

GM planter og honningbier

Henrik Frølich Brødsgaard

Honningspecialisten.dk

August 2006

INDHOLD

Indledning	3
Honningbi-bestøvning	4
Spredning af transgent pollen til konventionelt forædlede planter	5
Raps.....	5
Majs.....	6
Kartoffel.....	6
Sukkerroe	6
Sojabønne, bomuld og tobak.....	7
Spredning af transgener til andre organismer	7
Direkte effekter på bier	8
Bt-gener.....	8
Protease inhibitor-gener	9
Kitinase-gener	9
β -1,3 glucanase-gener	10
Biotinbindende gener	10
Glufosinatresitens-gener	10
Andre gener.....	11
Indirekte effekter på honningbier	11
Risikovurdering vedr. effekter på honningbier	12
Metoder	12
Diskussion og konklusion	14
Litteratur	15

Indledning

På verdensplan dyrkede landmænd i 2005 genmodificerede (GM) afgrøder på 90 millioner hektar, hvilket er en forøgelse på 11% i forhold til året før. De fire mest udbredte GM afgrøder er sojabønne, majs, bomuld og raps med hhv. 54,4 mil. ha, 21,2 mil. ha, 9,8 mil ha og 4,6 mil. ha (GM-Compass 2006 a). Den hyppigst forekomne egenskab er herbicidtolerance mod glyphosate. Disse afgrøder udgør 71% af det samlede dyrkede GM areal. Insecticidresistens vha. Bt-gener er den næsthypigste egenskab med i alt 16% af det totale areal på verdensplan (GM-Compass 2006 e).

Det er et generelt krav, at GM planter, som skal udsås ikke har negativ indvirkning på det omgivende miljø. Organismer, som i den forbindelse skal tages i betragtning er såkaldte non-target-hvirvelløsedyr (EU, 1990; USDA/APHIS, 1991). Honningbier er i den forbindelse oplagte at inkludere i en sådan risikovurdering, da de har meget stor økonomisk betydning, som de væsentligste bestøvere af vilde og dyrkede planter (Free 1993).

GM planter kan have direkte eller indirekte indflydelse på bier. De direkte effekter på bier kan defineres som den påvirkning et protein som genet koder for har på bien. Den indirekte effekt kan beskrives som den ændring genet kan have på plantens fænotype og dermed på f.eks. dens attraktivitet og næringsværdi for bier (Malone & Pham-Delègue 2001).

Denne DJF-rapport giver et overblik over de videnskabelige undersøgelser, der er udført i et forsøg på at afdække GM planters mulige indflydelse på honningbiers funktion samt biernes mulige indflydelse på spredning af transgener i miljøet.

Honningbi-bestøvning

En lang række afgrøder i land- og havebrug har behov for bestøvning af bier. I Danmark produceres der gennemsnitligt 3.000 tons honning pr. år til en værdi af ca. 60 mio. kr. (Brødsgaard & Hansen 2001). Det anslås, at værdien af honningbiernes bestøvningsarbejde i EU er 30 til 50 gange større end værdien af honningproduktionen (Udvalget om Landbrug og Udvikling af Landdistrikter 1994). For Danmarks vedkommende bliver det således 1,6 til 3 mia. kr. pr. år (Brødsgaard & Hansen 2001). På verdensplan er bestøvningen, hvor honningbierne er den vigtigste bestøver, estimeret 200 mia. U.S. dollars (Pimentel *et al.* 1997). Honningbierne har derved stor nationaløkonomisk betydning. En lang række undersøgelser viser da også, at der kan høstes betydelige merudbytter ved bibestøvning (Brødsgaard & Hansen 2000).

Honningbierne er særdeles effektive bestøvere. EU Kommissionen anslår, at honningbier sikrer 90% af bestøvningen for ca. 80.000 plantearter. De resterende 10% varetages af humlebier og solitære insekter. (Udvalget om Landbrug og Udvikling af Landdistrikter 1994). Hvis der ikke var honningbier, ville ca. 20.000 plantearter ifølge beregningen fra EU uddø inden for ganske kort tid. Pga. symbiose ville jordbundens mikroflora også blive påvirket. Mange planter, solitære insekter og talrige fugle- og andre dyrearter er således afhængige af honningbier (Udvalget om Landbrug og Udvikling af Landdistrikter 1994). Honningbierne opfylder derfor en økologisk funktion, som har stor betydning for hele det menneskelige samfund.

Honningbierne overvintrer i små bifamilier med omkring 10.000 vinterbier. På grund af kraftig yngeludvikling i foråret og sommeren dannes store bifamilier med op til 60.000 voksne individer (Svendsen 1991). Bifamilien har behov for store mængder pollen som proteinkilde til udvikling af fodersaftkirtler, vokskirtler, fedtlegemer m.m. hos de unge bier. Den unge nybefrugtede dronning har behov for proteiner til udvikling af æggestokke og til ægproduktion, og dronerne bruger proteiner i forbindelse med testikeludvikling. Herudover fodres larverne med store mængder proteiner. Totalt bruger bifamilier i gennemsnit 35 kg pollen om året (Svendsen 1991). Ved biernes pollenindsamling sker der samtidig en bestøvning af blomsterne.

Honningbier er blomsterfaste (Maurizio 1953). Det betyder, at når en gruppe bier fra en bifamilie er begyndt at samle nektar eller pollen fra en bestemt art, vil hovedparten fortsætte med at samle fra denne eller nært beslægtede arter, så de er attraktive i forhold til de øvrige blomstrende planter.

Honningbifamilier kan have et meget stort fourageringsområde. I forbindelse med undersøgelser af bifamilier på Drejø, er der registreret bier, som har indsamlet nektar og pollen i en rapsmark ca. 4,5 km fra bigården (Brødsgaard & Hansen 2002, pers. medd.). Der er endvidere i forbindelse med insekticidspøjtninger af rapsmarker i enkelte tilfælde registreret forgiftning af bifamilier 6 km fra den sprøjtede mark (Svendsen 1992, pers. medd.).

Honningbiernes store pollenforbrug, at de er blomsterfaste, og at bifamilierne kan have et meget stort fourageringsområde er årsager til, at de er de mest effektive bestøvere af planter, som kræver insektbestøvning.

Spredning af transgent pollen til konventionelt forædlede planter

De GM-afgrøder, der på verdensplan dyrkes på de største arealer, er sojabønne (*Glycine max*) med 60% af den totale sojabønneproduktion, majs (*Zea mays*) med 24%, bomuld (*Gossypium spp*) med 11% og raps (*Brassica napus*) med 5% (GMO-Compass 2006 a & b). GM-sukkerroer (*Beta vulgaris*) dyrkes i USA (GMO-Compass 2006 c), er netop blevet godkendt i EU (GMO-Compass 2006 d), hvorimod kartofler (*Solanum tuberosum*) og tomater (*Lycopersicon esculentum*) ikke længere dyrkes pga. manglende accept hos forbrugerne (GMO-Compass 2006 c). Nye GM-kartofler til stivelsesindustrien står dog for at skulle dyrkes i EU (GMO-Compass 2005). GM-tobak (*Nicotiana tabacum*) har været dyrket fra 1997 (Hagedorn 1997), men der er ikke nyere data om en evt. udbredelse.

Af disse planter har specielt raps meget stor interesse for bier både som pollen- og nektarleverandør (McGregor 1977). Majs er vindbestøvet, men bier kan indsamle pollen (McGregor 1977, Free 1993). Kartofler har kun meget lidt tilgængeligt pollen og besøges sjældent af honningbier (Free 1993). Sukkerroer er hovedsagelig vindbestøvet (Free 1993). Men honningbier kan hente nektar og pollen i sukkerroer, hvis der ikke er attraktive biplanter i området (McGregor 1977). Der er forskel på pollenproduktion og dermed biers pollenindsamling i forskellige sorter af sojabønner, og ofte indsamles kun meget små mængder pollen (Free 1993). Bomuld er ikke speciel attraktiv for honningbier som pollenleverandør, men bierne indsamler pollen i begrænset omfang, når der ikke er andet pollen tilgængeligt (McGregor 1977). Tobak besøges af honningbier, og honningbier kan med fordel anvendes som bestøvere (Free 1993).

Raps

Raps kan både vind- og insektbestøves, og der er udført adskillige undersøgelser af honningbiers betydning for bestøvningen af raps (Free 1993). Danske undersøgelser har vist, at raps i områder med god forsyning af honningbier giver ca. 10% merudbytte (Svendsen 1990).

Danske frilandsforsøg har vist, at et herbicidresistent gen fra en genmodificeret rapsplante kan overføres til agerkål (*Brassica campestris*) (Jørgensen & Andersen 1994). De to arter hybridiserede spontant, og krydsninger blev senere registreret i en naturlig population. Da både raps og agerkål er gode pollen- og nektartrækplanter, og derfor meget attraktive for bier, var det forventeligt, at der kunne overføres pollen mellem disse to planter. Da arterne også hybridiserede, formodes det, at transgener også kan overføres fra den genmodificerede raps til agerkål (Jørgensen & Andersen 1994). Efterfølgende forsøg har vist, at der allerede ved den første tilbagekrydsning kan produceres agerkål-lignende planter, som bærer et transgen fra raps (Mikkelsen *et al.* 1996). Disse planter har stor pollenfertilitet. Det konkluderes, at agerkål med gener overført fra genmodificeret raps generelt vil kunne påvirke naturlige øko- og agrosystemer.

Et meget stort antal bifamilier i Danmark flyttes hvert år (Brødsgaard *et al.*, 2001). En del af disse bifamilier flyttes mellem afgrøder til bestøvningsformål (Hansen & Brødsgaard, pers. medd. 2003). Det er postuleret, at rapspollen kan spredes over store afstande med bifamilier, som flyttes fra vinterraps til sommerraps (Tolstrup *et al.* 2003). Det skal hertil bemærkes, at det er sandsynligt, at bifamilierne efter flytningen vil have et pollenforråd i tavlerne, hvor vinterraps indgår. Pollenet vil ligge i cellerne, hvor pollenkornene er kittet sammen med små mængder honning. Det må

formodes, at hovedparten af pollenet bliver brugt i forbindelse med fordring af larverne. Denne fodring udføres af stadbier, som ikke kommer i kontakt med vårrapsplanterne. Der er formentlig derfor meget lille sandsynlighed for, at der vil ske spredning af dette pollen til vårrapsen.

Det meste rapspollen spredes i kort afstand fra planten med vinden, og spredningen aftager hurtigt med afstanden. Rapspollen kan dog spredes i flere kilometers afstand fra marken (Kjellson & Damgård 2003). Det må antages, at insektspredningen over de store afstande skyldes honningbier. Der er foretaget modelberegninger af eksisterende data for genspredning af raps fra Australien, Canada, Danmark, England, Frankrig, Sverige, Tyskland og USA (Damgaard & Kjellson 2005). Resultaterne viser, at spredningen af pollen fra marker med genmodificeret raps vil være mindre end 0,1%, hvis afstanden til en mark med ikke genmodificeret raps er over 100 m, og bredden af marken med ikke genmodificeret raps er større end 200 m. Hvis en spredningstærskel på 0,3% er acceptabel, er det selv for mindre marker tilstrækkeligt med en isolationsafstand på 50 m. Hvis der etableres et værnebælte på 5 m rundt om marken med ikke genmodificeret raps, kan spredningen til marken reduceres med en tredjedel.

Majs

Majs er hovedsagelig vindbestøvet. Men honningbier kan indsamle en del pollen fra den forgrenede top, som hanblomsterne danner. Honningbierne medvirker dog praktisk taget ikke til bestøvningen, da de ikke søger hunblomsterne, som ikke producerer nektar (Treu & Emberlin 2000)

Kartoffel

Kartoffel er hovedsagelig vindbestøvet. Af bier er det kun humlebier, som besøger kartoffelblomsterne i større udstrækning (Free & Butler 1959).

Opformering af kartofler i landbruget sker normalt vegetativt – altså ved hjælp af knoldene. Mange kartoffelsorter kan dog producere egentlige kartoffelfrø efter bestøvning. Frøene kan overleve i jorden i op til 8 år og kan altså efter spiring være en potentiel genspreder (Lawson 1983).

Da honningbier kun meget sjældent besøger kartoffelblomster, er sandsynligheden for, at de overfører pollen fra genmodificerede kartoffelsorter til konventionelt forædlede sorter, minimal.

Sukkerroe

Som nævnt ovenfor er sukkerroe hovedsagelig vindbestøvet. Honningbier kan dog hente pollen. Engelske undersøgelser har vist, at blomsterne besøges af et vidt spektrum af insekter, men sjældent af bier (Bateman 1947).

Ud fra de nuværende oplysninger, må det konkluderes, at honningbier kun kan spille en minimal rolle i spredning af pollen fra genmodificerede sukkerroesorter.

Sojabønne, bomuld og tobak

Der er ikke kommerciel dyrkning af sojabønne, bomuld og tobak i Danmark.

Hverken sojabønne eller bomuld er ikke særlig attraktiv for honningbier (Free 1993, McGregor 1977). Det må derfor konkluderes, at der kun er lille sandsynlighed for, at honningbier vil medvirke ved spredning af pollen.

Tobak er mere attraktiv for honningbier, og honningbier kan med fordel anvendes som bestøvere (Free 1993). For at minimere spredning af pollen med honningbier fra genmodificerede planter til konventionelt forædlede sorter, bør der ligesom ved raps være et afstandskrav og værnebølter.

Spredning af transgener til andre organismer

Genoverførsel fra GM planter til andre organismer (horisontal genoverførsel) er kilde til megen debat. I 1999 offentliggjorde forskere (Kaatz & Wölfi) fra Universitetet i Jena, Tyskland i en pressemeddelelse, at de i et feltforsøg med GM raps havde fundet Bar-genet i bakterier i tarmen hos voksne honningbier. Denne meddelelse førte til mange spekulationer, og i 2003 beskrev Kaatz *et al.*, at de kunne vise, at mikroorganismer i det naturlige miljø – med honningbier som bestøvere af herbicid-tolerante rapsmarker – optager GM plante-DNA.

Integration af syntetisk PAT-gen fra pollen kunne genfindes i aerobe mikroorganismer i honningbiernes tarm. Derefter blev disse mikroorganismers persistens undersøgt. Ved fodring til honningbier kunne de efterfølgende genfindes i de fodrede bier, i andre bier i bifamilien samt i biernes ekskrementer på blade udenfor bifamilierne. Disse observationer underbygger, at en horisontal genoverførsel har fundet sted (Kaatz *et al.* 2003).

Bar-genet findes naturligt i jordbakterier (*Streptomyces hygroscopicus*). Det koder for phosphinothricin acetyl transferase (PAT). Dette enzym gør planten resistent overfor herbicidet glufosinate (Health Canada 1997).

Direkte effekter på bier

Biers indtagelse af transgene proteiner udtrykt i specielt pollen, men også i nektar, harpiks eller honningdug kan risikere at få indflydelse på deres adfærd, udvikling og overlevelse. Pollen vil sandsynligvis være den største kilde til transgene proteiner. Voksne bier indtager store mængder pollen i den første uge efter udkrybningen (Crailsheim & Stolberg 1989), og de fleste undersøgelser af effekter er lavet på disse bier. Larver æder også pollen i de ældste stadier, men deres føde består hovedsageligt af fodersaft fra ammebiernes fodersaftkirtler (Malone 2002).

Bt-gener

Bt-gener er isolerede fra den insektpatogene *Bacillus thuringiensis*. Bakterien, som findes i jorden, producerer en række proteiner, som er toksiske for insekter. Forskellige Bt-stammer producerer forskellige toksiner. Som regel er hvert af disse toksiner giftige for specifikke insekt-ordner f.eks. sommerfugle, tovingede og biller (Malone & Pham-Delègue 2001).

Kulturer af sporer og vegetative celler af *B. thuringiensis* er i mere end 60 år blevet anvendt til specifikke insekticider, som indeholder δ -endotoxiner ("Crystal" - Cry proteiner) (Romeis et al 2006). Deres manglende effekt på årevingede insekter har gjort dem sikre at anvende i forbindelse med bier (Glare & O'Callaghan 2000, Malone & Pham-Delègue 2001).

Når Bt-gener kommercielt er indsat i afgrøder (bomuld, majs og kartofler) findes toksinet i en aktiveret form i modsætning til de kendte bakteriekulturer, hvor toksinerne skal påvirkes i insektets tarm for at blive aktivt. Derfor er det vigtigt at lave yderligere test af transgene planters effekt på nytteinsekter som bier (Malone & Pham-Delègue 2001). Bt-toksiner kan oprenses og aktiveres, således at de minder om den måde, hvorpå de udtrykkes i transgene planter (Simpson et al. 1997) og kan således afprøves på bier (Malone & Pham-Delègue 2001).

Oprensede CryAc (som findes i transgen bomuld - virksomt mod sommerfugle) er blevet testet for giftighed for honningbilarver og voksne i laboratorietests i koncentrationer på mellem 100 og 10000 gange de niveauer, som findes i pollen og nektar fra de transgene planter (Sims 1995, EPA 2000). Desuden blev CryAb og Cry9C (som findes i transgen majs - virksomt mod sommerfugle) samt Cry3A (som findes i transgen kartoffel - virksomt mod biller) testet (EPA 2000). Ingen af disse tests viste effekt på voksne bier. Cry3B (virksomt mod sommerfugle) blev afprøvet i et to-måneders fodringsforsøg, hvor bifamilier blev fodret med en sukkeropløsning tilsat dette giftstof. Der var ingen effekt på larveoverlevelse eller puppevægt (Arpaia 1996). Malone *et al.* (1999) og Malone *et al.* (2001) afprøvede Cry1Ba (virksomt mod sommerfugle) iblandet pollenbaseret foder i forskellige koncentrationer til unge voksne honningbier og fandt ingen effekt på fødeindtag, levetid eller flyveaktivitet.

Desuden blev de biologiske insekticider Foray 48B og Dipel2X (begge baseret på *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* og virksomme mod sommerfuglelarver, No Spray Zone 2006, University of Florida 2006) fodret til bier uden effekt. Dog resulterede en ekstrem høj koncentration af Dipel2X i reduceret livslængde og fødeindtag, hvilket muligvis skyldes præparatets hjælpestoffer (Malone et al. 1999).

Et tysk semifield-forsøg med honningbifamilier i netbure sammen med majsplanter, som udtrykte Cry1Ab i pollenet, er beskrevet i EPA (2000). I de syv dage, hvor majsden afgav pollen, sås ingen effekt på voksne biers overlevelse, fourageringshyppighed og –adfærd eller yngeludvikling. I de efterfølgende 30 dage sås fortsat ingen påvirkning af yngelen. Desuden er pollen fra GM majs med hhv. Cry1Ab og Cry1F blevet testet på larver i honningbifamilier samt på voksmøllarver (*Galleria mellonella*) opdrættet i laboratoriet. Dødeligheden var signifikant for voksmøllarver, men der sås ingen effekt på larver, pupper eller nyudkrøbne bier (Hanley *et al.* 2003).

Protease inhibitor-gener

Proteasehæmmere (PI) er proteiner, som hæmmer nedbrydningen af protein (Malone & Pham-Delègue 2001). PI'er varierer i deres evne til at hæmme specifikke proteaser, idet cysteinproteaser reagerer på en slags PI'er, og serinproteaser på andre (Malone & Pham-Delègue 2001).

Gener, som koder for plante-PI'er, kan bidrage til resistens mod skadedyr i værtsplanten (Ryan, 1990). Skønt den fulde fysiologiske effekt af PI'er på insekter ikke er fuldt belyst (Schuler *et al.*, 1998), er det rapporteret, at PI'er kan hæmme vækst og udvikling samt reducere livslængden hos ynglen af en lang række insekter (Broadway and Duffy, 1986; Orr *et al.*, 1994; Burgess *et al.*, 1996). Akut giftighed ses sjældent over for insekter (Schuler *et al.*, 1998) og er ikke observeret over for honningbier (Belzunces *et al.*, 1994).

Forkortelse af livslængden hos voksne honningbier - bl.a. ved fodring med aprotinin (eller "bovine pancreatic trypsin inhibitor" – BPTI) og potato proteinase inhibitor I og II (POT-1 og POT-2) (Malone *et al.*, 1995, 1998; Girard *et al.*, 1998; Pham-Delègue *et al.*, 2000) samt adfærdsændringer – herunder indlæring - bl.a. ved fodring med "Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor" (BBI) (Girard *et al.*, 1998; Pham-Delègue *et al.*, 2000), er også observeret. I et valg-forsøg med honningbifamilier i flyverum kunne man ikke se forskel på trækbiernes præference, når de blev tilbudt sukkervand med en BBI koncentration tæt på, hvad der kan forventes i planter og kontrollen (Dechaume-Moncharmont *et al.* 2005).

I 1998 var mindst 14 forskellige PI gener inkorporerede i landbrugsafgrøder (Schuler *et al.*, 1998) Det er beskrevet af en af disse "Kunitz Soybean Trypsin Inhibitor" (SBTI), en serin-protease-hæmmer, er inkorporeret i kartofler (Marchetti *et al.*, 1994), tobak og ris (Lee *et al.*, 1999). Honningbier har serin-proteaser som fordøjelsesenzymer (Moritz and Crailsheim 1987), og man kan forvente at SBTI vil have en indflydelse på honningbiers proteinfordøjelse. I in vitro-forsøg er det vist, at SBTI hæmmer honningbilarvers udvikling, øger mortaliteten, og at nyudkrøbne biers vægt er signifikant reduceret (Brødsgaard *et al.* 2003).

Kitinase-gener

Gener, som koder for kitinnedbrydende enzymer, er isoleret fra forskellige kilder, bl.a. fra planter, insekter og insektpatogene mikroorganismer (Malone & Pham-Delègue 2001). Kitin er en vigtig del af insekter og svampe og kitinase-gener er derfor splejset ind i planter for at beskytte dem mod svampe- og insektangreb (Malone & Pham-Delègue 2001). Da kitin jo også er den del af biers kutikula kan man forestille sig, at transgene planter, som udtrykker kitinaser, vil kunne påvirke bier (Malone & Pham-Delègue 2001).

Akut giftighed for honningbier har ikke kunnet vises i et forsøg, hvor unge voksne bier blev fodret med kitinase oprenset fra tomat eller ved direkte injektion med stoffet (Picard-Nizou *et al.* 1997). I standardiserede tunge-udstræknings-forsøg med enkelt bier, hvor sukkerfoderet var tilsat kitinase, har man ikke kunnet vise påvirkning af olfaktorisk indlæring (Picard-Nizou *et al.* 1997). Heller ikke på bifamilie-niveau i flyverum var der forskel i vægten af indsamlet opløsning (opløsningen tilsat protein og kontrollen), dog var der færre besøg ved forsøgsopløsningen (Picard *et al.* 1991).

Fødeindsamlingsadfærden hos honningbier blev studeret under indendørs og udendørs forhold på rapsplanter med indspilede bønne-kitinase-gener. Der kunne ikke påvises forskelle i antal blomsterbesøg pr. bi, tidsforbrug på planten eller antallet af nektar indsamlingsture pr. bi mellem forsøg- og kontrolplanter (Picard-Nizou *et al.* 1995).

β -1,3 glucanase-gener

Glucanase-gener udgør en vigtig del af planters forsvar mod svampeangreb. Disse gener er isoleret fra forskellige planter og mikroorganismer og splejset ind i tomat. Disse transgene planter har vist øget modstandsdygtighed mod svampe, men det vil være højst usandsynligt, hvis enzymerne har effekt på bier, da insekter ikke indeholder substratet β -1,3 glucan (Malone & Pham-Delègue 2001).

Forsøg med fodring og injektion af oprenset β -1,3 glucanase i honningbier har da heller ikke vist øget dødelighed inden for en 48-timers periode (Picard-Nizou *et al.* 1997). Dog blev det vist at biernes respons i standardiserede tunge-udstræknings-forsøg blev ændret i forhold til kontrollen (Picard-Nizou *et al.* 1997) samt at frekvensen (på bifamilie-niveau) af besøg til forsøgsopløsningen var mindre end til kontrollen. Der kunne dog ikke findes forskelle i den indsamlede mængde opløsning (Picard *et al.* 1991).

Biotin-bindende gener

Proteiner, som bindes til vitaminer (f.eks. biotin), repræsenterer en anden gruppe med potentiel mulighed for anvendelse i transgene planter med henblik på skadedyrsbekæmpelse. To gener, som koder for sådanne proteiner er blevet isoleret fra hhv. kylling (avidin) og bakterie (streptavidin) (Malone & Pham-Delègue 2001).

Pollen har et naturligt indhold af biotin (Schmidt & Buchmann 1992), men man kender ikke dets rolle for biernes ernæring (Malone & Pham-Delègue 2001). Foreløbige forsøg, med nyudkrøbne bier fodret med pollenbaseret foder indeholdende avidin, viste, at dette protein ikke havde nogen indflydelse på biernes fødeindtagelsesrate eller deres livslængde (Malone & Pham-Delègue 2001).

Glufosinatresistens-gener

Herbicid-resistens (glyphosateresistens-gen) er et af de gener, som mest hyppigt anvendes i transgene afgrøder (GMO-Compass 2006 e), Roundup Ready-genet fandtes i 2004 i transgen majs, bomuld, sojabønne, raps og lucerne (Kniss *et al.* 2004), og findes nu desuden i sukkerroe og ris (GMO-Compass 2006 e).

Huang *et al.* (2004) har i flerårige semifield og feltforsøg undersøgt indflydelse på honningbilarver og voksne bier af pollen fra GM raps, som udtrykte glyphosateresistens. De fandt ingen effekt på larver, pupper eller nyudkrøbne bier.

Andre gener

Der er ikke yderligere rapporter, om transgene planter og deres protein-produkters mulige effekter på honningbier. Men interessen samler sig bl.a. om transgene planter med gener, som koder for lektiner (Malone & Pham-Delègue 2001), som f.eks. vintergækgener i ris (Rao *et al.* 1998) og kartofler (Puzstai 1998). Lektiner er glykoproteiner, der er giftige for bl.a. insekter (Møller 2006).

I 2003 blev et projekt vedr. pollen fra GM-raps indledt som et samarbejde mellem danske og svenske forskere. Rapsen har indsplejset et ærtelektin-gen i et forsøg på at bekæmpe glimmerbøsser (*Meligethes aeneus*). De foreløbige resultater viser, at billelarvernes vægt reduceres med stigende ærtelektin-indhold i støvdragerne (Åhman *et al.* 2003). Effekten af fodring med dette pollen til honningbilarver undersøges også, men der er endnu ikke tilstrækkelig data til publikation.

Desuden er GM planter med gener, som koder for neurotoksiner fra edderkoppegift i søgelyset med henblik på effekt på bier (Malone & Pham-Delègue 2001).

Indirekte effekter

Indirekte effekter af transgene planter på bier kan forekomme, når genetiske ændringer fører til uventede ændringer i plantens fænotype. Ved "insertional mutagenese" fører det indsatte gens tilfældige position til interferens med gener eller genkomplekser, som styrer den normale fænotype. Hvis ændringen f.eks. fører til, at planten ikke længere har blomster, er den negative effekt for bier indlysende. Effekter, som ikke umiddelbart er så synlige som f.eks. nedsat nektarproduktion, kan have negativ indflydelse på bier. Disse effekter kan dog let fjernes ved efterfølgende selektion af plantelinier (Malone & Pham-Delègue 2001).

"Pleiotrofisk mutagenese" udgør en anden type uventet ændring i planten. Her er det ikke det indsplejsede gens position, men derimod dets produkt, som interfererer med en biokemisk proces i planten og dermed fører til en ændring i fænotypen. Disse ændringer kan derimod ikke fjernes ved linjeselektion (Malone & Pham-Delègue 2001).

Nektaranalyser af GM rapsplanter tyder på, at nogle modifikationer i forbindelse med transformationen har ført til fænotypiske ændringer, som kan have indflydelse på biers adfærd (Pham-Delègue *et al.* 2002), idet én linje, som udtrykte kitinase og én linje, som udtrykte herbicidresistens, begge producerede mere nektar med større sukkerkoncentration end deres kontroller.

Risikovurdering vedr. direkte effekter på honningbier

Før genmodificerede planter frigives er en grundig miljømæssig risikovurdering nødvendig (Wolfenbarger and Phifer, 2000). Generelt accepterede foreskrifter eksisterer ikke endnu, men det er et generelt krav, at GM planter, som skal udsås ikke har negativ indvirkning på det omgivende miljø. Organismer, som i den forbindelse skal tages i betragtning er såkaldte non-target-hvirvelløsedyr (EU, 1990; USDA/APHIS, 1991). Honningbier er i den forbindelse oplagte at inkludere i en sådan risikovurdering, da de har meget stor økonomisk betydning, som de væsentligste bestøvere af vilde og dyrkede planter (Free 1993). Honningbier er også vigtige i den offentlige opfattelse af biodiversitet og sundt miljø samtidig med, at de opfattes som truede af menneskelige miljøpåvirkninger (Buchmann & Nabham 1996).

Voksne bier, som lever af nektar og pollen - også vindbåren pollen (McGregor 1976, Free 1993) – og som samler harpiks, er i potentielt udsat for stoffer, som udtrykkes i GM planter. Bilarver bliver fodret af ammebier med deres sekret og med pollen samlet af trækbier, og larverne kan derfor også risikere at blive påvirket sådanne stoffer.

Metoder

Det foreslås af Malone og Pham-Delègue (2001), at en risikovurdering af den direkte effekt af transgene planter på bier indeholder:

1. Bestemmelse af niveauet for genets udtryk i pollen, nektar og harpiks.
2. Vurdering af den højest mulige værdi, som voksne bier kan blive udsat for.
3. Toksicitets- og subletal-tests med oprenset protein på bier (larver, arbejdere, droner og dronninger) i bure i laboratoriet.
4. Bestemmelse af hvor attraktive blomsterne er for bierne.
5. Afprøvning af resultater fra laboratorieforsøg i feltforsøg.

De metoder, som hidtil har været publiceret vedr. GM planters effekter (Jepson *et al.* 1994) eller pesticiders effekter (EPPO 1999), har drejet sig om voksne bier. Men disse metoder kan ikke anvendes til at vurdere effekten på larver. Larver kan være mere følsomme end voksne, da de kræver en mere sammensat føde for at kunne færdigudvikles, og fordi de ikke kan vælge føde fra, når de ligger i yngelcellerne. Undersøgelse af påvirkningen af larvefoderet på den enkelte larves udvikling er ikke mulig i bifamilien, fordi larverne passes af ammebier.

Ammebierne kan nemlig opdage og fjerne syge larver adskillige dage før symptomerne er synlige for det menneskelige øje (Brødsgaard *et al.* 2000). For at kunne følge den mulige påvirkning af indtaget føde på individ-niveau, er det derfor nødvendigt at opdrætte larverne i laboratoriet uden ammebiers indflydelse (Brødsgaard *et al.* 1998). Denne teknik er med succes afprøvet for honningbilarver med henblik på at fastlægge transgene produkters indflydelse på larveudviklingen (Brødsgaard *et al.* 2003).

Desuden er teknikker til undersøgelse af ammebiers indflydelse på larveudviklingen i småbure i laboratoriet samt i feltforsøg indarbejdet (Brødsgaard *et al.* 2000). Dechaume-Moncharmont *et al.* (2005) beskriver forsøg med honningbifamilier i flyverum og anbefaler, at deres metode anvendes i forbindelse med risikovurderinger af GM planter.

Babendreier *et al.* (2004) påpeger, at det er vigtigt i forbindelse med vurderingen af en eventuel risiko, som GM planter kan udgøre for bier, at biernes pollenindtag kvantificeres. De foreslår, at deres metodik og resultater fra semifield-forsøg med blomstrende majs og biernes pollenkonsumtion indarbejdes i en samlet vurdering.

Diskussion og konklusion

Honningbiernes store pollenforbrug, at de er blomsterfaste, og at bifamilierne kan have et meget stort fourageringsområde er årsager til, at de er de mest effektive bestøvere af planter, som kræver insektbestøvning. For at minimere spredning af pollen med honningbier fra genmodificerede planter til konventionelt forædlede sorter, bør der for insektbestøvede GM planter være et afstandskrav og værnebælter.

Danske frilandsforsøg har vist, at et herbicidresistent gen fra en genmodificeret rapsplante kan overføres til agerkål (*Brassica campestris*) (Jørgensen & Andersen 1994). Det konkluderes, at agerkål med gener overført fra genmodificeret raps generelt vil kunne påvirke naturlige øko- og agrosystemer. Hvis en spredningstærskel på 0,3% er acceptabel, er det selv for mindre marker tilstrækkeligt med en isolationsafstand på 50 m. Hvis der etableres et værnebælte på 5 m rundt om marken med ikke genmodificeret raps, kan spredningen til marken reduceres med en tredjedel (Damgaard & Kjellson 2005).

Genoverførsel fra GM planter til andre organismer (horisontal genoverførsel) er kilde til megen debat. Observationer i GM raps underbygger, at en horisontal genoverførsel har fundet sted (Kaatz *et al.* 2003).

De test, som indtil videre er udført med honningbier og transgene produkter tyder på, at de direkte effekter hovedsageligt vil afhænge af transgenets type og den biologiske aktivitet af det protein, det koder for. Det vil således være usandsynligt, at sommerfugle-specifikke Bt toksiner eller glucan-nedbrydende enzymer vil påvirke bier (Malone & Pham-Delègue 2001).

Da virkningen af glufosinatresistens handler om produktion af enzymer, som kan nedbryde et herbicid, og bier mangler et sådant substrat, er det usandsynligt, at de vil blive skadet af disse transgene planter (Malone & Pham-Delègue 2001).

Derimod er det mere sandsynligt, at proteiner, som virker mere generelt på insekter, som f.eks. kitinase eller proteasehæmmere, vil kunne have en effekt på bier (Malone & Pham-Delègue 2001). I disse tilfælde er effekten på bier højst sandsynligt afhængig af hvor meget af det transgene produkt, bierne indtager, og det er klart, at koncentrationen udtryk i pollen, nektar og harpiks er af afgørende betydning for en mulig effekt på bier (Malone & Pham-Delègue 2001). Malone og Pham-Delègue (2001) foreslår, at standardiserede test, som fastlægger de transgene produkters indflydelse på bier, udarbejdes (se afsnittet om risikovurdering).

Indirekte effekter af transgene planter på bier er forekommet. Genetiske ændringer har således ført til uventede ændringer i plantens fænotype, som kan have indflydelse på biers adfærd (Pham-Delègue *et al.* 2002).

Litteratur

- Arpaia S. (1996) Ecological impact of Bt-transgenic plants: I. Assessing possible effects of CryIIIb toxin on honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies, *J. Genet. Breed.* 50, 315-319.
- Bateman, C. J. (1947) Contamination of seed crops – II. Wind pollination. *Heredity* 1: 235-246.
- Belzunces, L.P., Lenfant, C., Pasquale, S.D. & Colin, M.-E. (1994) In vivo and in vitro effects of wheat germ agglutinin and Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor, two potential transgene products, on midgut esterase and protease activities from *Apis mellifera*. *Comp. Biochem. Physiol.* 109B, 63-69.
- Broadway, R.M, Duffy, S.S. (1986) Plant proteinase inhibitors: mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. *J. Insect Physiol.* 32, 827-833.
- Brødsgaard, H. F., Brødsgaard, C. J., Hansen, H. & Lövei, G. L. (2003) Environmental risk assessment of transgene products using honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Apidologie* 34, 139-145.
- Brødsgaard, C. J., Hansen, H., Brødsgaard H. F. & Jakobsen, J. (2001) Biavlens i Danmark 2000 - Spørgeskemaundersøgelse til kyndige biavlere og bisygdomsinspektører. DJF rapport nr. 45, Markbrug, 94pp.
- Brødsgaard, C. J. & Hansen, H. (2000) Undgå biforgiftninger - Plantebeskyttelse uden bivirkninger. Proceedings fra 17. Danske Planteværnskonference 2000. DJF-rapport nr. 25: 63-65.
- Brødsgaard, C. J., Hansen, H. & Ritter, W. (2000) Progress of *Paenibacillus larvae larvae* infection in individually inoculated honeybee larvae reared singly in vitro, in micro colonies, or in full-size colonies. *Journal of Apicultural Research* 39, 19-27.
- Brødsgaard, C.J., Ritter, W., Hansen, H. (1998) Response of *in vitro* reared honey bee larvae to various doses of *Paenibacillus larvae larvae* spores. *Apidologie* 29, 569-578.
- Buchmann, L. S., Nabham, G. P. (1996) *The forgotten pollinators*, Island Press, Washington, USA.
- Burgess, E.P.J., Malone, L.A., Christeller, J.T. (1996) Effects of two proteinase inhibitors on the digestive enzymes and survival of honey bees (*Apis mellifera*). *J. Insect Physiol.* 42, 823-828.
- Crailsheim K., Stolberg E. (1989) Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.), *J. Insect Physiol* 35, 595-602.
- Damgaard, C. & Kjellson, G. (2005) Gene flow of oilseed rape (*Brassica napus*) according to isolation distance and buffer zone. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 108: 291-301.
- Dechaume-Moncharmont, F. -X., Azzouz, H., Pons, O. & Pham-Delègue, M.-H. (2005) Soybean proteinase inhibitor and foraging strategy of free flying honeybees. *Apidologie* 36, 421-430.

EPA (2000) United States' Environmental Protection Agency. Scientific Advisory Panel. Bt Plant Pesticides Biopesticides Registration Action Document.

http://www.epa.gov/scipoly/sap/2000/october/brad2_scienceassessment.pdf

EPPO (1999) Side effects on honeybees. EPPO Standards. Guideline for the efficacy evaluation of plant products. 1, 161-164.

EU (1990) Council Directive 90/220/EEC of 23 April 1990 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms. Official Journal L 117, 08/05/1990, 15-27.

Free, J. B. (1993) Insect pollination of Crops. Academic Press Limited, London, Great Britain. 684 pp.

Free, J. B. & Butler, C. G. (1959) Bumblebees, Collins.

Girard, C., Picard-Nizou, A.L., Grallien, E., Zacommer, B., Jouanin, L., Pham-Delègue, M.H. (1998) Effects of proteinase inhibitor ingestion on survival, learning abilities and digestive proteinase of the honeybee. Transgenic Research 7, 239-246.

Glare, T.R. & O'Callaghan, M. (2000) *Bacillus thuringiensis*: Biology, Ecology and Safety (John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK).

GMO-Compass (2006 a) GMOs Gain Ground for the Tenth Consecutive Year.

http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/194.global_growing_area_gm_crops.html

GMO-Compass (2006 b) GMO Cultivation Area by Crop.

http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/144.gmo_cultivation_area_crop.html

GMO-Compass (2006 c) GM Crops: Growing around the world.

http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/

GMO-Compass (2006 d) H7-1.Sugar Beet.

<http://www.gmo-compass.org/eng/gmo/db/18.docu.html>

GMO-Compass (2006 e) Transgenic Crops by Trait.

http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/gmo_planting/145.gmo_cultivation_trait_statistics.html

GMO-Compass (2005) Potatoes.

http://www.gmo-compass.org/eng/grocery_shopping/crops/23.genetically_modified_potato.html

Hagedorn, C. (1997) Commercial Status of Transgenic Crops and Microorganisms - 1997 Update. Crop and Soil Environmental News, December 1997. Virginia Cooperative Extension. Virginia State University. <http://www.ext.vt.edu/news/periodicals/cses/1997-12/1997-12-02.html>

Hanley, A. V., Huang, Z. Y. & Pett, W. (2003) Effects of dietary transgenic Bt corn pollen on larvae of *Apis mellifera* and *Galleria mellonella*. Journal of Apicultural Research 42, 77-81.

Hansen, H. & Brødsgaard, C. J. (2001) Bisygdomme i Danmark i 2001. Tidsskrift for Biavl 12, 364-365.

Health Canada (1997) Novel Hybridization System For Canola (MS8/Rf3). FD/OFB-97-09. Office of Food Biotechnology, Food Directorate, Health Protection Branch, Health Canada. http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/gmf-agm/appro/28bg_pgs_e.html

Jepson, P.C., Croft, B.C., Pratt, G.E. (1994) Test systems to determine the ecological risks posed by toxin release from *Bacillus thuringiensis* genes in crop plants. Mol. Ecol. 3, 81-89

Jørgensen, R. B. & Andersen, B. (1994) Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* Brassicaceae: A risk of growing genetically modified oilseed rape. American Journal of Botany 81:1620-1626.

Kaatz, H.-H., Reiche R, Horn, U., Teubert, S., Mrotzek, G & Wölfi, S (2003) Horizontal gene transfer in the intestinal microflora of honey bees and its ecological consequences. Ecological Impact of Genetically Modified Organisms. Abstracts from IOBC/wprs working group meeting, Praha, November 26-29, p 14.

Kjellson, G. & Damgaard, C. (2003) Pollenspredning af genmodificeret raps til økologiske marker: Meta-analyse af eksisterende viden og mulighederne for sameksistens. Føjo-nyt 2.

Kniss, A. R., Miller, S. D., Wilson, R. G. & Westra, P. H. (2004) Roundup Ready® Crop Use Recommendation for the High Plains. B-1057, July 2004. Cooperative Extension Service, University of Wyoming, 4 pp. <http://www.uwyo.edu/CES/PUBS/b1057.pdf>

Lawson, H. M. (1983) True potato seeds as arable weeds. Potato Research 26: 237-246.

Lee, S.I., Lee, S.H., Koo, J.C., Chun, H.J., Lim, C.O., Mun, J.H., Song, Y.H., Cho, M.J. (1999) Soybean Kunitz trypsin inhibitor (SKTI) confers resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) in transgene rice. Mol. Breed. 5, 1-9.

Malone, L. A. (2002) Literature Review on Genetically Modified Plants and Bee Products. MAF Technical Paper No: 2002/05. HortResearch Client report No. 2002/440 Contract No. 17486. ISBN no: 1171-4662. ISBN no: 0-478-07679-7. 47 pp.

Malone, L.A. & Pham-Delègue, M.-H. (2001) Effects of transgene products on honey bee (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp.). Apidologie 32, 287-304.

Malone L.A., Burgess E.P.J., Stefanovic D. (1999) Effects of a *Bacillus thuringiensis* toxin, two *Bacillus thuringiensis* biopesticide formulations, and a soybean trypsin inhibitor on honey bee (*Apis mellifera* L.) survival and food consumption, Apidologie 30, 465-473.

Malone, L.A., Burgess, E.P.J., Christeller, J.T., Gatehouse, H.S. (1998) In vivo responses of honey bee midgut proteinases to two proteinase inhibitors from potato. J. Insect Physiol. 44, 141-147.

Malone, L.A., Giacon, H.A., Burgess, E.P.J., Maxwell, J.Z., Christeller, J.T., Laing, W.A. (1995) Toxicity of trypsin endopeptidase inhibitors to honey bees (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol. 88, 46-50.

Moritz, B., Crailsheim, K. (1987) Physiology of protein digestion in the mid gut of the honey bee. *J. Insect Physiol.* 33, 923-931.

Marchetti, S., Giordana, A., Oliviere, A.M., Fogher, C., Delledonne, M. (1994) Genetic engineering for insect resistance in potato: introduction of foreign proteinase-inhibitor genes. *Potato Res.* 37, 450-451.

Maurizio, A. (1953) Wertere Untersuchungen an Pollenhöschchen. *Beih. Schweiz. Bienenztg.* 2: 486-556.

McGregor, S. E. (1976) Insect Pollination of cultivated crop plants. *Agriculture Handbook No.* 496, 411 pp.

Mikkelsen, T. R., Andersen, B. & Jørgensen, R. B. (1996) The risk of crop transgene spread. *Nature* 380:31.

Møller, B. L. (2006) Genteknologiens betydning for fremtidens fødevareproduktion. *Plantebiokemisk Laboratorium, Institut for Plantebiologi, Landbohøjskolen.*
<http://www.uk.plbio.kvl.dk/outreach/plbio.htm>

No Spray Zone (2006) <http://www.nosprayzone.org/pesticides/#Foray>

Orr, G.L., Strickland, J.A., Walsh, T.A. (1994) Inhibition of *Diabrotica* larval growth by a multicystatin from potato tubers. *J. Insect Physiol.* 40, 893-900.

Pham-Delègue, M. H., Jouanin, L. & Sandoz, J. C. (2002) Direct and indirect effects of genetically modified plants on honey bee. Ed. By Devillers, J & Pham-Delègue M. H. *in: Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals.* Published by Taylor & Francis. 15, 312-326.

Pham-Delègue, M.H., Girard, C., Le Métayer, M., Picard-Nizou, A.L., Hennequet, C., Pons, O., Jouanin, L. (2000) Long-term effects of soybean proteinase inhibitors on digestive enzymes, survival and learning abilities of honeybees. *Entomol. Exp. Appl.* 95, 21-29.

Picard A.L., Pham-Delegue M.H., Douault P., Masson C. (1991) Transgenic rapeseed (*Brassica napus* L. var. *Oleifera metzger*): Effect on the foraging behaviour of honeybees, *Proc. Symp. on Pollination, Acta Hort.* 288,435-439.

Picard-Nizou A.L., Pham-Delegue H.M., Kerguelen V, Douault P., Marilleau R., Olsen L., Grison R., Toppan A., Masson C. (1995) Foraging behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.) on transgenic oilseed rape (*Brassica* I111PUS L. var. *oleifera*), *Transgenic Res.* 4, 270-276.

Picard-Nizou A.L., Grison R., Olsen L., Pioche C., Arnold G., Pham-Delegue M.H. (1997) Impact of proteins used in plant genetic engineering: Toxicity and behavioural study in the honeybee, *J. Econ. Entomol.* 90,1710-1716.

Pimentel, D., Wilson, C., McCullum, C., Huang, R., Dwen, P., Flack, J., Tran, Q., Saltman, T. & Cliff, B. (1997) Economic and environmental benefits of biodiversity. *BioScience* 47:747-757.

Pusztai, A (1998) SOAEFD flexible Fund Project RO 818. Report of Project Coordinator on data produced at the Rowett Research Institute (RRI), 22nd October, 1998.

<http://www.rowett.ac.uk/gmo/>

Rao KV, Rathore KS., Hodges T.K, Fu X., Stoger E., Sudhakar D., Williams S., Christou P., Bharathi M., Bown D.P., Powell K.S., Spence J., Gatehouse A.M.R. & Gatehouse J.A. (1998) Expression of snowdrop lectin (GNA) in transgenic rice plants confers resistance to rice brown planthopper, *Plant J.* 15,469-477.

Romeis, J., Meissle, M & Bigler, F. (2006) Transgenic crop expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology*, 24, 63-71.

Ryan, C.A. (1990) Proteinase inhibitors in plants: genes for improving defences against insect and pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28, 939-943.

Schmidt J.O., Buchmann SL (1992) Other products of the hive, in: Graham J.M. (Ed.), *The Hive and the Honey Bee*, Hamilton, Illinois, pp. 928-977.

Schuler, T.H., Poppy, G.M., Kerry, B.R., Denholm, I. (1998) Insect-resistant transgenic plants. *Trends Biotechnol.* 16, 168-175.

Simpson R. M., Burgess E. P. J., Markwick N. P. (1997) *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin binding sites in two Lepidoptera, *Wiseana* spp. and *Epiphyas postvittana*, *J. Invertebr. Pathol.* 70,136-142.

Sims S.R. (1995) *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (CryIA(c)) protein expressed in transgenic cotton: Effects on beneficial and other non-target insects, *Southwest. Entomol.* 20, 493-500.

Svendsen, O. (1991) Protein – pollen. *Tidsskrift for Biavl* 11:11-13.

Svendsen, O. (1990) Undersøgelser over honningbiernes betydning for bestøvning i vårraps (*Brassica napus*). *Tidsskr. f. Planteavl* 94, 141-148.

Tolstrup, K., Andersen, S. B., Boelt, B., Buus, M., Gylling, M., Holm, P. B., Kjellson, G., Pedersen, S., Østergård, H. & Mikkelsen, S. (2003) Reprint from the Danish Working Group on the Co-existence of Genetically Modified Crops with Conventional and Organic Crops. *Dias Report no. 94*, 275 pp.

Treu, R. & Emberlin, J. (2000) Pollen dispersal in the crops maize (*Zea mays*), oil seed rape (*Brassica napus ssp oleifera*), potatoes (*Solanum tuberosum*), sugar beet (*Beta vulgaris ssp vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Soil Association*.

Udvalget om Landbrug og Udvikling af Landdistrikter (1994) KOM(94)0256-C4-0108/94:13pp

University of Florida (2006) <http://strawberry.ifas.ufl.edu/chemicalinfo/dipel2x.pdf>

Wolfenbarger, L.L., Phifer, P.R. (2000) The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* 290, 2088-2093.

Åhman, I., Hertefeldt, T. D., Ågren, J., Meijer, J., Lehrman, Brødsgaard, H. F. & Ekbom, B. (2003) Risk assessment of transgenic insect resistant Brassicas: Benefits, gene escape, and effects on non-target organisms. Ecological Impact of Genetically Modified Organisms. Abstracts from IOBC/wprs working group meeting, Praha, November 26-29, poster 41.
[http://www.entom.slu.se/attachments/poster%20450x600\).pdf](http://www.entom.slu.se/attachments/poster%20450x600).pdf)