3;0;
23025	-4;-1;0;
23027	-3;-1;;
23093	-6;-4;0;
24027	72;-5;-3;-1
24111	-6;-4;-1;
24157	-5;-4;-1;
24208	5;-2;-1;
48173	-8;-7;-4;-1
24170	0;1;;
24178	-1;0;;
46119	-5;0;;
47157	-19;0;;

*ii) den anvendte vektors art og oprindelse*

Ikke relevant, da der ikke er anvendt DNA (konstrukt) på noget tidspunkt i processen. Der er brugt DNA fri CRISPR-Cas i form af RiboNukleoProtein (RNP).

*iii) Kilden til den/de til transformationen anvendte nukleinsyre(r) samt størrelse og tilsigtet funktion af hver bestanddel af den region, der skal indsættes*

Ikke relevant, da der ikke er tale om indsættelse af DNA og der ikke er anvendt DNA i processen.

## **b) Oplysning om GMHP'erne**

*i) Overordnet beskrivelse af de egenskaber og karakteristika, der er indført eller ændret*

Der er ved brug af CRISPR-Cas teknologien frembragt små målrettede mutationer i et såkaldt modtagelighedsgen (eng: susceptibility gene), her i genet StDMR6-1, i sorten Kuras. StDMR6-1 genproduktet er en negativ regulator (bremse) af plantens immunforsvar. Som led i infektionen af planten high-jacker/opregulerer skimmelen produktionen af StDMR6-1 genproduktet, hvorved plantens immunforsvar dæmpes / 'holdes inaktivt'. Ved Knock Out (KO) af StDMR6-1 genet, fx via anvendelse af CRISPR-Cas, fjernes 'bremsen på immunsystemet', inkl. skimmelens mulighed for at styre reguleringen af



genet, så planten derved bliver mindre modtagelig overfor kartoffelskimmelen. Det forventes derfor, at forbruget af svampemidler til kontrol af skimlen på sigt vil være betydeligt mindre.

Plante resistens markør(er) er ikke relevant da kun DNA fri RNP komplekser har indgået i editerings processen. De fremkommende mutationer må betegnes som værende af INDEL og dermed af Site Directed Nuclease 1 (SDN1) typen, idet homolog integrations template ikke har indgået i editerings processen.

ii) Oplysninger om faktisk indsatte/deleterede sekvenser

**Table 3**

Results from sanger sequence of events

**23014**

CTGGAGAAATATGCTCCTGAA  
DMR6T4  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA  
CTG-----ATATGCTCCTGA  
CTGGA--AATATGCTCCTGA  
CTG-----AATATGCTCCTGA

**23016**

CTGGAGAAATATGCTCCTGA  
DMR6T4  
CTG---AAATATGCTCCTGA  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA  
CTG---AAATATGCTCCTGA  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA

**23018**

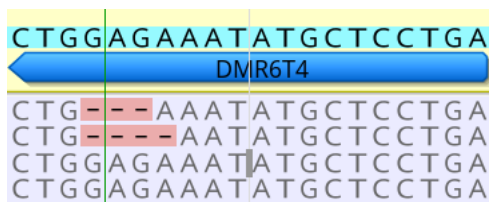
CTGGAGAAATATGCTCCTGA  
DMR6T4  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA  
CTG---AAATATGCTCCTGA  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA

**23020**

CTGGAGAAATATGCTCCTGA  
DMR6T4  
CTG-AGAAATATGCTCCTGA  
CTG---AAATATGCTCCTGA  
CTG---AATATGCTCCTGA  
CTG-----TGCTCCTGA



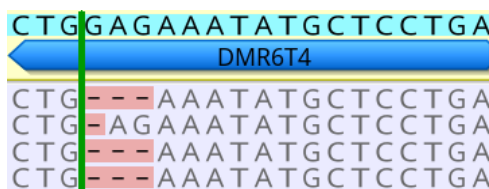
23023



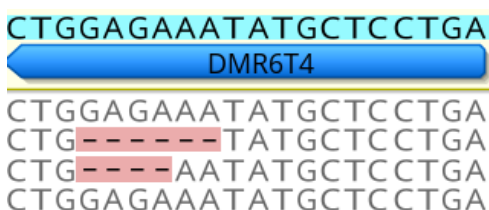
23025



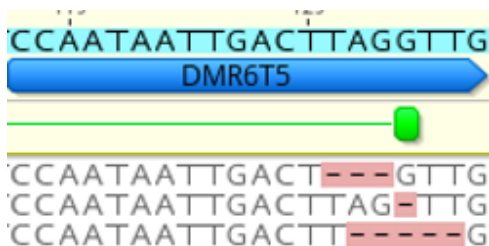
23027



23093

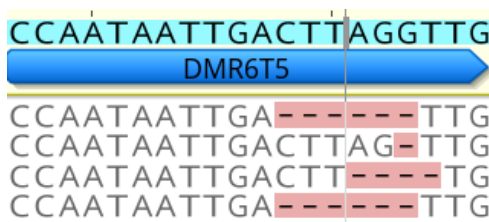


24027



+ 1 additional allele with -72 bp deletion failed to be detected in sequencing

24111





24157

CCAATAATTGACTTAGGTTG  
DMR6T5  
CCAATAATTGACTT-----G  
CCAATAATTGACTT-----TG  
CCAATAATTGACTTAG--TTG  
CCAATAATTGACTT-----G

24208

CCAATAATTGACTTAGGTTG  
DMR6T5  
CCAATAATTGACTTAGG--G  
CCAATAATTGACTT--GTTG  
CCAATAATTGACTT-----G  
CCAATAATTGACTTAG--TTG

48173

AAAAGGAGACAGTTCATAAT  
DMR6T6  
AAAAGGAGA-----AAT  
AAAAGGAGA-----TAAT  
AAAAGGAGACAGT-----AAT  
AAAAGGAGACAGTTCA--AAT

24170

CCAATAATTG Coverage: The number  
DMR6T5  
CCAATAATTGACTTAGG-TTG  
CCAATAATTGACTTAGGAATTG  
CCAATAATTGACTTAGG-TTG  
CCAATAATTGACTTAGG-TTG

24178

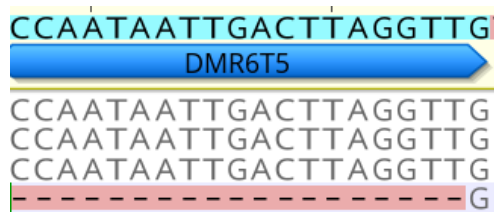
CCAATAATTGACTTAGGTTG  
DMR6T5  
CCAATAATTGACTTAGGTTG  
CCAATAATTGACTTAG--TTG  
CCAATAATTGACTTAGGTTG  
CCAATAATTGACTTAGGTTG

46119

CTGGAGAAATATGCTCCTGA  
DMR6T4  
CTGGAGAAATATGCTCCTGA  
CTG-----ATATGCTCCTGA  
CTGGAGAAATATGCTCCTGA  
CTGGAGAAATATGCTCCTGA



47157



*iii) Dele af Planten, hvori insertet udtrykkes*

Ikke relevant, da der ikke er tale om indsættelse af DNA, og der ikke er anvendt DNA (konstrukt) på noget tidspunkt i genediteringsprocessen.

*iv) Insertets genetiske stabilitet og GMHP'ernes fænotypiske stabilitet*

Ikke relevant, da der ikke er tale om indsættelse af DNA. Der er ikke anvendt DNA (konstrukt) på noget tidspunkt i processen. Kartoffel er kendt for at bibeholde plantens genetiske setup, når de propageres via knold (klon) formering. Rekombination sker i langt overvejende grad kun ved kønnet formering.

### c) Konklusioner af den molekylære karakterisering

Mutations has been induced, and molecular characterisation has been made with Sanger sequencing of PCR amplicons spanning the target site and results and allelic dosage seen under 2. b. ii

*Litteratur med direkte relevans for linjerne*

**References** (Andersson et al 2017, 2018 and Nicolia et al 2021).

Andersson, M., Turesson, H., Nicolia, A. *et al*. Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. *Plant Cell Rep* **36**, 117–128 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00299-016-2062-3>

Andersson, M., Turesson, H., Olsson, N., Fält, A.-S., Ohlsson, P., Gonzalez, M.N., Samuelsson, M. and Hofvander, P. (2018), Genome editing in potato via CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery. *Physiol Plantarum*, 164: 378-384. <https://doi.org/10.1111/ppl.12731>

Nicolia, A., Fält, AS., Hofvander, P., Andersson, M. (2021). Protoplast-Based Method for Genome Editing in Tetraploid Potato. In: Tripodi, P. (eds) *Crop Breeding. Methods in Molecular Biology*, vol 2264. Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1201-9\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1201-9_12)



### B.3. Oplysninger om specifikke risikoområder

(se desuden uddybende beskrivelse i medsendte bilag 1, Miljøriskovurdering M5-D2)

#### a) Eventuelle ændringer i GMHP'ernes persistens...

Der forventes ingen ændringer i hverken persistens eller invasionsevne, ej heller i evnen til at overføre genetisk materiale til beslægtede plantearter.

(se desuden afsnittet '*Generel betragtning vedr. risiko for spredning*')

#### b) Eventuelle ændringer i GMHP'ernes evne...

Der forventes ingen ændringer i evnen til at overføre genetisk materiale til mikroorganismer.

(se desuden afsnittet '*Generel betragtning vedr. risiko for spredning*')

#### c) Vekselvirkningsmekanisme mellem GMHP'erne og målorganismene...

Ikke relevant. Planternes forsvarsmekanismer imod kartoffelskimmel (*P. infestans*) forbedres.

#### d) Potentielle ændringer i GMHP'ernes vekselvirkninger...

Der forventes ingen ændringer.

#### e) Potentielle ændringer i landbrugspraksis...

Den potentielle ændring i landbrugspraksis vil være, at der skal sprøjtes færre gange med svampemidler i kartoflerne. Det betragtes som en positiv ændring, både i relation til landbrugspraksis og i relation til miljøet bredt set (inkl. fx forekomst i drikkevandsboringer, CO<sub>2</sub> regnskab i forbindelse med svampemiddels fremstilling og udbringning etc.).

#### f) Potentielle vekselvirkninger med det abiotiske miljø...

Der forventes ingen påvirkninger på de abiotiske miljøer.

#### g) Oplysninger om enhver toksisk, allergisk...

Der er ingen forventning om, at der er sket ændringer i stivelsessyntesen eller den øvrige måde planten vokser på.

Det udsatte/reducerede skimmelangreb vil forventeligt give en mere jævn vækstrytme for planten, da angreb stresser planten og presser dens vækst. Dette antages at have en positiv effekt på plantens generelle vækst, hvilket bl.a. er kendt fra den praktiske avl.

Kartofler er generelt ikke toksiske eller kendt for at udvikle allergier.

Der forventes ingen toksisk, allergisk eller anden skadelig påvirkning på menneskers eller dyrs sundhed.

#### h) Konklusioner vedrørende de specifikke risikoområder

Der forventes ingen øget risiko for miljøpåvirkning, hverken på mennesker, dyr eller omkringliggende natur. Den forventede reducerede mængde svampemiddel forventes derimod at mindske risikoen for skadelige påvirkninger på alle omgivelser.

Generelle betragtninger vedr. transport fra SLU Alnarp (S) til KMC, knolde opbevares i dobbelt sække, som





placeres i kasser med låg mærket GMO. Transport mellem landsdele vil ske i bil, ledsaget af person med GMO – kørekort. Transport mellem mark og KMC sker via KMC ejede køretøj (se desuden beskrivelser ovenfor og følgende for håndtering).



## B.4. Oplysninger om kontrol, overvågning og efterbehandling- og affaldshåndteringsplaner

### 4.a. Trufne forholdsregler

i) *Afstand fra krydsningskompatible plantearter, både beslægtede vilde plantearter og afgrøder.*

Der vil være mindst 10 m til nærmeste kartoffelmark.

Udsætningsstedet for den CRISPR-Cas modificerede kartoffel vil desuden blive omgivet af et værn af ikke-CRISPR-Cas modificerede kartofler.

Kartofler krydser ikke spontant med vilde arter af kartofler eller andre *Solanum* arter.

Som ekstra sikkerhed afklippes blomster i blomstringsperioden, typisk fra primo juli til afsluttende blomstring primo august.

ii) *Forholdsregler for at mindske/undgå spredning af de modificerede planters reproduktionsorganer (F.eks. Pollen, frø, knolde).*

Udsætningsstedet for den CRISPR-Cas modificerede kartoffel vil blive omgivet af værn af ikke CRISPR-Cas modificerede kartofler, der vil fungere som pollenfanger, og derved reducere pollenspredning.

Dette bælte vil blive høstet og alt plantemateriale vil blive destrueret ved høst, som beskrevet nedenfor.

Som ekstra sikkerhed afklippes blomster i de CRISPR-Cas editerede planter i blomstringsperioden, typisk fra primo juli til afsluttende blomstring primo august.

Spande, kurve og øvrige redskaber anvendt ved udplantningen vil blive grundigt rengjorte og eftersat for lægge knolde.

3 – 5 dage før forventet høst/optagning vil toppen bliver knust med en top-knuser. Derved knuses alt top og evt. "æbler".

Efter topknusning og forud for høst af kartoffelknolde, vil kammene blive rodunderskåret og løsnet, efterfulgt med håndopgravning og opsamling, for at sikre der ikke efterlades knolde i jorden.

Høstede CRISPR-Cas editerede knolde vil blive opsamlet i dobbelt lukkede plastposer, mærket med GMO, og transporteres i kasser til bestemmelse af stivelsesindhold på indendørs stivelsesvægt.

Alle knolde bliver efterfølgende destrueret, da der laves kartoffelmel på alle knolde i KMCs GMO godkendte laboratorium i Brande.

Den producerede kartoffelmel analyseres efter KMCs standard analyser. Kartoffelmelet destrueres herefter.

Efter brug vil vægten og kasser blive rengjort og desinficeret og overskydende knolde fra forsøg og værn vil blive kørt til forbrænding/deponi.

### 4.b. Metoder til efterbehandling af stedet efter udsætning

Efter høst vil jorden bliver harvet, for at fritlægge eventuelle knolde, som ikke er taget op.

1. harvning vil ske efter høst, så evt. knolde kan frilægges og fjernes. Hen over vinteren vil marken blive harvet efter frostperioder eller mindst 2 gange.

Efter hver harvning vil marken blive kontrolleret for evt. fritlagte knolde, som vil blive destrueret.

Året efter udsætningen (2026), vil arealet ligge som sort jord med månedlige harvninger (april til



september) og overvågning.

Arealet vil blive overvåget i min. 4 år eller til der ikke findes spildplanter mere (jf. vejledning fra Landbrugsstyrelsen "Dyrkningsbestemmelser for GM kartofler" marts 2022).

Arealet forventes udlagt med slåningsbrak fra 2027, som kan slås og overvåges.

Nedenfor er vist en forventet placering af forsøgsarealet i 2025, 2026 og 2027 i markblok 500207-20, hvor der ikke er overlap til tidligere GMO-forsøgsarealer. Størrelserne på forsøgsarealerne for 2026 og 2027 kendes ikke endnu, da det afhænger af udvalgte linjer og resultater af ubehandlede og/eller behandlede forsøgsparceller.



Det skal bemærkes, at erfaringen med håndoptagning og opsamling af kartofler er at der meget sjældent efterlades knolde i jorden.

#### 4.c. Behandlingsmetoder, efter udsætning, herunder affald

Under dyrkningen: normal plantebeskyttelse imod ukrudt, skadedyr og andre sygdomme end kartoffelskimmel.

Høst: Håndoptagning/høst. Ved håndopgravning og opsamling er risikoen for spild meget lille. Alt overjordisk plantemateriale vil blive knust forud for høst/optagning.

Plantemateriale fra værnet udenfor de CRISPR-Cas modificerede planter vil også blive knust forud for høst/optagning.



De høstede knolde vil blive transporteret i dobbelt lukkede plastposer mærket med GMO, placeret i kasser til stivelsesvægten.

Efter brug vil vægten og kasser blive rengjort og desinficeret, og knolde og sække vil blive kørt til forbrænding/deponeret.

#### **4.d. Overvågningsplaner og teknikker**

Udsætningsmarken vil blive observeret hver uge i vækstperioden, og væksten vil blive noteret og beskrevet. Efter høst og i årene efter (jf. pkt.4b) vil udsætningsmarken blive nøje overvåget for knolde og eventuelle planter.

Eventuelle planterester og knolde vil blive destrueret.

#### **4.e. Beredskabsplaner**

Der forventes ikke krisesituationer med mulig undtagelse af potentielle hærværksaktioner, hvilket der ikke er tradition for i Danmark.

Lokaliteten vil blive overvåget med jævne mellemrum. Der vil blive opsat skilte forskellige steder ved marken, der beskriver forsøget samt navne og telefonnumre på de ansvarlige for forsøget: Christian Feder, Agrochef KMC og Kristian Elkjær, Teamleder R&D KMC.

#### **4.f. Metoder og procedurer til beskyttelse af stedet**

i)

Alt arbejde med de CRISPR-Cas editerede planter/knolde vil ske som håndarbejde, hvorfor den mekaniske spredningsrisiko betragtes som minimal.

Al transport til og fra mark vil ske i lukkede enheder/kasser, hvorfor risiko for spredning under transport også betragtes som minimal.

ii)

Der forventes ikke at skulle gøres noget ekstra til beskyttelse af stedet mod uvedkommende personers indtrængen.

iii)

Der forventes ikke at skulle gøres noget ekstra til beskyttelse af stedet mod andre organismers indtrængen.



## **B.5. Beskrivelse af teknikker til påvisning og identifikation af GMHP'erne**

**Da DNA på intet tidspunkt har indgået i den RNP medierede mutagenese, vil analyse af fremmet DNA være irrelevant.**

Den nedenfor beskrevne målrettede mutations analyse vil alene påvise, hvorvidt mutationen forefindes i det analyserede materiale eller ej.

Genomisk DNA fra knolde, stængel eller blade isoleres og målgenet StDMR6-1 amplificeres ved fluorescens mærket PCR Indel Detection Amplicon Analysis, kaldet IDAA, for hurtig, men sikker, mutation identifikation, og amplificeres ved umærket PCR for mutations identifikation på nukleinsyre base niveau. Alle trin er implementeret, og udføres løbende ved SolEdits som beskrevet i Andersson et al. 2018 and Nicolia et al. 2021 (se ovenfor). Isoleret genomisk DNA fra Ikke-CRISPR-Cas modificerede Kuras planter anvendes som negativ kontrol.

Alle plante-liner (kloner af mutationen) vil være fuldt karakteriseret (i alle fire alleller) vha. IDDA og sekvensering analyse, som beskrevet ovenfor, og vil blive anvendt til entydig mutant/line identifikation i indhentet materiale, der evt. ift. en usandsynlig spredning, kunne påtænkes analyseret.



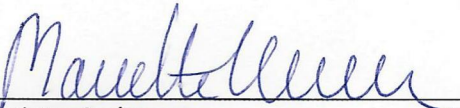
## **B.6. Oplysninger om tidligere udsætninger af GMPH'erne**

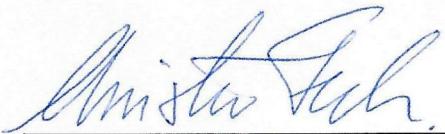
Ikke relevant.



## Underskrift

Dato: 28. januar 2025

  
\_\_\_\_\_  
Mariette Andersson  
CEO SolEdits

  
\_\_\_\_\_  
Christian Feder  
Agrochef KMC

**Bilag:**

1. Miljørisikovurdering
2. KMCs GMO-godkendelse af laboratorie
3. Foreløbig skitse til forsøgsplan i marken
4. Rodunderskæring og jordløsning
5. Projektbeskrivelse: Oppotunity