



Vitenskapskomiteen for mattrygghet
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais MON 863 til import, prosessering og fôr under EU-direktiv 2001/18 (Notifikasjon C/DE/02/9)

Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i
Vitenskapskomiteen for mattrygghet

Dato: 8. november 2013

Dok. nr.: 13/317- endelig

ISBN: 978-82-8259-111-9

VKM Report 2013: 41



Bidragsytere

Den som utfører arbeid for VKM, enten som oppnevnte medlemmer eller på *ad hoc*-basis, gjør dette i kraft av sin egen vitenskapelige kompetanse og ikke som representanter for den institusjon han/hun arbeider ved. Forvaltningslovens habilitetsregler gjelder for alt arbeid i VKM-regi.

Takk til

Monica Sanden, Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning, takkes for verdifulle bidrag til denne risikovurderingen.

Vurdert av

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Åshild Andreassen (leder), Per Brandtzæg, Askild Holck, Olavi Junttila, Heidi Sjursen Konestabo, Richard Meadow, Kåre M. Nielsen, Hilde-Gunn Hoen-Sorteberg, Rose Vikse

Koordinatorer fra sekretariatet:

Merethe Aasmo Finne, Ville Erling Sipinen, Arne Mikalsen

Sammendrag

I forbindelse med forberedelse til implementering av EU-forordning 1829/2003 i norsk rett har Miljødirektoratet (tidligere Direktoratet for Naturforvaltning) bedt Mattilsynet om vurderinger av alle genmodifiserte organismer (GMOer) og avledete produkter som inneholder eller består av GMOer som er godkjent under forordning 1829/2003 eller direktiv 2001/18, og som er godkjent for ett eller flere bruksområder som omfattes av genteknologiloven. På den bakgrunnen har Mattilsynet, i brev av 13. februar 2013 (ref. 2012/150202), bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) om å utarbeide endelige vitenskapelige risikovurderinger av 39 GMOer og avledete produkter som inneholder eller består av genmodifiserte organismer, innen Mattilsynets sektoransvar. VKM er bedt om endelige risikovurderinger for de EU-godkjente søknader hvor VKM ikke har avgitt endelig risikovurdering. I tillegg er VKM bedt om å vurdere hvorvidt det er nødvendig med oppdatering eller annen endring av de endelige risikovurderingene som VKM tidligere har levert.

Den genmodifiserte og insektsresistente maislinjen MON863 fra Monsanto Company (Notifisering C/DE/02/9) ble godkjent til import, videreføring og fôr under EU-direktiv 2001/18/EF i 2005, og til bruk som næringsmiddel og næringsmiddelingsredienser under forordning 258/97/EF i 2006. Maislinje MON863 ble første gang vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer med hensyn på mulig miljørisiko i 2008 (VKM 2008). Risikovurderingene ble utført på oppdrag fra Miljødirektoratet i forbindelse med vurdering av markedsadgang av maislinjen i Norge. Publisering av ny litteratur har medført at VKM har valgt å utarbeide en revidert helse- og miljørisikovurdering av MON863.

Risikovurderingen av MON863 er basert på uavhengige vitenskapelige publikasjoner og dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside EFSA GMO Extranet. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse kravene genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EU-forordning 1829/2003/EF, utsetningsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2,3 og 3B) og veiledende notat til Annex II (2002/623/EF), samt prinsippene i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler (EFSA 2006, 2010a, 2011) og organisasjonen for økonomisk samarbeid og utvikling (OECD) konsensusdokumenter for mais (OECD 2002, 2003) lagt til grunn for vurderingen.

Den vitenskapelige vurderingen omfatter benyttet transformeringsprosess, vektorer, transgene konstrukt, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, vitaminer, fettsyresammensetning, antinæringsstoffer, aminosyrer, allergener og nye proteiner. Videre er fenotypiske og agronomiske egenskaper, potensielle for utilsiktede effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

Det presiseres at VKMs mandat ikke omfatter vurderinger av etikk, bærekraft og samfunnsnytte, i henhold til kravene i den norske genteknologiloven og dens konsekvensutredningsforskrift. Disse aspektene blir derfor ikke vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer.

Maislinjen MON863 er produsert ved biolistisk transformasjon av den innavlete maislinjen A634, og inneholder et modifisert *cry3Bb1*-gen fra jordbakterien *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Cry3Bb1-proteinet som uttrykkes gir plantene toleranse mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. Maislinjen inneholder også antibiotikaresistensmarkørgenet *nptII*, som uttrykker resistens mot aminoglykosider som kanamycin og neomycin.

Molekylær karakterisering

Data fra den molekylære karakteriseringen indikerer at det kun er integrert ett eksemplar av det rekombinante DNA-innskuddet med de to genene i genomet til mais MON863, og at genene og egenskapene er stabilt nedarvet over generasjoner. Adekvate bioinformatikk- og sekvensanalyser er utført av integreringssetet i plantens genom, og innsatt og flankerende DNA. Bioinformatikk-

analysene har ikke avdekket potensielle nye åpne leserammer med sekvenslikhet til kjente toksiner eller allergener. Segregeringsanalyser for insektsresistens, er i overenstemmelse med at det kun er integrert ett eksemplar av ekspresjonskassetten med *cryBb1*-genet i mais MON863. VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer den molekylære karakteriseringen av mais MON863 som tilfredsstillende.

Komparative analyser

Faggruppe for genmodifiserte organismer har i tidligere vurderinger av mais MON863 (VKM 2008) påpekt at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler utført for mais. Det er funnet statistisk signifikante forskjeller i enkeltparametere blant de ernæringsmessige komponentene i mais MON863 i forhold til kontrollen, men avvikene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at forskjellene som er påvist ikke har noen ernæringsmessige betydning.

Feltforsøk med MON863 indikerer agronomisk og fenotypisk ekvivalens mellom mais MON863 og umodifisert nær-isogen kontroll. Det konkluderes med at det innsatte genet i MON863 ikke har medført endringer i egenskaper knyttet til vekst og utvikling hos maisplantene.

Helserisikovurdering

En 90 dagers subkronisk fôringsstudie utført på rotter har ikke indikert helseskadelige effekter av mais MON863, og en fôringsstudie utført på broilere indikerer at maisen er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais. Det er ikke funnet likhetstrekk mellom Cry3Bb1- eller NPTII- proteinet og kjente toksiner eller IgE-allergener. Proteinene er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at noen typer Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Akutte toksisitetstudier utført på mus har ikke påvist toksiske effekter av rensset bakterieprodusert NPTII- eller Cry3Bb1- protein. Denne typen studier anses derimot ikke av VKMs faggruppe for GMO å gi ytterligere informasjon om mulige helseskadelige egenskaper ved mais MON863.

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON863 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at de nye proteinene vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat og fôr basert på mais MON863 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Antibiotikaresistens

Maislinjen MON863 inneholder antibiotikas resistensmarkørgenet *nptII*. Faggruppen konkluderer med at risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra maishybriden antas å være lav grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av sjeldne HGT-begivenheter, samt at andre aminoglykosid-resistens determinanter finnes ved variabel prevalens i relevante bakteriepopulasjoner.

Det påpekes videre store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt. Det påpekes også at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes.

Øvrig miljørisiko

Notifisering C/DE/02/9 gjelder godkjenning av mais MON863 til import, prosessering og til bruk som fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maisen.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være

ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinjen MON863 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer har ikke identifisert toksiske eller endrede ernæringsmessige egenskaper ved mais MON863 eller dens prosesserte produkter sammenlignet med konvensjonell mais. Ut fra dagens kunnskap er det også lite trolig at Cry3Bb1-proteinet vil øke det allergene potensialet til mat/fôr basert på mais MON863 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra MON863 antas å være lav grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av sjeldne HGT begivenheter, samt at andre aminoglykosidresistens determinanter finnes ved variabel prevalens i relevante bakteriepopulasjoner.

Det påpekes store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt. Det påpekes også at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes.

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer finner det lite trolig at den omsøkte bruken av maislinje MON863 vil medføre endret risiko når det gjelder miljø sammenlignet med annen mais.

Nøkkelord

Mais, *Zea mays* L., genmodifiserte maislinje MON 863, C/DE/02/9, insektsresistens, Cry3Bb1, NPTII, helse og miljørisiko, forordning 1829/2003/EF, direktiv 2001/18/EF

Forkortelser og ordforklaringer

ADF	Acid detergent fiber, fiberfraksjon av ufordøyelig plantemateriale i fôr, vanligvis cellulosefiber dekket med lignin og silikat. Plantematerialet fordøyes med en syre-detergentløsning (ADF). Ufordøyd masse betegnes som ADF. Fôr med lavt ADF-innhold er mer fordøyelig og har større energiinnhold.
Allel	Et bestemt gen kan foreligge i ulike varianter (alleler). Allelene kan være dominante (bestemmende for fenotypen) eller recessive (vikende).
ALS	Acetolactatsyntase-enzym
ARMG	Antibiotikaresistensmarkørgen
Backcross (BC)	Tilbakekryssing. Kryssing mellom en hybridlinje (avkom fra to genetisk ulike foreldre) og en av foreldrelinjene, alternativt en genetisk ekvivalent organisme. Strategi i planteforedling for å overføre primært kvalitative karakterer, for eksempel sykdomsresistens, til elitelinjer av både kryssbefruktede og selvpollinerte arter. Gjentatte tilbakekryssinger reduserer det genetiske bidraget, som uønskede alleler fra den andre donorplanten.
	BC ₁ , BC ₂ etc: betegnelse på 1. og 2. tilbakekryssingsgenerasjon, etc.
BLASTn	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av nukleotidsekvenser.
BLASTP	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av aminosyresekvenser i proteiner.
BLASTx	Algoritme som benyttes for oversetting fra kodende nukleotidsekvenser til aminosyresekvenser.
bp	Basepar
<i>B.t.</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Codex	FAO/WHO-organ som etablerer globale handelsstandarder for mat.
Cry	Krystall protein fra <i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>cry3Bb1</i>	Gen fra <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i> .
Cry3Bb1	δ-endotoksin, som gir plantene resistens mot angrep fra arter i billeslekten <i>Diabrotica</i> .
DG JRC-EURL	Directorate-General Joint Research Centre - European Union Reference Laboratory
DN	Direktoratet for naturforvaltning
DNA	Deoxyribonukleinsyre (DNA)
Dominant allel	Et allel som uttrykker samme fenotype, uavhengig av om allelene i genparet er like (homozygot) eller ulike (heterozygote).
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FAO	Food and Agriculture Organization, FNs organisasjon for ernæring og landbruk.
FIFRA	US EPA Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. USAs føderale lov om insektdrepende midler, soppdrepende midler og midler mot skadedyr.
Fitness	Et individs relative evne til å føre sine gener/alleler videre til kommende generasjoner.
GLP	Good Laboratory Practices, retningslinjer for godt laboratoriearbeid.
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
HGT	Horisontal genoverføring
Konstitutiv	Cellulær produksjon av et molekyl med konstant hastighet og som ikke reguleres av indre og ytre stimuli.
Konstitutivt gen	Et gen hvis aktivitet bare avhenger av hvordan promoteren til genet binder RNA polymerase.
Locus	Spesifikk posisjon på kromosomet der et gen er lokalisert.
MALDI-TOF	Massespektrometrimetode for å måle molekylvekt til peptider.
Mannose	Monosakkarid
Mendelsk nedarving	Lovmessig nedarvingsmønster ved ulike typer kryssinger.

MT	Mattilsynet
NOAEL	No observed adverse effect level – dosenivå hvor ingen skadelige effekter observeres.
NOEL	No observed effect level - nulleffektnivå
NDF	Neutral detergent fiber, dvs. fiberfraksjon som inneholder hemicellulose og ADF.
Northern blot	Teknikk for overføring av RNA til en membran for påvisning av uttrykte RNA-sekvenser.
<i>nptII</i>	Antibiotikaresistensmarkørgen fra <i>E. coli</i> som koder for enzymet aminoglykosid 3"-fosfotransferase. Enzymet gir bakteriene resistens mot aminoglykosider som kanamycin og neomycin
NPTII	Enzymet aminoglykosid 3"-fosfotransferase
Nær-isogen linje	Linjer eller sorter som er genetisk identiske, med unntak av ett lokus eller kromosomsegment.
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
ORF	Open Reading Frame (åpen leseramme)
OSWP	Overseason whole plant
PCR	Polymerase chain reaction. Polymerase kjedereaksjon. Metode for å syntetisere et stort antall kopier av en DNA-sekvens vha primere.
RNA	Ribonukleinsyre
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat (SDS)-polyakrylamidelektroforese. Elektroforesemetode for separasjon av proteiner.
Southern blot	Teknikk for overføring av DNA til en membran for videre studier av overførte DNA-sekvenser.
T-DNA	DNA fra Ti-plasmidet som er i jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmidet (Transfer-DNA) overføres fra bakterien, og settes inn i plantecellenes kjernegenom. T-DNAet som overføres avgrenses av V (venstre) og H (høyre) flankesekvenser, og begrenser derfor den delen av Ti-plasmidet som overføres og gjør at resten av vektoren ikke blir satt inn i plantekromosomene.
USDA	United States Department of Agriculture
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USAs miljøvernmyndigheter
Utviklingsstadier hos mais:	
	<u>Vegetative stadier</u>
	VE: oppspiring
	V1: 1. blad
	V2: 2. blad
	V(n): n'te blad
	VT: synlige hannblomsterstand (tassel)
	<u>Reproduktive stadier</u>
	R1: synlige hunnblomster
	R2: 'blister'
	R3: melkmodning
	R4: deigmodning
	R5: dent
	R6: fysiologisk moden
Western-blot	Metode for overføring av proteiner til en membran som binder protein.
WHO	World Health Organisation. Verdens helseorganisasjon, organ under FN

Innholdsfortegnelse

Bidragstere	2
Sammendrag	3
Nøkkelord	5
Forkortelser og ordforklaringer	6
Innholdsfortegnelse	8
Bakgrunn	9
Oppdrag fra Mattilsynet	10
Risikovurdering	11
1 Innledning	11
1.1 Beskrivelse av egenskaper og virkningsmekanismer.....	11
2 Molekylær karakterisering	11
2.1 Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon.....	11
2.2 Karakterisering av geninnsettingen og det rekombinante DNA-fragmentet.....	12
2.3 Informasjon vedrørende uttrykk av introduserte gener.....	12
2.4 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA.....	13
2.5 Delkonklusjon.....	13
3 Komparative analyser	14
3.1 Valg av komparator og forsøksdesign.....	14
3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter.....	14
3.3 Agronomiske karakterer.....	18
3.4 Delkonklusjon.....	18
4 Helserisikovurdering av MON863 til bruk i mat og fôr	19
4.1 Produktbeskrivelse og tiltenkte bruksområder.....	19
4.2 Effekt av prosessering.....	19
4.3 Toksikologi.....	19
4.4 Allergenisitet.....	20
4.5 Ernæringsmessig vurdering.....	21
4.6 Delkonklusjon.....	21
5 Miljørisikovurdering	22
5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen.....	22
5.2 Potensiale for genoverføring.....	22
5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer.....	25
5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer.....	25
5.5 Delkonklusjon.....	25
6 Kunnskapshull	26
7 Konklusjon	27
8 Referanser	29

Bakgrunn

Den genmodifiserte, insektsresistente maislinjen MON863 fra Monsanto Company er godkjent til import, videreforedling og fôr under EU-direktiv 2001/18/EF og til bruk som næringsmiddel og næringsmiddelingsrediens under forordning 258/97/EF.

Søknad om markedsføring av maislinjen under utsetningsdirektiv 2001/18/EF ble fremmet og anbefalt av tyske myndigheter i februar 2003. Etter en 60-dagers høringsperiode til EU/EØS-landene, leverte EUs vitenskapskomité (EFSA) sin uttalelse i april 2004 (EFSA 2004a). Endelig godkjenning av søknaden ble gitt 8. august 2005 (Kommisjonsbeslutning 2005/608/EC). Søknaden om godkjenning av MON863 som næringsmiddel og næringsmiddelingsrediens under forordning 258/97/EF ble vurdert av EFSA i 2003-2004 (EFSA 2004b), og endelig godkjenning av søknaden ble gitt 13. januar 2006 (Kommisjonsbeslutning 2006/68/EC).

Maislinjen er videre notifisert som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF, artikkel 8 og 20. Godkjenningen av MON863 gikk ut i april 2007, og Monsanto søkte om fornyet godkjenning fram til 2017. Dossieret til søknaden (EFSA-GMO-RX-MON863), som omfatter eksisterende fôrmaterialer, fôrtilsetningsstoffer og næringsmiddeltilsetninger, ble publisert på EFSA GMO Extranet 5. juni 2008 i forbindelse med EFSAs offentlige høring av søknaden. EFSAs risikovurdering ble publisert 15. mars 2010 (EFSA 2010b), og søknaden er fortsatt under vurdering av EU-kommisjonen (<http://www.transgen.de/zulassung/gvo/123.doku.html>).

I Norge ble MON863 innmeldt som prosessert fôrvare under den nasjonale overgangsordningen for eksisterende GM-produkter 15. mars 2006 (jfr. fôrvareforskriftens § 4a), og var i utgangspunktet tillatt å omsette på det norske markedet fram til 15. september 2008. På bakgrunn av at implementeringen av EUs GM-regelverk på mat og fôr har tatt lengre tid enn antatt, har Mattilsynet vedtatt å forlenge dispensasjonen om krav til godkjenning fram til 15. september 2014. Notifiseringene omfatter kun prosesserte, ikke spiredyktige fôrvarer til oppdrettsfisk, og dispensasjonen er gitt til fire fiskefôrprodusenter. Overgangsordningen omfatter ikke husdyrfôr. http://www.mattilsynet.no/planter_og_dyrking/genmodifisering/fire_virksomheter_har_faatt_dispensasjon_fra_kravet_om_godkjenning_av_genmodifisert_fiskefor.10951

Maislinje MON863 ble vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer med hensyn på mulig helse- og miljørisiko i 2008 (VKM 2008). Risikovurderingen ble utført på oppdrag fra Miljødirektoratet (tidligere Direktoratet for naturforvaltning) i forbindelse med vurdering av markedsadgang av maislinjen i Norge. Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderte også helseaspekter knyttet til bruk av maislinjen som næringsmiddel og fôrvare i forbindelse med en nasjonal høring av søknaden i 2006 (VKM 2006).

Publisering av ny litteratur har medført at VKM har valgt å utarbeide en revidert helse og miljørisikovurdering av MON863 i forbindelse med oppdrag fra Mattilsynet.

Oppdrag fra Mattilsynet

Miljødirektoratet (tidligere Direktoratet for Naturforvaltning) har det overordnede ansvaret for behandling av søknader om utsetting av genmodifiserte organismer (GMO). Dette innebærer blant annet å koordinere søknadsbehandlingen, samt å foreta helhetlig vurdering og anbefaling til Miljøverndepartementet i forbindelse med norsk sluttbehandling av søknadene. Direktoratet har ansvar for å vurdere miljørisiko ved utsetting av GMO, samt å vurdere produktets innvirkning på bærekraft, samfunnsnytte og etikk i henhold til genteknologiloven.

Mattilsynet er ansvarlig for å vurdere risiko for menneske- og dyrehelse ved utsetting av GMO i henhold til genteknologiloven og matloven. Mattilsynet forvalter i tillegg regelverk for avlede produkter fremstilt på grunnlag av GMO, samt landbruksfaglige vurderinger i henhold til eget sektorlovverk.

I forbindelse med forberedelse til implementering av EU-forordning 1829/2003 i norsk rett har Miljødirektoratet bedt Mattilsynet om vurderinger av alle genmodifiserte organismer (GMOer) og avledete produkter som inneholder eller består av GMOer som er godkjent under forordning 1829/2003 eller direktiv 2001/18, og som er godkjent for ett eller flere bruksområder som omfattes av genteknologiloven. På den bakgrunnen har Mattilsynet, i brev av 13. februar 2013 (ref. 2012/150202), bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) om å utarbeide endelige vitenskapelige risikovurderinger av 39 GMOer og avledete produkter som inneholder eller består av genmodifiserte organismer, innen Mattilsynets sektoransvar. VKM er bedt om endelige risikovurderinger for de EU-godkjente søknader hvor VKM ikke har avgitt endelig risikovurdering. I tillegg er VKM bedt om å vurdere hvorvidt det er nødvendig med oppdatering eller annen endring av de endelige risikovurderingene som VKM tidligere har levert.

Oppdraget fra Mattilsynet inkluderer vitenskapelige vurderinger av helserisiko av genmodifiserte organismer til bruk som mat og fôr, samt avledete, prosesserte ikke-spiredyktige næringsmidler og fôrvarer.

VKM er også bedt om å vurdere den landbruksrelaterte miljørisikoen for genmodifiserte planter i de tilfeller søknaden gjelder en art som er relevant for dyrking i Norge. Avhengig av hvilket bruksområde de genmodifiserte plantene søkes godkjent for, gjelder oppdraget miljørisiko knyttet til import, transport, videreforedling/prosessering og dyrking.

Ved søknader om dyrking skal følgende vurderes: (i) Miljørisiko som følge av andre, nye egenskaper i den genmodifiserte planten enn i dagens sortsmateriale og (ii) Miljørisiko som følge av endret dyrkingspraksis ved dyrking av den genmodifiserte planten (bl.a. plantevernmiddelbruk og jordarbeiding) i forhold til dagens vanlige driftsopplegg. Dette gjelder både direkte og sekundære effekter av endret dyrkingspraksis.

Hvis søknaden omfatter dyrking, er VKM videre bedt om å vurdere risiko knyttet til sameksistens. Dette omfatter potensialet for spredning av transgener til arealer og avlinger fra arealer der det ikke dyrkes genmodifiserte planter, utvikling av ugraspopulasjoner, samt spredning til ville populasjoner av samme art eller nærstående arter utenfor dyrking. Vurderingen skal også inkludere risiko ved bruk av aktuelle virkemidler som har til hensikt å muliggjøre sameksistens. Vurderingen skal omfatte tiltak eller operasjoner som pågår fram til og med høsting. VKM skal bare vurdere sameksistens når søknaden gjelder en art som er relevant for dyrking i Norge.

Vurderinger av søkers overvåkingsplaner er ikke en del av Mattilsynets oppdrag.

Risikovurdering

1 Innledning

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen MON863 er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAAs nettside EFSA GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. MON863 er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven og genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EUs forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser, lagt til grunn for vurderingen.

Faggruppen har vedtatt å benytte EFSAAs retningslinjer som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSAAs veiledningsdokumenter for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler og fôrvarer (EFSA 2006, 2010a, 2011).

1.1 Beskrivelse av egenskaper og virkningsmekanismer

Den genmodifiserte maislinjen MON863 er produsert ved biolistisk transformasjon (partikkelakselerasjon) av kallusvev fra den innavlete maislinjen A634. Linjen har vært mye benyttet i produksjon av konvensjonelle hybridsorter i USA. Den innsatte genkonstruksjonen inneholder *cry3Bb1*-genet fra jordbakterien *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Uttrykket av *cry*-genet kontrolleres av en modifisert utgave av *CaMV 35 S* promotoren (4-AS1) fra blomkålmosaikkvirus. *Cry3Bb1*-genet koder for et δ -endotoksin, som gir plantene toleranse mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. Maislinjen inneholder også antibiotikaresistensmarkørgenet *nptII* fra *E. coli*, under kontroll av promotoren *CaMV 35 S*. *NptII* koder for enzymet neomycin fosfotransferase II, og gir resistens mot aminoglykosidantibiotika som kanamycin og neomycin. Genet er introdusert som seleksjonsmarkør for identifikasjon av transformanter under regenerasjonen.

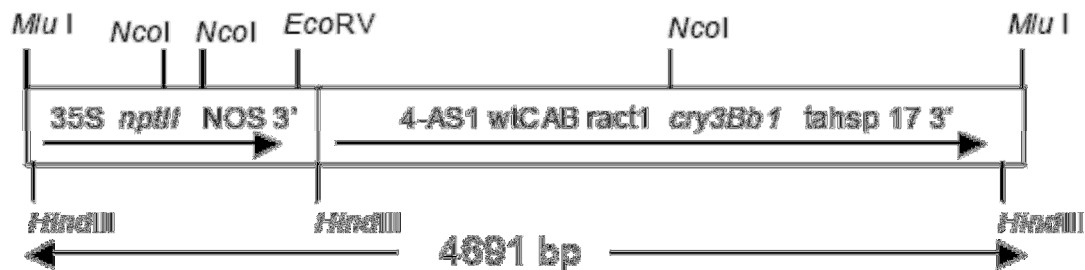
2 Molekylær karakterisering

2.1 Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

MON863 inneholder et rekombinant DNA-fragment på 4691 basepar fra PV-ZMIR13-plasmidet. DNA-fragmentet inkluderer to ekspresjonskassetter. Ekspresjonskassetten inneholder henholdsvis ett *cry3Bb1*-gen med regulatoriske områder og ett *nptII*-gen med regulatoriske områder (figur 1).

DNA-elementer i *Cry3Bb1*- og *nptII*-ekspresjonskassetten:

- *CaMV e35s* promotor,
- *nptII* åpen leseramme som koder for proteinet NPTII,
- trunkert *ble* (150 basepar) og *NOS* 3'-termineringsekvens for transkripsjon,
- 4ASI 4 tandemkopier av ASI (modifisert 35s promotor),
- *wtCAB* 5'-mRNA-ledersekvens fra hvete, klorofyll *a/b* protein,
- *rac1* intron fra ris, aktin 1 gen,
- *cry3Bb1 ORF*, som koder for *Cry3Bb1*-proteinet,
- *tahsp17* 3'-polyadeninsekvens fra hvete *hsp17.3* gen som avslutter ekspresjonen.



Figur 1. Illustrasjon av det rekombinante DNA-fragment i genomet til maislinjen MON 863.

2.2 Karakterisering av geninnsettingen og det rekombinante DNA-fragmentet

Det er foretatt en rekke undersøkelser av antall kopier av ekspresjonskassetene og antall insersjonssteder i genomet. Det foretatt sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettsstedet (5'- og 3'-flankesekvenser). I tillegg er integriteten til ekspresjonskassetene i genomet, nye potensielle åpne leserammer, og mulig tilstedeværelse av annet transformasjonsplasmid-DNA i MON863 vurdert.

Det konkluderes med at det kun er én kopi av ekspresjonskassetene i MON 863. Sammenlignende DNA-analyser mellom MON863 og ikke-transgen hybridlinje MON 864 (A1 x A634) viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt. Det forventes derfor ikke endringer i ekspresjonen fra dette elementet.

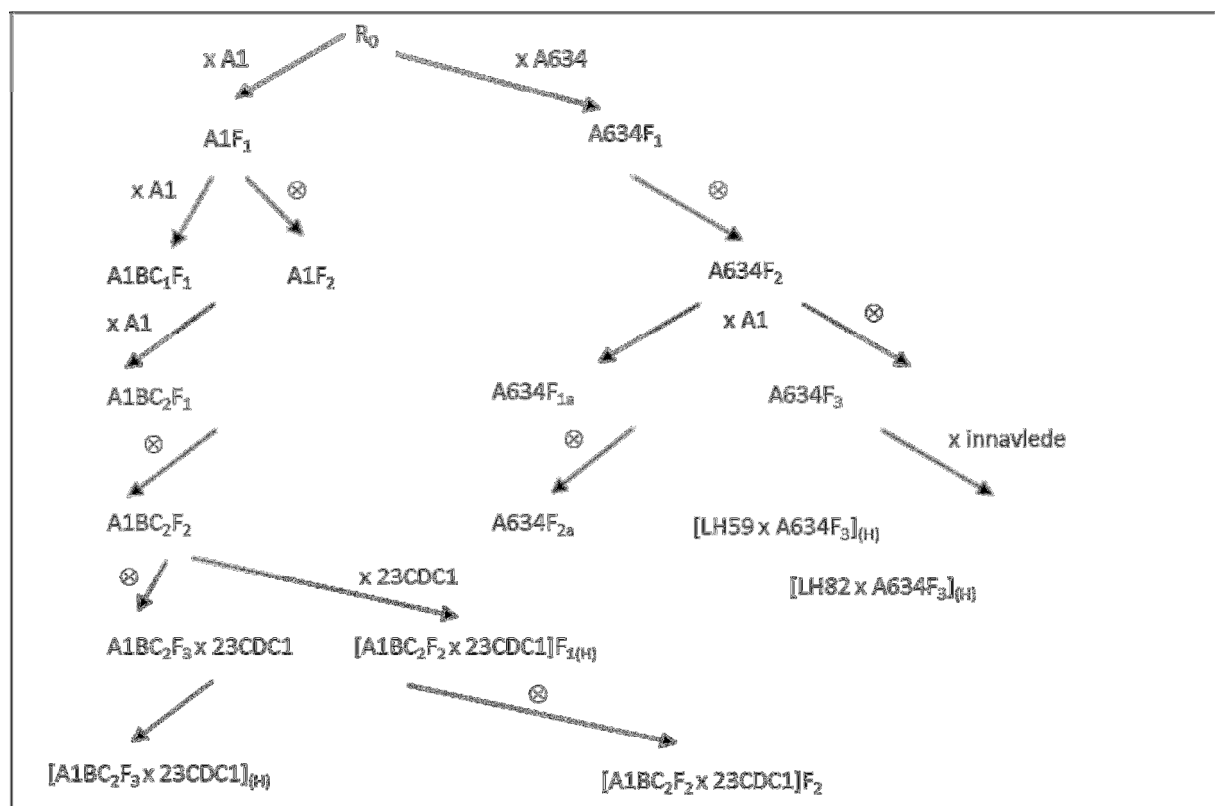
2.3 Informasjon vedrørende uttrykk av introduserte gener

Det er utført analyser av ernæringsmessige komponenter i plantemateriale fra feltforsøk med MON863 utført i USA og Argentina i 1999/2000. I henhold til dokumentasjon fra søker ble nivået av Cry3Bb1-protein målt i prøver av hel plante, blad, røtter, og frø i USA, i hunnblomster (arrene) fra forsøk i USA og Argentina, mens det i pollen ble målt i plantemateriale fra Argentina. Nivået av Cry3Bb1-protein varierte mellom 10 og 81 µg/g råvekt, avhengig av utviklingsstadium og vevstype. Konsentrasjonen av proteinet i blad, hel plante og røtter ble redusert utover i vekstsesongen, og var i gjennomsnitt 81 µg/g i unge blad, 70 µg/g i frø, 41 µg/g i røtter, 39 µg/g i hel plante og 62 µg/g i pollen.

Uttrykk av NPTII ble målt i unge blad, hel plante og frø av MON 863, og varierte fra ikke detekterbar (< 0,076 µg/g) til 1,4 µg/g råvekt.

2.4 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Monsanto viser til en rekke undersøkelser som dokumenterer at det rekombinante DNA-innskuddet er stabilt integrert i genomet, og stabilt nedarvet over generasjoner. Analyser av Southern blot viser stabilitet av det rekombinante innskuddet over 3 selvpollineringsgenerasjoner og 9 generasjoner fra kryssinger av $R_0 \times A1$ and $R_0 \times A634$ (figur 2). Videre er fenotypisk stabilitet demonstrert ved spaltingsdata fra tre kryssingsgenerasjoner og to generasjoner med selvbestøvning etter $R_0 \times A1$. Segregeringsanalysene (Chi-kvadrat-analyser) viser forventet mendelsk nedarving av *cry3Bb1*-genet.



R_0 - Opprinnelig modifisert plante

⊗ - Selvpollinert

H - Hybrid

Figur 2. Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje MON863.

2.5 Delkonklusjon

Data fra den molekylære karakteriseringen indikerer at det kun er integrert ett eksemplar av det rekombinante DNA-innskuddet med de to genene i genomet til mais MON863, og at genene og egenskapene er stabilt nedarvet over generasjoner. Adekvate bioinformatikk- og sekvensanalyser er utført av integreringssetet i plantens genom, og innsatt og flankerende DNA. Bioinformatikk-analysene har ikke avdekket potensielle nye åpne leserammer med sekvenslikhet til kjente toksiner

eller allergener. Segregeringsanalyser for insektsresistens, er i overenstemmelse med at det kun er integrert ett eksemplar av ekspresjonskassetten med *cryBb1*-genet i mais MON863. VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer den molekylære karakteriseringen av mais MON863 som tilfredsstillende.

3 Komparative analyser

3.1 Valg av komparator og forsøksdesign

I følge dokumentasjon fra Monsanto er det foretatt analyser av ernæringsmessige viktige komponenter av prøver fra maislinjen MON863 fra forsøksfelt i USA og Argentina. Feltforsøkene i USA ble lagt ut på fire lokaliteter i sentrale dyrkingsområder for mais (Iowa, Illinois og Nebraska) vekstsesongen 1999. Hvert forsøksfelt bestod av mais plantet etter en fullstendig randomisert blokkdesign med fire gjentak. Fire umodifiserte, kommersielle maissorter ble benyttet som referansmateriale i to av forsøkene, mens de to resterende feltene inkluderte fem sorter, totalt 18 referansesorter. I tillegg ble den ikke-transgene hybridlinjen MON846 (A1 x A634) benyttet som kontroll.

MON863 har også vært testet i fire forsøksfelt i Argentina vekstsesongen 1999-2000. Forsøkene inkluderte fire konvensjonelle, kommersielle referansesorter på hver lokalitet, til sammen 16 sorter. Også her ble testlinjen, komparator og referansesorter plantet etter en fullstendig randomisert blokkdesign med fire gjentak.

Registreringer av agronomiske karakter ble foretatt i feltforsøk i Iowa, Illinois og Nebraska i 2000. I disse forsøkene ble det benyttet 6 ulike testhybridlinjer av MON863. Tre av hybridlinjene (H-1, H-2, H-3) ble utviklet ved at positive og negative isolinjer av MON863, produsert fra gjentatte selvbestøvninger av heterozygote MON863-planter, ble krysset med en annen innavlet linje for sammenligning av agronomisk ekvivalens. Hybridene ble testet i randomiserte split-plot-forsøk med 4 gjentak i multiple feltforsøk. Hybridene H-4, H-5 og H-6 ble dannet ved at MON863 ble krysset med en kommersiell innavlet linje, etterfulgt av gjentatte tilbakekryssinger til samme linje og selvbestøvning gjennom flere generasjoner. Resulterende homozygote MON863-planter ble så krysset med ulike ikke-transgene innavlete linjer for å danne nye hybrider. Linjene ble så testet i balanserte latinske kvadrat med to gjentak per lokalitet, sammen med sine respektive ikke-transgene foreldrehybrider. Antall teststeder varierer for hver hybridlinje som er vurdert. Det er utført Students t-tester for å sammenligne middelerverdier for transgen- og kontrollhybrid for de enkelte parametere over forsøkssteder.

Statistiske analyser

I Nordisk ministerråds rapport "Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence" (TemaNord 1998), anbefales det at tilstrekkelig antall prøver må analyseres for å få adekvat sensitivitet for statistisk analyse. Spredning i enkeltparametere skal være sammenlignbare for genetisk modifisert plante og umodifisert plante. I rapporten er det anbefalt at spredningen i enkeltverdier bør ligge innenfor $\pm 20\%$. Faggruppe for genmodifiserte organismer bruker denne anbefalingen som grunnlag for vurdering av forsøksresultatene

3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002) er ikke fulgt med hensyn på valg av analyseparametere for maislinjene MON863 og MON846 (kontroll). Det ble foretatt ulike analyser av hovedkomponenter i prøver av fôr og korn. Når det gjelder fôr-komponenten ble det analysert for innhold av aske, fett, karbohydrater, protein, vann, ADF (acid detergent fibre) og NDF (neutral

detergent fibre). Tilsvarende ble det analysert for parameterne protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF, vann, aminosyrer, fettsyrer, fosfat, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, sink, vitamin E og anti-næringsstoffene fytinsyre og trypsinhemmer i korn. I tillegg ble det analysert for innhold av vitaminene B1, B2 og folinsyre, samt de sekundære metabolittene raffinose, inositol og p-coumarinsyre i prøver av maiskorn fra Argentina-feltene. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for hovedkomponentene protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF og vann. Analysene viste at verdiene for samtlige hovedkomponenter ligger innenfor typiske verdiområder for andre maissorter som er publisert i litteraturen.

Fettsyresammensetning i maiskorn

Fettsyresammensetningen for MON863 ble målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for innhold av 8 ulike fettsyrer. De argentinske målingene viser signifikante forskjeller for fire fettsyrer. Forskjellene er mindre enn $\pm 10\%$, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Det ble ikke påvist statistisk signifikante forskjeller i prøvene fra USA.

Aminosyrer i maiskorn

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert, totalt 18 aminosyrer. De ble funnet statistisk signifikante forskjeller for henholdsvis én og tre aminosyrer fra de argentinske og nordamerikanske prøvene. Verdiene ligger innenfor $\pm 10\%$, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer

I henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør følgende vitaminer analyseres: A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin. I følge dokumentasjonen fra søker er ikke innholdet av vit. A, vit. B6, niacin og vit. C målt i prøvene fra de argentinske feltforsøkene. Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for de analyserte vitaminene. Når det gjelder prøvene fra feltforsøkene i USA er det kun målt for innhold av vitamin E. Det ble funnet signifikante forskjeller mellom testlinje og komparator, men verdiene ligger innenfor typiske verdier rapportert i litteraturen. I henhold til Mattilsynets anbefalinger skal alt dyrefôr vitaminberikes. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1. i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Det anses derfor at mangel på dokumentasjon om innholdet av vit. A, vit. B6, niacin og vit. C ikke har betydning for vitamininnholdet i fôr og kornbasert barnemat.

Mineraler

Med unntak av natrium og selen har søker målt konsentrasjoner av samtlige mineraler som er anbefalt i OECDs konsensusdokument for mais. I de argentinske feltforsøk ble det påvist signifikant forskjell mellom nær-isogen kontroll og MON863 for innhold av kobber. Forskjellen er 23% , men verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter rapportert i litteraturen. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller for andre mineraler mellom kontroll og MON863.

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter

Dokumentasjonen fra søker viser signifikante forskjeller mellom kontroll og MON863 for innhold av fytinsyre i materiale fra de amerikanske og argentinske feltforsøkene. Forskjellene er fra 10 til 26% . I prøvene fra USA er fytinsyreinnholdet i kontroll-linjen lavere enn MON863, mens det i Argentina er høyere i kontroll enn MON863. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter rapportert i litteraturen. Faggruppen anser forskjellene å være tilfeldige og at de ikke har noen ernæringsmessig betydning.

Oversikt over de ernæringsmessige målingene fra feltforsøkene i USA og Argentina er vist i tabell 2 og tabell 3.

Tabell 2. Analyser av ernæringsmessige komponenter i prøver fra feltforsøk i USA 1999 (gjennomsnitt fra alle felt).

Tissue/Component ^b	MON 863 maize		Control		Commercials ^a	Literature range ^e	Historical range ^f
	Mean	Range	Mean	Range	99% T.I. ^d		
Forage							
<i>Fibre</i>							
ADF (% dw)	28.67	21.74-43.30	28.41	23.39-32.08	9.33-45.44	18.32-40.99	21.4-29.2
NDF (% dw)	43.25	37.97-49.67	42.94	37.32-51.85	22.71-56.02	26.37-54.45	39.9-46.6
<i>Proximates</i>							
Ash (% dw)	4.73	3.62-5.65	5.00	3.81-6.27	3.04-5.58	2.00-6.60	2.9-5.1
Carbohydrates (% dw)	84.24	82.29-86.32	84.32	80.78-87.21	81.22-88.97	83.16-91.55	84.6-89.1
Total fat (% dw)	2.40	0.92-3.16	2.35	1.30-3.33	1.03-3.24	0.35-3.62	1.4-2.1
Moisture (% fw)	71.09	69.30-73.10	71.68	69.80-74.50	62.70-77.69	55.30-75.30	68.7-73.5
Protein (% dw)	8.62	6.91-10.40	8.33	5.99-10.55	4.94-11.97	5.11-10.27	4.8-8.4
Grain							
<i>Amino acids (% of total)</i>							
Alanine	7.74	7.65-7.85	7.79	7.46-7.98	6.94-8.46	6.4-9.9	7.2-8.8
Arginine	4.43*	4.21-4.68	4.33	4.09-4.63	3.38-5.22	2.9-5.9	3.5-5.0
Aspartic acid	6.51	6.38-6.72	6.45	6.30-6.67	5.54-7.65	5.8-7.2	6.3-7.5
<i>Cystine</i>							
Cystine	2.20*	1.98-2.40	2.09	1.99-2.29	1.59-2.65	1.2-1.6	1.8-2.7
<i>Glutamic acid</i>							
Glutamic acid	19.39	18.99-19.91	19.56	18.97-20.26	17.55-21.25	12.4-19.6	18.6-22.8
<i>Glycine</i>							
Glycine	3.60	3.45-3.74	3.53	3.32-3.72	2.81-4.46	2.6-4.2	3.2-4.2
<i>Histidine</i>							
Histidine	2.84	2.70-2.95	2.83	2.72-2.94	2.37-3.35	2.0-2.8	2.8-3.4
<i>Isoleucine</i>							
Isoleucine	3.67	3.45-3.89	3.74	3.61-3.87	3.20-4.17	2.6-4.0	3.2-4.3
<i>Leucine</i>							
Leucine	13.36*	12.88-13.65	13.65	13.27-14.17	11.30-15.63	7.8-15.2	12.0-15.8
<i>Lysine</i>							
Lysine	2.92	2.65-3.26	2.88	2.67-3.08	1.87-3.89	2.0-3.8	2.6-3.5
<i>Methionine</i>							
Methionine	2.28	1.89-2.49	2.24	1.96-2.58	1.34-2.74	1.0-2.1	1.3-2.6
<i>Phenylalanine</i>							
Phenylalanine	4.99	4.93-5.06	5.04	4.95-5.23	4.53-5.66	2.9-5.7	4.9-6.1
<i>Proline</i>							
Proline	8.73	8.30-9.21	8.78	8.60-9.05	8.04-10.35	6.6-10.3	8.7-10.1
<i>Serine</i>							
Serine	4.70	3.93-5.09	4.67	4.20-4.94	3.76-5.69	4.2-5.5	4.9-6.0
<i>Threonine</i>							
Threonine	3.41	3.16-3.60	3.36	3.16-3.49	2.93-3.83	2.9-3.9	3.3-4.2
<i>Tryptophan</i>							
Tryptophan	0.66	0.60-0.83	0.65	0.60-0.68	0.37-0.90	0.5-1.2	0.4-1.0
<i>Tyrosine</i>							
Tyrosine	3.63	3.33-3.77	3.48	2.71-3.82	2.15-4.65	2.9-4.7	3.7-4.3
<i>Valine</i>							
Valine	4.94	4.71-5.13	4.94	4.64-5.12	4.15-5.63	2.1-5.2	4.2-5.3
<i>Fatty acids (% of total)</i>							
16:0 palmitic acid	12.01	11.61-12.56	11.88	11.66-12.20	7.74-13.87	7-19	9.9-12.0
18:0 stearic acid	1.66	1.40-1.86	1.66	1.33-1.81	1.04-2.68	1-3	1.4-2.2
18:1 oleic acid	22.00	20.97-23.55	21.87	21.00-22.53	13.28-36.31	20-46	20.6-27.5
18:2 linoleic acid	62.23	60.02-63.21	62.47	61.55-63.60	50.21-70.86	35-70	55.9-66.1
18:3 linolenic acid	1.20	1.13-1.29	1.24	1.09-1.45	0.75-1.51	0.8-2	0.8-1.1
20:0 arachidic acid	0.41	0.39-0.44	0.40	0.39-0.42	0.30-0.51	0.1-2	0.3-0.5
20:1 eicosenoic acid	0.30	0.28-0.35	0.30	0.28-0.35	0.18-0.42	na	0.2-0.3
22:0 behenic acid	0.18	0.17-0.21	0.18	0.15-0.21	0.055-0.30	na	0.1-0.3
<i>Fibre</i>							
ADF (% dw)	4.45	3.49-5.23	4.50	3.62-5.89	1.98-6.62	3.3-4.3	3.1-5.3
NDF (% dw)	11.64	9.21-13.47	12.02	10.31-15.82	6.51-16.28	8.3-11.9	9.6-15.3
<i>Minerals</i>							
Calcium (% dw)	0.0052	0.0041-0.0064	0.0053	0.0043-0.0089	0.0022-0.0073	0.01-0.1	0.003-0.006
Copper (mg/kg dw)	2.26	1.72-3.18	2.19	1.60-2.88	0.25-2.70	0.9-10	na
Iron (mg/kg dw)	23.55	21.13-26.36	24.18	20.57-28.16	12.52-35.06	1-100	na
Magnesium (% dw)	0.13	0.12-0.14	0.14	0.12-0.16	0.082-0.17	0.09-1.0	na
Manganese (mg/kg dw)	5.81	3.75-7.40	6.15	4.01-8.28	0.12-8.4	0.7-5.4	na
Phosphorus (% dw)	0.40	0.37-0.45	0.42	0.39-0.46	0.21-0.47	0.26-0.75	0.288-0.363
Potassium (% dw)	0.43	0.40-0.48	0.44	0.39-0.48	0.28-0.48	0.32-0.72	na
Zinc (mg/kg dw)	22.15	17.95-25.25	23.68	18.77-28.14	6.31-37.95	12-30	na
<i>Proximates</i>							
Ash (% dw)	1.35	0.84-1.71	1.41	0.89-1.89	0.26-2.06	1.1-3.9	1.2-1.8
Carbohydrates (% dw)	83.30	81.83-85.00	82.76	80.70-84.80	78.97-90.36	na	81.7-86.3
Total fat (% dw)	3.77	3.00-4.56	3.64	3.05-4.29	1.68-4.64	3.1-5.7	2.4-4.2
Moisture (% fw)	10.03	8.54-11.20	10.23	8.60-11.40	5.09-18.62	7-23	9.4-15.8
Protein (% dw)	11.60	10.43-12.82	12.19	10.45-13.80	5.47-16.57	6.0-12.0	9.0-13.6
<i>Vitamin</i>							
Vitamin E (mg/g dw)	0.011*	0.0062-0.014	0.013	0.0088-0.016	0-0.019	0.017-0.047	0.008-0.015
<i>Antinutrient</i>							
Phytic acid (% dw)	1.11*	0.92-1.28	1.23	1.01-1.37	0.39-1.33	0.9%	na
Trypsin Inhibitor (TIU/mg dw)	2.30	0.56-3.10	2.48	1.91-3.45	0-4.25	na	na

* significant difference at 5% level when compared with the control

^a 18 commercial maize hybrids grown in Argentina.

^b dw = dry weight, fw = fresh weight, ADF = acid detergent fiber, NDF = neutral detergent fiber, TIU = trypsin inhibitor units

^c The mean of 16 replicate values

^d Tolerance Interval: with 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of commercial hybrids. Negative limits were set to zero.

^e Forage (Sidhu *et al.*, 2000);

Grain amino acids reported as a percent of total protein [10.1% total protein (n x 6.25)] and grain fatty acids reported as a percent of total fat except for palmitic acid (16:0) which is expressed as a percent of triglyceride fatty acids (Watson, 1982); for all other grain components (Watson, 1987); grain protein and fat second values from (Jugenheimer, 1976)

^f na: not available.

Forage: range for control lines analysed in Monsanto trials conducted in 1994 and 1995 ((Sanders *et al.*, 1996b); (Sanders *et al.*, 1997a))

Grain: range for control lines analysed in Monsanto trials conducted between 1993 and 1995 (Sanders and Patzer, 1995); (Sanders *et al.*, 1996a); (Sanders *et al.*, 1996b); (Sanders *et al.*, 1997a); (Sanders *et al.*, 1997b); (Sanders *et al.*, 1997c)

Tabell 3. Analyser av ernæringsmessige komponenter i prøver fra feltforsøk i Argentina 1999/2000, gjennomsnitt fra alle felt.

Tissue/Component ^b	MON 863 maize		Control		Commercial ^a	Literature range ^e	Historical range ^f
	Mean ^c	Range	Mean ^c	Range	99% T.I. ^d		
Forage							
<i>Fibre</i>							
ADF (% dw)	26.79	22.55-31.27	27.22	22.83-30.32	15.09-34.96	18.32-40.99	21.4-29.2
NDF (% dw)	42.87	35.21-48.21	43.20	39.15-47.21	24.59-55.98	26.37-54.45	39.9-46.6
<i>Proximates</i>							
Ash (% dw)	6.51	4.24-8.08	6.32	4.88-8.23	2.33-7.70	2.00-6.60	2.9-5.1
Carbohydrates (% dw)	82.98	80.74-85.10	82.61	81.09-84.68	78.37-91.73	83.16-91.55	84.6-89.1
Total fat (% dw)	1.59	0.81-2.65	1.56	0.71-2.37	0.4-4.9	0.35-3.62	1.4-2.1
Moisture (% fw)	73.32	70.10-75.10	74.13	70.20-77.70	56.69-87.10	55.30-75.30	68.7-73.5
Protein (% dw)	8.92	7.59-10.04	9.52	8.35-10.60	0.22-15.79	5.11-10.27	4.8-8.4
Grain							
<i>Amino acids (% of total)</i>							
Alanine	7.74	7.47-7.98	7.84	7.46-8.06	7.09-8.31	6.4-9.9	7.2-8.8
Arginine	4.24	3.14-4.87	4.24	3.49-5.33	3.00-5.75	2.9-5.9	3.5-5.0
Aspartic acid	6.71	6.25-7.22	6.60	6.30-6.99	5.60-7.68	5.8-7.2	6.3-7.5
Cystine	2.22	2.11-2.33	2.20	1.98-2.30	1.31-3.02	1.2-1.6	1.8-2.7
Glutamic acid	18.97	18.36-19.35	19.21	18.61-19.77	15.91-22.38	12.4-19.6	18.6-22.8
Glycine	3.78	3.59-4.01	3.71	3.58-3.89	2.29-5.26	2.6-4.7	3.2-4.2
Histidine	3.02	2.85-3.19	2.99	2.79-3.21	2.22-3.71	2.0-2.8	2.8-3.4
Isoleucine	3.73	3.54-3.91	3.71	3.55-3.88	3.18-4.13	2.6-4.0	3.2-4.3
Leucine	12.90	12.14-13.35	12.99	12.59-13.44	9.76-16.17	7.8-15.2	12.0-15.8
Lysine	3.01	2.69-3.40	2.93	2.68-3.21	1.79-4.28	2.0-3.8	2.6-3.5
Methionine	2.01	1.77-2.17	2.08	1.89-2.38	1.03-3.01	1.0-2.1	1.3-2.6
Phenylalanine	5.03	4.88-5.18	5.02	4.92-5.15	4.25-5.75	2.9-5.7	4.9-6.1
Proline	9.35*	8.86-9.82	9.68	9.17-10.56	8.47-10.48	6.6-10.3	8.7-10.1
Serine	4.93	4.62-5.26	4.92	4.56-5.29	4.11-5.52	4.2-5.5	4.9-6.0
Threonine	3.32	2.76-3.60	3.31	2.87-3.61	2.87-3.99	2.9-3.9	3.3-4.2
Tryptophan	0.56	0.51-0.61	0.58	0.51-0.66	0.23-0.94	0.5-1.2	0.4-1.0
Tyrosine	3.45	2.81-3.66	3.00	1.93-3.66	2.38-4.19	2.9-4.7	3.7-4.3
Valine	5.03	4.82-5.19	4.98	4.77-5.16	4.49-5.47	2.1-5.2	4.2-5.3
Grain – continued							
<i>Fatty acids (% of total)</i>							
16:0 palmitic acid	10.70*	9.86-11.47	11.68	11.35-12.06	5.63-17.42	7-19	9.9-12.0
18:0 stearic acid	1.88*	1.67-2.34	1.76	1.64-1.91	0.80-2.44	1-3	1.4-2.2
18:1 oleic acid	21.53	20.68-22.45	22.03	21.20-22.92	18.41-31.88	20-46	20.6-27.5
18:2 linoleic acid	63.99*	62.14-65.09	62.58	61.41-63.63	49.72-69.67	35-70	55.9-66.1
18:3 linolenic acid	1.17	1.12-1.20	1.19	1.15-1.23	0.76-1.58	0.8-2	0.8-1.1
20:0 arachidic acid	0.34	0.32-0.37	0.35	0.32-0.39	0.16-0.60	0.1-2	0.3-0.5
20:1 eicosenoic acid	0.24*	0.22-0.27	0.25	0.24-0.27	0.19-0.39	na	0.2-0.3
22:0 behenic acid	0.15	0.073-0.18	0.15	0.086-0.17	0.054-0.28	na	0.1-0.3
<i>Fibre</i>							
ADF (% dw)	3.47	2.65-4.84	3.25	2.58-4.44	1.35-5.75	3.3-4.3	3.1-5.3
NDF (% dw)	12.67	9.70-19.86	11.60	8.49-18.12	4.35-17.20	8.3-11.9	9.6-15.3
<i>Minerals</i>							
Calcium (% dw)	0.0041	0.0028-0.0051	0.0044	0.0033-0.0055	0.0016-0.0090	0.01-0.1	0.003-0.006
Copper (mg/kg dw)	2.29*	1.88-2.63	2.82	2.32-3.22	0.3-91	0.9-10	na
Iron (mg/kg dw)	24.91	21.97-31.67	25.33	22.84-27.19	2.49-37.25	1-100	na
Magnesium (% dw)	0.13	0.12-0.16	0.13	0.12-0.14	0.074-0.17	0.09-1.0	na
Manganese (mg/kg dw)	7.74	5.95-9.72	7.58	6.04-9.05	0.90-11.97	0.7-54	na
Phosphorus (% dw)	0.35	0.30-0.41	0.36	0.31-0.39	0.25-0.39	0.26-0.75	0.288-0.363
Potassium (% dw)	0.43	0.38-0.49	0.43	0.41-0.46	0.23-0.52	0.32-0.72	na
Zinc (mg/kg dw)	27.15	23.50-30.31	28.13	24.38-31.63	6.10-40.05	12-30	na
<i>Proximates</i>							
Ash (% dw)	1.55	1.34-1.81	1.51	1.32-1.80	0.97-1.76	1.1-3.9	1.2-1.8
Carbohydrates (% dw)	84.58	83.28-87.10	84.49	83.84-85.92	77.60-92.24	na	81.7-86.3
Total fat (% dw)	3.59	3.00-4.42	3.60	2.83-3.94	1.26-6.25	3.1-5.7	2.4-4.2
Moisture (% fw)	12.52	11.10-15.10	12.73	11.60-15.30	0.20-94	7-23	9.4-15.8
Protein (% dw)	10.39	9.54-11.36	10.40	9.30-10.92	3.37-16.57	6.0-12.0	9.0-13.6
<i>Vitamin</i>							
Folic acid (% dw)	0.71	0.48-1.02	0.68	0.59-0.75			
Vitamin B1 (mg/100g dw)	0.28	0.21-0.41	0.27	0.23-0.33		0.3-0.86	na
Vitamin B2 (µg/g dw)	1.35	0.93-1.76	1.27	0.91-1.74		0.25-5.6	na
Vitamin E (mg/g dw)	0.0089	0.0070-0.014	0.0080	0.0060-0.011	0.0-0.028	0.017-0.047	0.008-0.015
<i>Antinutrient</i>							
Phytic acid (% dw)	0.76*	0.61-1.05	0.60	0.42-0.76	0.36-0.97	to 0.9%	na
Trypsin Inhibitor (TIU/mg defatted wt)	3.82	2.89-4.76	3.83	2.19-5.05	0.6-98	na	na
<i>Secondary metabolite</i>							
Ferulic acid (% dw)	0.24	0.20-0.40	0.23	0.19-0.27	0.17-0.28	na	0.17-0.27
Inositol (µg/g dw)	1564.01	1355.93-1820.25	1494.18	1244.34-1704.55			
Raffinose (% dw)	0.12	0.10-0.15	0.11	0.091-0.13	0-0.35	0.028-0.074 ^h	
p-coumaric acid (% dw)	0.023	0.016-0.047	0.020	0.016-0.026	0.0022-0.037	na	0.011-0.030

* significant difference at 5% level when compared with the control

^a Four commercial maize hybrids grown in Argentina and six commercial maize hybrids grown in Europe.^b dw = dry weight, fw = fresh weight, ADF = acid detergent fiber, NDF = neutral detergent fiber, TIU = trypsin inhibitor units^c The mean of 16 replicate values^d Tolerance Interval: with 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of commercial hybrids. Negative limits were set to zero.^e Forage (Sidhu *et al.*, 2000); Grain amino acids reported as a percent of total protein [10.1% total protein (n x 6.25)] and grain fatty acids reported as a percent of total fat except for palmitic acid (16:0) which is expressed as a percent of triglyceride fatty acids (Watson, 1982); for all other grain components (Watson, 1987);^f na: not available.Forage: range for control lines analysed in Monsanto trials conducted in 1994 and 1995 (Sanders *et al.*, 1996b); (Sanders *et al.*, 1997a)). Grain: range for control lines analysed in Monsanto trials conducted between 1993 and 1995 (Sanders and Patzer, 1995); (Sanders *et al.*, 1996a); (Sanders *et al.*, 1996b); (Sanders *et al.*, 1997a); (Sanders *et al.*, 1997b); (Sanders *et al.*, 1997c)^g For secondary metabolites, the range of sample values listed was for six E.U. and 11 U.S. commercial samples from (Sidhu and Lee, 1999).^h The range of sample values listed from (Chen and Burris, 1990)

3.3 Agronomiske karakterer

I henhold til dokumentasjon fra søker er det foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sykdommer og skadedyr. Resultatene fra 64 parvise t-tester viser 9 signifikante forskjeller mellom MON863-hybridene og deres respektive kontrollinjer. Forskjellen var bl.a. relatert til endringer i kolbelengde, plantehøyde, og tørrstoffinnhold. Det påpekes imidlertid med at forskjellene er små og ikke konsistente over områder eller testlinje, og av begrenset agronomisk relevans. Det vises også til at det har vært kommersiell produksjon av MON863 og avkomstlinjer i USA siden 1998, uten at det er påvist ikke-tilsiktede effekter på disse karakterene.

3.4 Delkonklusjon

Faggruppe for genmodifiserte organismer har i tidligere vurderinger av MON863 (VKM 2008) påpekt at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler for mais. Det er funnet statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger også innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at eventuelt avvikende vitaminnivå i MON863 har liten ernæringsmessig betydning.

Feltforsøk med MON863 indikerer agronomisk og fenotypisk ekvivalens mellom den transgene maislinjen MON863 og umodifisert, nær-isogen kontroll. Det konkluderes med at det innsatte genet i MON863 ikke har medført endringer i egenskaper knyttet til vekst og utvikling hos maisplantene.

4 Helserisikovurdering av MON863 til bruk i mat og fôr

4.1 Produktbeskrivelse og tiltenkte bruksområder

MON863 er søkt godkjent for import, videreføring, bruk som næringsmiddel og næringsmiddelingsredienser som omfatter prosesserte næringsmidler og fôrvarer. De genetiske modifiseringene i hybridene gjør planten tolerant overfor angrep fra enkelte arter i billeslekten *Diabrotica*. I tillegg gir det det uttrykte proteinet NPTII (neomycin fosfotransferase II) resistens mot aminoglykosidantibiotika som kanamycin og neomycin, og er introdusert som seleksjonsmarkør for identifisering av transformanter under regenerasjon.

4.2 Effekt av prosessering

Produksjon av ferdige mat og fôrvarer innebærer ofte tøffe behandlinger i bearbeidelsen av råvarene, hvilket er med på å denaturere de fleste proteiner. Eksempler er koking eller annen oppvarming ved høye temperaturer og/eller trykk, og behandling med lav pH. Det er vist at noen Cry-proteiner (Cry1Ab) tåler temperaturer opp mot 60 grader uten å bli denaturert (Rausell et al. 2004). Videre er det også vist at anti-Cry1Ab har bundet til Cry1Ab som har blitt behandlet ved 100 grader i 60 min (Xu et al 2009). Det er liten grunn til å anta at prosesserte produkter avledet fra mais MON863 vil være forskjellige fra annen umodifisert mais, eller at proteinene Cry3Bb1 og NPTII vil reagere annerledes på foredlingsprosesser enn de fleste andre proteiner. Cry-proteinene er generelt ikke varmemestabile proteiner. Imidlertid varierer denatureringstemperaturen mellom forskjellige Cry-proteiner og det kan dermed ikke utelukkes at noen Cry- proteinvarianter tåler høye temperaturer. Denaturerte Cry- proteiner antas ikke å være biologisk aktive (Hammond & Jez 2011).

4.3 Toksikologi

4.3.1 Toksikologisk vurdering av de uttrykte proteinene NPTII og Cry3Bb1

4.3.1.1 Akutt oral toksisitet

Det er utført akuttstudier på mus med NPTII og Cry3Bb1 protein fremstilt fra bakterier. Studiene er utført i henhold til EUs (EEC 1992), EPAs (EPA 1982) og OECDs retningslinjer nr. 401 for akutte toksisitetsstudier (OECD 1987). Proteinene Cry3Bb1 (doser = 0, 400, 1100 og 3200 mg/kg kroppsvekt) og NPTII (doser = 0, 100, 1000 og 5000 mg/kg kroppsvekt) ble gitt som engangsdoser til henholdsvis fire og tre grupper à 10 mus/kjønn/gruppe. Som proteinkontroll ble bovint serumalbumin (2700 mg/kg kroppsvekt) gitt som engangsdoser til to grupper à 10 mus/kjønn/gruppe. Etter 14 dager ble det ikke påvist tegn til toksisk påvirkning i noen av forsøkene. Etter avliving ble det heller ikke funnet organskader ved grov-patologisk undersøkelse.

4.3.1.2 Degradering av Cry3Bb1 og NPTII i kunstige fordøyelsessystemer

I følge søkers dokumentasjon, brytes Cry3Bb1 isolert fra både MON863, og *E. coli* raskt ned i testsystemer som etterlikner fordøyelse hos pattedyr. Tilsvarende viser søker til at også NPTII raskt blir brutt ned i kunstig fordøyelsessystemer.

Flere studier har blitt publisert hvor man har undersøkt nedbrytning av Cry-proteiner i ulike forsøksdyr. VKM har tidligere vurdert degradering av Cry-proteiner og fordøyelse i forbindelse med helserisikovurdering av Cry-proteiners adjuvanseffekter (VKM 2012).

4.3.2 Toksikologisk vurdering av MON863 i hel mat/fôr

4.3.2.1 90 dagers fôringsforsøk med rotter

Det er utført et 13 ukers (90 dager) fôringsforsøk på 6 ukers gamle hann- og hunnrotter, 10 grupper à 20 rotter/kjønn. Studien er gjort i henhold til OECDs retningslinje nr. 408, sub-kroniske toksisitetsstudier (OECD 1998). Fôret bestod av 11 % og 33 % (vekt/vekt) maiskorn fra MON863 og foreldrelinjen, og 33 % maiskorn (vekt/vekt) fra seks kommersielle maissorter. Monsanto analyser viser ingen testrelaterte endringer i organene for de undersøkte parameterne.

Hammond et al. (2006) har publisert en vitenskapelig artikkel med analyse av datasettet. Rapporten inneholder litt færre detaljer enn den originale fra Monsanto. EFSA fikk i 2007, som en del av en omfattende gjennomgang av Monsanto 13 ukers fôringsforsøk, utført ytterligere to sett statistiske analyser av 90-dagers rotteforsøket. I tillegg har AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments of France) utført statistiske beregninger av vektøkning og matinntak. EFSA's GMO panel innhentet uttalelser fra medlemslandene i EU (EFSA review, appendix 1), og konkluderte med at det ikke var noen forskjell i gjennomsnittsvekt og sluttvekt mellom rottene som ble gitt henholdsvis mais MON863 og foreldrelinjen. Det ble påvist noen forskjeller i vekst i løpet av testperioden, men forskjellene var under 4 % og skyldtes sannsynligvis svingninger i matinntak.

4.4 Allergenitet

4.4.1 Vurdering av allergene egenskaper til Cry3Bb1

Etter vel 50 års bruk av plantevernmidler med *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksposering (EHC 1999). Flesteparten av *Bt*-plantevernmidler inneholder krystalltoksin (protoksin) og levende sporer fra *Bt*-bakterien (EHC 1999). Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *B. thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinene.

På henstilling fra GMO-panelet i EFSA utførte søkeren nye bioinformatikkanalyser med oppdaterte databaser i 2009. Resultatet av søkene returnerte ingen likheter til kjente toksiner eller allergener for hverken Cry3Bb1 eller NPTII. I EFSA's innstilling til fornyelsessøknaden (EFSA-GMO-RX-MON863) fra Monsanto viser EFSA blant annet til to publikasjoner (Nakajima et al. (2009) og Kim et al. (2009)), som har undersøkt tilstedeværelse av IgE-antistoffer mot Cry3Bb1 i serumprøver fra maisallergikere i USA og Korea. Ingen av serumprøvene testet positivt for Cry3Bb1-IgE-antistoff. EFSA's GMO-panel konkluderte med at det ikke var grunn til å endre deres tidligere vurderinger av mais MON863.

Basert på dagens litteratur har ingen av de uttrykte proteinene blitt påvist å være allergener eller å ha likheter med kjente allergener. Det er heller ingen studier som har vist at de genmodifiserte maissortene har økt allergisk potensiale sammenliknet med konvensjonell mais.

4.4.2 Adjuvans (fremming av immunreaksjon mot andre stoffer)

Av Cry-proteinene er det kun Cry1Ab og Cry1Ac som har vært eksperimentelt studert med hensyn på adjuvanseffekt. Cry1Ac er vist i musemodellforsøk å virke som adjuvans via slimhinner ved å stimulere IgM-, IgG- og IgA- produksjon. Spørsmålet er om denne adjuvanseffekten kan føre til økt forekomst av allergi mot andre proteiner via en "bystander"-effekt ved inntak av mat fra

genmodifiserte planter som inneholder Cry-proteiner. Cry3Bb1 og Cry1Ac er proteiner med vidt forskjellige størrelse og aminosyresekvens, og viser kun 33 % sekvenslikhet i overlappende områdene. Dersom Cry3Bb1 har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Da ville man kunne forvente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i andre områder, bl.a. Nord-Italia.

Cry3Bb1 brytes raskt så og si fullstendig ned i magesaft (i løpet av 15 sekunder iflg. søker), og det forventes høy trypsinfølsomhet ut i fra aminosyresekvensen til Cry3Bb1. Eksponering av tarmepitel for Cry3Bb1-protein antas dermed å være marginal.

Basert på dagens kunnskap mener faggruppen det er lite sannsynlig at Cry-proteiner vil øke det allergene potensialet til mat/fôr basert på MON863 sammenliknet med konvensjonelle maissorter (VKM 2012).

4.5 Ernæringsmessig vurdering

4.5.1.1 Fôringforsøk med broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringforsøk på broilere som inkluderte 800 dyr fordelt på åtte grupper. Forsøksdyrene ble fôret med MON863, en tradisjonell kontroll og seks kommersielle referansesorter av mais. Det ble ikke påvist statistisk signifikante endringer på noen av de målte parameterne (f.eks. vekt og vektøkning, mortalitet, organpatologier, blod og urin – analyser). Basert på de komparative analysene, fôringforsøkene og VKMs tidligere vurderinger konkluderer faggruppen med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

4.6 Delkonklusjon

En 90 dagers subkronisk fôringsstudie utført på rotter har ikke indikert helseskadelige effekter av mais MON863, og en fôringsstudie utført på broilere indikerer at maisen er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais. Det er ikke funnet likhetstrekk mellom Cry3Bb1- eller NPTII- proteinet og kjente toksiner eller IgE-allergener. Proteinene er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at noen typer Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Akutte toksisitetstudier utført på mus har ikke påvist toksiske effekter av rensset bakterieprodusert NPTII- eller Cry3Bb1- protein. Denne typen studier anses derimot ikke av VKMs faggruppe for GMO å gi ytterligere informasjon om mulige helseskadelige egenskaper ved mais MON863.

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON863 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at de nye proteinene vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat og fôr basert på mais MON863 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

5 Miljørisikovurdering

Notifisering C/DE/02/9 under EUs utsettingsdirektiv 2001/18 omfatter bruksområdene fôrvarer, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og ulike industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning.

5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

Mais er en ettårig kulturplante som har gjennomgått langvarig og systematisk foredling. Planten krever omfattende kultiveringstiltak, og er generelt ikke i stand til spredning og overlevelse utenfor dyrket mark. Frøene er ubeskyttet, sitter godt festet til kolben, omsluttet av modifiserte blad. Planten er uten evne til naturlig frøspredning, og eventuell frøspredning er derfor primært knyttet til høsting, transport og prosessering.

Maisfrø stiller store krav til spiretemperatur og har ingen frøhvile. Frøplantene er svært sensitive for lave temperaturer. Under våre dyrkingsforhold er det derfor små muligheter for oppspiring og vekst av eventuelle spillfrø. I milde vintre i sørlige områder av Europa kan maisfrø overleve og spire påfølgende vekstsesong, men arten er ikke persistent og etablerer ikke ugraspopulasjoner (Hallauer 2000).

Enkeltplanter av mais finnes av og til forvillet på avfallsplasser, vegkanter og annen brakkmark, men arten etablerer ikke populasjoner utenfor dyrkingsområder (Lid & Lid 2005). Til tross for omfattende dyrking av mais over mange år i Europa, er det ikke påvist noen risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder. Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med (OECD 2003).

Insektresistens kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten i områder med målorganismen tilstede. Overlevelse og spredning av mais til andre habitater i Europa er imidlertid hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøhvile, mottagelighet for sykdom og liten toleranse for lave temperaturer. Undersøkelsene av fenotypiske karakterer som er foretatt av søker viser ingen forskjeller mellom den insektresistente maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene. Det er ingen indikasjoner på at de introduserte egenskapene hos MON863 vil medføre økt fitness, og økt evne til overvintring eller etablering av ugraspopulasjoner utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

5.2 Potensiale for genoverføring

En forutsetning for genspredning er tilgjengelige veier for overføring av genetisk materiale, enten via horisontal genoverføring av DNA, eller vertikal genflyt i form av frøspredning og krysspollinering. Eksponering av mikroorganismer for rekombinant DNA skjer under nedbryting av plantemateriale på dyrket mark og/eller pollen i åkrer og omkringliggende arealer. Rekombinant DNA er også en komponent i en rekke mat- og fôrprodukter, som er avledet av plantemateriale fra transgene sorter. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA. Mais har ikke viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, og vertikal genoverføring vil være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

5.2.1 Horisontal genoverføring (HGT)

En mulig risiko knyttet til maislinje MON863 er utilsiktet horisontal spredning av *nptII*-transgenet til sykdomsfremkallende bakterier, og derav nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon.

Ut fra dagens vitenskapelige innsikt med hensyn til barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer er det lite som tyder på at transgenene i MON863 skal kunne overføres til andre enn plantens naturlige kryssingspartnere (se utfyllende oversikt og vurdering i EFSA 2009, VKM 2005).

Data fra eksperimentelle studier viser at genoverføring fra transgene planter til bakterier inntreffer svært sjelden, og at denne overføringen forutsetter sekvenshomologi mellom overført DNA og bakteriens genom (EFSA 2009; VKM 2005).

En forutsetning for HGT fra genmodifiserte planter er at naturlig kompetente bakterier eksponeres til plantens DNA under naturlige forhold. Det er gjort en rekke ulike forsøk som ser på stabilitet av DNA i ulike mat- og førkilder samt opptak av dette fra tarmkanalen i ulike organismer (Rizzi et al. 2009). I et forsøk med mus ble stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen av oralt tilført M13 DNA undersøkt. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter føring. Små mengder av M13 DNA (< 0,1 %) kunne spores i blodbanene i en periode på maksimum 24 timer, mens M13 DNA ble funnet i opptil 24 timer i lever og milt (Schubbert et al. 1994). Ved studier av oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood et al. 2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist DNA fra GM soya i feces. Denne studien indikerte imidlertid at deler av *epsps*-transgenet hadde blitt tatt opp av tarmbakterier i forsøkspersonene før forsøket startet. Nielsen et al. (2000) og de Vries & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av rekombinant DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det påvist svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og naturlig forekommende bakterier er usikkert, men siden de fleste transgenene inneholder rekombinerte DNA-sekvenser fra jordbakterier kan dette ikke utelukkes (Bensasson et al. 2004)

Positiv seleksjon er en forutsetning for at sjeldne HGT-begivenheter skal kunne etablerer seg i bakteriepopulasjoner tilstede i fordøyelseskanal og/eller miljøet (Pettersen et al. 2005, Townsend et al. 2012). For mange transgener er det ikke sannsynlig at HGT vil gi selektive fordeler eller økt fitness hos mottagerorganismen (Nielsen 2003). Transgener som gir resistens mot antibiotika kan forventes å gi vertsbakterien økt overlevelsessevne under visse miljøbetingelser.

Slike betingelser kan være at bakterien er eksponert både til plantetransgener som gir resistens mot bestemte antibiotika, samt til det antibiotikaet som selekterer for slik egenskap. For plantetransgenet *nptII* som er til stede i MON863 kan enkelte aminoglykosider (e.g. kanamycin og neomycin) positivt selektere for disse; forutsatt at plantetransgenet kan uttrykkes som et funksjonelt protein i den transformerte bakteriens cytoplasma. Aminoglykosidet neomycin, som *nptII*-genet gir resistens mot, benyttes i veterinærmedisin i Norge. Årlig oppdatert oversikt over forbruksdata for aminoglykosider i Norge utarbeides av NORM NORM-VET og kan finnes på Veterinærinstituttets hjemmesider (<http://www.vetinst.no/Publikasjoner/Norm-Vetrappen>). Neomycin benyttes i norsk veterinærmedisin i behandling av enteritt hos gris. Forbruket i 2006 av neomycin var 29 kg virkestoff, mens det totale forbruket av antibiotika til landdyr i Norge var på ca 6,5 tonn virkestoff (NORM/NORM-VET 2006). En temporær positiv seleksjon av eventuelle bakterietransformanter i tarmkanalen til dyr som behandles med slike antibiotika kan derfor ikke utelukkes. Det anses som

usannsynlig at gener fra MON863 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr uten et slikt seleksjonstrykk.

Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil forekomme påvisbare horisontale genoverføringer av DNA-materiale fra MON863 i mikrobiologiske prøver fra miljøet (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004). Dette skyldes at slik overføring er forventet å være så lavfrekvent at de enten ikke forekommer i et gitt miljø og tidsperiode eller at de forekommer ved så lav prevalens at de ikke kan påvises ved tilgjengelig metodologi (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004). Det er tidligere påpekt store metodologiske utfordringer ved en slik påvisning (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004; Townsend et al. 2012).

Antibiotikaene som *nptII* gir resistens imot er klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som "highly important" og "cannot be classified as of no or minor therapeutic relevance" og VKMs GMO-panel anser derfor enhver økning av resistensnivået til disse antibiotikaene som uønsket. Risikoen knyttet til bruk av *nptII*-genet i MON863 kan derfor betraktes isolert sett i forhold til bruksområde til MON863, eller som et element i en større vurdering av antibiotikaresistenssituasjonen der en samlet ønsker å begrense kilder og muligheter for utvikling av resistens i patogene bakteriepopulasjoner.

En så langt hypotetisk forekomst av HGT fra MON863 til bakterier som eksponeres til denne plantens DNA må sees i sammenheng med prevalensen av *nptII*-genet i norsk miljø. Hvis *nptII*-genet allerede finnes utbredt i miljø som vil eksponeres til MON863 er det høyst usannsynlig at sjeldne HGT-begivenheter fra MON863 vil endre resistensnivået.

Det er lite informasjon tilgjengelig om forekomst av *nptII*-genet i relevante miljøet i Norge. Søker har heller ikke vedlagt slik informasjon. Overvåkning av resistenssituasjonen i Norge (se årlig NORM NORM-VET publikasjon) viser at forekomsten av aminoglykosidresistens og derav *nptII*-genet er lav i patogene bakterier i Norge. Forekomst av kanamycin/neomycin-resistens er beskrevet i *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* og *Staphylococcus intermedius* fra svin, svinefaeces, kalkunfaeces, storfekjøtt, hund og hundefaeces i Norge. Forekomsten av resistente isolater varierte mellom 1 til 10 % (NORMVET rapportene 2004-2007). Imidlertid gir disse observasjonene ikke grunnlag for å bestemme hvilke resistensgener som forårsaker den fenotypiske resistensen i disse isolatene. Det understrekes at kunnskap om forekomsten av *nptII*-genet i norske miljø er mangelfull.

EFSA og VKM har tidligere utredet problemstillingen rundt mulig HGT av antibiotikaresistensmarkørgener i detalj (EFSA 2004c, 2009; VKM 2005), og konkludert med at bidraget av *nptII*-genet fra mat og fôr produsert fra genmodifiserte planter ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier som lever i tarmen til mennesker og dyr. Konklusjonen var basert på lav sannsynlighet for HGT, samt et eksisterende nivå av *nptII*-gener i miljøet. Den geografiske utbredelsen av antibiotikaresistens i Europa varierer mellom land og vurderingene gjort i disse tidligere publikasjonene er ikke basert på faktisk forekomst av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt.

5.2.2 Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom maislinje MON863 og konvensjonelt foredlete maissorter vil avhenge av omfanget av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, håndtering og prosessering. Det er imidlertid lite sannsynlig at sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt. Dyrkingsomfanget av mais i Norge er dessuten svært begrenset. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig.

Insektresistens kan bare betraktes å være en selektiv fordel på arealer der målorganismene er til stede under dyrking. Denne egenskapen vil imidlertid ikke representere økt sannsynlighet for spredning av

mais i Europa. Overlevelse hos mais er i hovedsak begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøhvile, mottagelighet for soppsykdommer og liten frosttoleranse. Som for konvensjonelle sorter er det ingenting som tilsier at eventuelle spillplanter vil overleve til neste vekstsesong eller etablere uønskede populasjoner i Norge.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for maislinjen, vil miljøeksponeringen være begrenset til sporadiske enkeltplanter fra frøspill i forbindelse med transport og prosessering.

5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Maislinjen MON863 er transformert med *cry3Bb1*-genet fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, subsp. *kumamotoensis*.

Cry3Bb1-proteinet gir plantene resistens mot angrep fra skadegjørere i billeslekten *Diabrotica*, eksempelvis *D. virgifera virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm'). *D. virgifera virgifera* er det eneste målinsektet for MON863 som er påvist i Europa (Crop Protection Compendium 2007). Arten er en betydelig skadegjører i mais på det amerikanske kontinent, men ble først påvist i Europa (Serbia) i 1992. Den siste 15-årsperioden har arten etablert seg i flere land i Sentral-Europa, og det er også rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Frankrike, Italia, Nederland og Storbritannia (Crop Protection Compendium 2007). Planteskadegjøreren har allerede medført betydelige avlingstap i enkelte regioner, og spredningen skjer svært raskt, spesielt i områder med intensiv maisdyrking. Insektet overvintrer i planterøttene, og områder med monokulturer av mais og arealer der det ikke praktiseres vekstskifte er spesielt utsatte. Det har ikke vært rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Norge (<http://www.faunaeur.org/distribution.php>).

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for maislinjen, vil miljøeksponeringen være begrenset til sporadiske enkeltplanter fra frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Nivået av eksponering av *Bt*-toksin for eventuelle målorganismer vil derfor være svært lav, og ikke ha noen økologisk betydning i Norge.

5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Sporadiske spillplanter av maishybrid MON863 med opphav i utilsiktet frøspredning under ulike omsetningsledd antas ikke å medføre risiko for ikke-målorganismer.

Når det gjelder indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais vil mesteparten av Cry-proteinene denatureres av enzymaktivitet (proteaser) i fordøyelseskanalen, og mikrobielle prosesser vil føre til en ytterligere nedbryting av proteinet i gjødsla. Dette medfører at svært lite Cry-proteiner blir spredt med husdyrgjødsel på dyrket mark, noe som igjen minimerer faren for eksponering av potensielt sensitive ikke-målorganismer. Spredning av Cry-toksinet via gjødsel antas derfor ikke å gi signifikante miljøeffekter.

5.5 Delkonklusjon

Risikoen for mulig spredning av *nptII*-genet fra MON863 og derav nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon antas å være lav grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av svært sjeldne HGT-begivenheter. Eventuell forekomst av slike HGT-begivenheter må sees i sammenheng med eksisterende prevalens av aminoglykosidresistens og *nptIII*-genet i relevante norske miljø.

Det påpekes at datagrunnlaget vedrørende forekomst av *nptII*-genet i Norge er svært begrenset. Oppdaterte data fra NORM-NORM-VET-overvåkingen av resistenssituasjonen i Norge indikerer imidlertid lav forekomst av *nptII*-genet. Den veterinære bruken av aminoglykosideet neomycin, er slik at disse kan gi selektive fordeler for bakterie-transformanter som har tatt opp *nptII*-transgenet, hvis dette uttrykkes funksjonelt i bakterien.

Antibiotikaene som *nptII*-genet gir resistens imot er klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som "highly important".

6 Kunnskapshull

- Det er kunnskapshull knyttet til forekomsten av *nptII*-genet i Norge og Europa.
- Det er kunnskapshull knyttet til i hvilken grad det er sammenhengen mellom HGT-frekvenser og klinisk effekt av bakteriepopulasjoner som bærer nye HGT-ener.
- Det er kunnskapshull knyttet til vurderinger av adjuvans (VKM 2012).

7 Konklusjon

Molekylær karakterisering

Mais MON863 ble utviklet for insektsresistens mot enkelte billearter i slekten *Diabrotica* via introduksjon av genet *cry3Bb1* fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensi* ved hjelp av en partikkelakselerasjonsmetode. Mais MON863 inneholder også antibiotikaresistensgenet *nptII* fra *E. coli*. Data fra den molekylære karakteriseringen indikerer at det kun er integrert ett eksemplar av det rekombinante DNA-innskuddet med de to genene i genomet til mais MON863, og at genene og egenskapene er stabilt nedarvet over generasjoner. Adekvate bioinformatikk- og sekvensanalyser er utført av integreringssetet i plantens genom, og innsatt og flankerende DNA. Bioinformatikk-analysene har ikke avdekket potensielle nye åpne leserammer med sekvenslikhet til kjente toksiner eller allergener. Segregeringsanalyser for insektsresistens, er i overenstemmelse med at det kun er integrert ett eksemplar av ekspresjonskassetten med *cryBb1*-genet i mais MON863. VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer den molekylære karakteriseringen av mais MON863 som tilfredsstillende.

Komparative analyser

Faggruppe for genmodifiserte organismer har i tidligere vurderinger av MON863 (VKM 2008) påpekt at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler utført for mais. Det er funnet statistisk signifikante forskjeller i enkeltparametere blant de ernæringsmessige komponentene i hybridene i forhold til kontrollen, men avvikene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at de forskjellene som er påvist ikke har noen ernæringsmessig betydning.

Feltforsøk med MON863 indikerer agronomisk og fenotypisk ekvivalens mellom den transgene maislinjen MON863 og umodifisert nær-isogen kontroll. Det konkluderes med at det innsatte genet i MON863 ikke har medført endringer i egenskaper knyttet til vekst og utvikling hos maisplantene.

Helserisikovurdering

En 90 dagers subkronisk fôringsstudie utført på rotter har ikke indikert helseskadelige effekter av mais MON863, og en fôringsstudie utført på broilere indikerer at maisen er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais. Det er ikke funnet likhetstrekk mellom Cry3Bb1- eller NPTII- proteinet og kjente toksiner eller IgE-allergener. Proteinene er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at noen typer Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Akutte toksisitetstudier utført på mus har ikke påvist toksiske effekter av rensset bakterieprodusert NPTII- eller Cry3Bb1- protein. Denne typen studier anses derimot ikke av VKMs faggruppe for GMO å gi ytterligere informasjon om mulige helseskadelige egenskaper ved mais MON863.

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON863 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at de nye proteinene vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat og fôr basert på mais MON863 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Antibiotikaresistens

Maislinjen MON863 inneholder antibiotikaresistensmarkørgenet *nptII*. Faggruppen konkluderer med at risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII* genet fra maishybridene antas å være lav grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av sjeldne HGT-begivenheter, samt at andre determinanter for aminoglykosid-resistens finnes med variabel prevalens i relevante bakteriepopulasjoner.

Det påpekes videre store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke

vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt. Det påpekes imidlertid at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter ikke kan utelukkes.

Øvrig miljørisiko

Notifisering C/DE/02/9 gjelder godkjenning av maislinje MON863 til import, prosessering og til bruk som fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maisen.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinjen MON863 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer finner ingen grunn til å knytte bekymring til prosesserte produkter avledet fra mais MON863 eller de uttrykte proteinene med tanke på toksisitet. Basert på dagens kunnskap er det også lite sannsynlig at Cry-proteiner vil øke det allergene potensialet til mat/fôr produsert fra MON863 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra MON863 antas å være lav grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av sjeldne HGT begivenheter, samt at andre aminoglykosidresistens determinanter finnes ved variabel prevalens i relevante bakteriepopulasjoner.

Det påpekes store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt. Det påpekes også at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes.

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer finner det lite trolig at den omsøkte bruken av maislinje MON863 vil medføre endret risiko når det gjelder miljø sammenliknet med annen mais.

8 Referanser

- Bensasson D, Boore JL, Nielsen KM (2004) Genes without frontiers. *Heredity* 92: 483-489
- CERA (2011) Center for Environmental Risk Assessment. GM Database for safety information. http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database
- Crop Protection Compendium (2007) <http://www.cabicompendium.org/cpc/home.asp>
- de Vries J, Wackernagel W (2002) Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 2094-2099
- EFSA (2004a) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/DE/02/92) for the placing on the market of insect protected genetically modified maize MON863 and MON863 x MON810 for import and processing under Part C of Directive 2001/18 from Monsanto. *The EFSA Journal* 49: 1-25
- EFSA (2004b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from insect protected genetically modified maize MON863 and MON863 x MON810 for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto. *The EFSA Journal* 50: 1-25
- EFSA (2004c) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal* 48: 1-18. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html
- EFSA (2006) Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. ISBN: 92-9199-019-1. European Food Safety Authority, Parma, Italy. 100 p. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html
- EFSA (2009) Use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) and the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *The EFSA Journal* 1034: 1-82. http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo_biohaz_st_ej1108_ConsolidatedARG_en.pdf?ssbinary=true
- EFSA (2010a) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. Scientific opinion from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). *EFSA Journal* 8 (11):1-111. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1879.pdf>
- EFSA (2010b) Scientific opinion on applications (EFSA-GMO-RX-MON863) for renewal of authorisation for continued marketing of existing feed materials, feed additives, and food additive produced from maize MON863 under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal* 8(3): 1562.
- EFSA (2011) Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. Scientific opinion from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). *The EFSA Journal* 9(5): 2150.

<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2150.pdf>

- EMEA (2007) Presence of the antibiotic resistance marker gene nptII in GM plants for food and feed uses. EMEA/CVMP/56937/2007
http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2010/01/WC500054091.pdf
- Hallauer AR (2000) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Hammond BG, Jez JM (2011) Impact of food processing on the safety assessment for proteins introduced into biotechnology-derived soybean and corn crops. Food Chem. Toxicol. 2011 Apr;49(4):711-21. doi: 10.1016/j.fct.2010.12.009.
- Heinemann JA, Traavik T (2004) Problems in monitoring horizontal gene transfer in field trials of transgenic plants. Nat Biotechnol 22: 1105–1109 doi: 10.1038/nbt1009
- Lid J, Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. ISBN: 82-521-6029-8. 1230s.
- Netherwood T, Martín-Orúe SM, O'Donnell AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC, Gilbert HJ. (2004) Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. Nature Biotechnology 22: 204-209
- Nielsen KM, van Elsas JD, Smalla K (2000) Transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 (pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. Applied Environmental Microbiology 66: 1237-1242.
- Nielsen K (2003) An assessment of factors affecting the likelihood of horizontal transfer of recombinant plant DNA to bacterial recipients in the soil and rhizosphere. Collection of Biosafety Reviews (Italy) 1: 96-149
- Nielsen KM, Townsend JP. (2004) Monitoring and modeling horizontal gene transfer. Nature Biotechnology 22(9): 1110-1114
- OECD (2002) Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites, No. 6, series on Safety of Novel Foods and Feeds.
- OECD (2003) Consensus Document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO, No. 27, 1-49)
- Pettersen A K, Primicero R, Bøhn T, Nielsen KM (2005) Modeling suggests frequency estimates are not informative for predicting the long-term effect of horizontal gene transfer in bacteria. Environ. Biosafety Res 4: 222–233 doi: 10.1051/ebr:2006008.
- Rizzi A, Raddadi N, Sorlini C, Nordgård L, Nielsen KM, Daffonchio D (2012) The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals - implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs. Crit Rev Food Science Nutr 52: 142-161
- Schubbert GW, Lettmann C, Doerfler W (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. Molecular & General Genetics 242: 495-504

- TemaNord (1998) Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence. TemaNord 1998:591. ISBN 92-893-0263-1.
- Townsend J P, Bøhn T, Nielsen K M (2012) Probability of detecting horizontal gene transfer in bacterial populations. *Front Microbiol* 3, art. 27
- VKM (2005) Report from an Ad Hoc Group appointed by the Norwegian Scientific Panel on Genetically Modified Organisms and Panel on Biological Hazards – An assessment on potentially long-term health effects caused by antibiotic resistance marker genes in genetically modified organisms based on antibiotic usage and resistance patterns in Norway. Opinion 05/302-1-final. Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, Norway. 62 p.
- VKM (2006) Uttalelse om Monsanto's genmodifiserte mais (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 16.1.2006.
- VKM (2008) Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais MON863 fra Monsanto Company (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 28.11.2008.
- VKM (2012) Helserisikovurdering av Cry-proteiner adjuvanseffekt. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 25.4.2012 -11/313/3-endelig. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- WHO (2007) Critically important antimicrobials for human medicine: Categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to nonhuman antimicrobial use. Report of the second WHO expert meeting, Copenhagen, 29-31 May 2007.