



Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

14.11.07

Miljøriskovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (C/F/95/12-07)

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente maislinjen T25 (C/F/95/12/07) med handelsnavn Liberty Link®, er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM). VKM er blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning (DN) om å foreta en vurdering av miljørisiko i forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av T25 for alle bruksområder. DN ber VKM vurdere miljørisiko som følge av bruken av herbicidet, basert på de endringer i sprøytemiddelbruk som kan forventes hvis planten tas i bruk. Ved en endelig vurdering ber DN om at det fokuseres på miljørisiko i EØS-landene, inkludert Norge.

Vurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EUs nettside GMO EFSA-net og fra EUs tidligere Vitenskapskomité for planter (SCP 1998, 2001). I tillegg er det benyttet informasjon fra uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen.

Miljøriskovurderingen av T25 er gjort i henhold til tiltenkt bruk (dyrking, fôr og mat), og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven og forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, samt kravene i direktiv 90/220/EF med annekser og i henhold til gruppens mandat. Retningslinjene i EUs nye utsetningsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2, 3 og 3B), nedfelt i EFSA's retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter, er imidlertid også lagt til grunn for vurderingen (EFSA 2006). Vurderingen omfatter transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon, karakterisering og nedarving av genkonstruksjonen, agronomiske egenskaper, potensialet for ikke intenderte effekter på fitness, genoverføring og effekter på agroøkologiske forhold og dyrkingspraksis.

Den genmodifiserte maislinjen T25 har fått innsatt en genkonstruksjon med en enkeltkopi av *Pat*-genet fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicer av typen Finale. T25 plantene vil derfor tolerere høyere doser av sprøytemiddelet glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras. T25 inneholder en delvis deletert, trunkert og ikke funksjonell versjon av β -lactamase (*AmpR*) gen, som ikke uttrykkes i maisplantene.

Med unntak av herbicidtoleranse, viser feltforsøk i Europa og USA ingen signifikante forskjeller mellom T25 og konvensjonelle linjer med hensyn på agronomiske karakterer. Det vurderes ikke å være økt risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater, eller utvikling av ugraspopulasjoner av mais i dyrkingsmiljø sammenlignet med konvensjonelle sorter.

Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med, og vertikal genoverføring vil være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter. I tillegg vil utilsiktet innblanding av genmodifisert materiale i såvare representere en mulig spredningsvei for transgener mellom ulike dyrkingssystemer.

Glufosinat-ammonium har helseklassifisering for både akutte og kroniske skadevirkninger, og er per i dag ikke tillatt brukt i mais i Norge. EU innfører fra 1. oktober sterke bruksbegrensninger for stoffet, og det er ventet at forbudet mot bruk i maiskulturer i Norge opprettholdes og at det innføres ytterligere begrensninger. Miljørisiko knyttet til dyrking av T25 med bruk av dette herbicidet er derfor ikke vurdert for EØS-landene, inkludert Norge.

Samlet vurdering

Faggruppen finner det lite trolig at bruk av maislinjen T25 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais.

NØKKELOD

Genmodifisert mais, T25, herbicidtoleranse, PAT, glufosinat-ammonium, miljø

INNHOLDSFORTEGNELSE

SAMMENDRAG	1
VURDERT AV	3
BAKGRUNN	4
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING	4
MILJØRISIKOVURDERING	6
KONKLUSJON	19
TILLEGGSINFORMASJON	20
REFERANSER	21

Vurdert av

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Knut G. Berdal (leder), Jihong Liu Clarke, Sonja Klemsdal, Helge Klungland, Casper Linnestad, Anne I. Myhr, Audun Nerland, Ingolf Nes, Kåre M. Nielsen, Hilde-Gunn Opsahl Sorteberg, Odd E. Stabbetorp, Vibeke Thrane.

Koordinatorer i sekretariatet:

Arne Mikalsen og Elin Thingnæs

Takk til

Faggruppen takker Merethe Aasmo Finne og Hilde-Gunn O. Sorteberg for utarbeiding av utkast til vurderingen, og Ingeborg Klingen og Dag O. Hessen for innspill.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning om å foreta en vurdering av miljørisiko i forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av herbicidtolerant maislinje T25 for alle bruksområder.

T25 er godkjent som genmodifisert organisme i EU under det tidligere utsettingsdirektivet (direktiv 90/220/EF), med bruksområder dyrking, frøavl, import, videreforedling, mat og fôr. Søknaden ble anbefalt og fremmet av franske myndigheter, og sendt på høring til EØS-landene i mai 1996, med frist på 60 dager for kommentarer og innspill. EUs tidligere Vitenskapskomité for planter ('Scientific Committee on Plants') ga sin uttalelse til søknaden i februar 1998, og en oppdatert vurdering 20. juli 2001. Godkjenning for omsetning av maislinje T25 ble gitt 22. april 1998, og omfatter både den genmodifiserte maislinjen, og alle avledete sorter (innavla linjer, hybrider) produsert ved hjelp av konvensjonell foredlingsmetodikk.

Maislinjen er også godkjent under den forenklede prosedyren i Novel Foodsforordningen (EF) Nr. 258/97 til bruk som avledete næringsmidler og næringsmiddelingsredienser. Den er videre notifisert som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF, artikkel 8 og 20, med bruksområder prosesserte næringsmidler, tilsetningsstoffer til næringsmidler, fôrvarer (både i prosessert form og som levende organisme), samt tilsetningsstoffer til fôr.

Flere medlemsland har nedlagt nasjonale forbud mot utsetting av maislinjen T25 i henhold til Art. 23 i direktiv 2001/18/EF (sikkerhetsklausulen). I forbindelse med at Østerrike har påberopt seg sikkerhetsklausulen (http://ec.europa.eu/environment/biotechnology/safeguard_clauses.htm) har EFSA's GMO-panel foretatt en ny vurdering av den aktuelle maislinjen (EFSA 2004a; 2006a).

I EU gikk godkjenningen av T25 ut 18. april 2007, og søknad om fornyet godkjenning under 1829/2003/EF er levert av Bayer CropScience, via nederlandske myndigheter. Søknaden omfatter bruksområdene dyrking, mat, fôr, import og prosessering, og er nå under utsjekking av EFSA (EFSA/GMO/NL/2007/46) (http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gm_ff_applications.html). Søknaden ble gjort tilgjengelig på EFSA-nett under søknader om fornying av eksisterende produkter 7. september 2007. Fôrmaissorten LLChardon er den eneste avledete sorten fra T25 som er registrert på nasjonale sortslister i Europa (Nederland).

I Norge ble T25 innmeldt som prosessert fôrvarer under den nasjonale overgangsordningen for eksisterende GM-produkter 15. mars 2006 (jfr. fôrvarerforskriftens § 7a), og er tillatt å omsette på det norske markedet. Notifiseringen gjelder fôrvarer både til landdyr og til oppdrettsfisk, men er foreløpig ikke offentliggjort av Mattilsynet.

Utenfor EU/EØS-området er maislinjen T25 godkjent for dyrking i USA, Canada, Argentina og Japan (Agbios 2007). Totalt er maislinjen godkjent for import og ulik bruk, unntatt dyrking, i 11 land utenfor EU/EØS-området.

OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING

Vitenskapskomiteen for mattrygghet ble i brev av 6. juli 2007 bedt av Direktoratet for naturforvaltning om å foreta en utredning av miljørisiko ved en eventuell godkjenning av den genmodifiserte maislinjen T25 (C/F/95/12/07) til bruk som annen mais (alle bruksområder). Bakgrunnen for oppdraget er at Norge i forbindelse med implementering av EUs regelverk på genmodifisert mat og fôr, må ta endelig stilling til om søknaden skal innvilges også her i landet. Oppdraget omfatter forhold knyttet til miljørisiko som gjelder for alle land som omfattes av godkjenningen (EØS-området), og forhold knyttet til miljørisiko som vil være spesielt viktige i Norge. I e-post datert 4. oktober 2007 ber DN om at VKM vurderer miljørisiko av herbicidresistente planter som følge av bruken av herbicidet,

basert på de endringer i sprøytemiddelbruk som kan forventes hvis planten tas i bruk. Det skal tas utgangspunkt i den regulering av bruk av herbicidet som gjelder på det tidspunkt søknaden vurderes. Videre heter det at dersom det er sannsynlig at reguleringen av bruken av det aktuelle herbicidet vil bli endret (hvis for eksempel mye tyder på at et herbicid vil bli tillatt eller forbudt i nær framtid) drøftes også hvilke konsekvenser dette vil få mhp miljørisiko knyttet til herbicidbruk.

I Norge ble søknaden vurdert av Nasjonalt folkehelseinstitutt i 1996 forhold til risiko for allergi, effekter ved direkte håndtering, bruk som næringsmiddel og miljømessige forhold av helsemessig betydning. I mars 2007 leverte Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet en vurdering av helseaspekter knyttet til bruk av maislinjen som næringsmiddel og fôrvare (VKM 2007).

Produktet som ønskes vurdert:

Genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (tidl. AgrEvo Company og Aventis CropScience)

Unik kode: ACS-ZMØØ3-2

Notifikasjonsnummer i EU: C/F95/12-07

Status i EU: Godkjent for markedsføring under direktivene 90/220/EF og 258/97/EF i 1998. Innmeldt som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF (art. 8 og 20) i 2004.

MILJØRISIKOVURDERING

1. Innledning

Miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maisen er i hovedsak basert på dokumentasjon fra EUs tidligere Vitenskapskomité for planter (SCP 1998, 2001) og informasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAa nettside GMO EFSA-nett knyttet til søknad om fornyet godkjenning av T25 under 1829/2003/EF (EFSA/GMO/NL/2007/46) I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingene.

Vurderingen av T25 er gjort i henhold til tiltenkt bruk, og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven og forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, samt kravene i direktiv 90/220/EF med annekser. Retningslinjene i EUs nye utsetningsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2, 3 og 3B), nedfelt i EFSA's retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter, er imidlertid også lagt til grunn for vurderingen (EFSA 2006b).

Faggruppe for genmodifiserte organismer har ikke mandat til å risikovurdere plantevernmidler. I tråd med sitt mandat har faggruppen ikke vurdert miljørisiko knyttet til bruk av sprøytemidler av typen glufosinat-ammonium. I VKM blir risikovurderinger av plantevernmidler ivaretatt av Faggruppen for plantevernmidler.

1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

Den genmodifiserte maislinjen T25 er utviklet for å gi toleranse for herbicidet glufosinat-ammonium. Bakgrunnen for toleransen er introduksjon av *Pat*-genet, som er isolert fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*, og som koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT). Enzymet acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, som er virkestoff i fosfinotricin-herbicer av typen Finale og Basta. *Pat* genet er syntetisk i den forstand at det har endret nukleotidkoden fra bakterien (70 % identisk), for å redusere GC innholdet som søker hevder er lavere i planter, samtidig som en beholder aminosyrekoden. Kornartene er spesielle blant planter fordi de derimot har et høyt GC nivå, så hvorvidt dette er gunstig for mais er usikkert.

Herbicer som er basert på glufosinat-ammonium gir en irreversibel hemming av plantenes eget enzym glutaminsyntetase. Enzymet deltar i assimilasjonen av nitrogen og katalyserer omdanning av glutamat og ammonium til aminosyren glutamin. Ved sprøyting med fosfinotricin-herbicer vil inkorporeringen av nitrogen i planten blokkeres, og planten vil normalt dø etter kort tid på grunn av akkumulering av ammonium til et nivå som er toksisk for plantene. Når det introduserte *pat*-genet uttrykkes i de transgene maisplantene vil det aktive stoffet acetyleres og plantenes eget enzym glutaminsyntetase vil ikke inhiberes. Syntesen av glutamat og detoksifiseringen av ammonium går derfor som normalt, og de transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras.

2. Molekylær karakterisering

T25 fra Bayer CropScience (AgrEvo GmbH) har fått overført et syntetisk *Pat* gen, derivert fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494 (Wohlleben et al 1988). Transformeringsprosessen er gjort ved direkte DNA/plasmid opptak til protoplastkulturer (cellekulturer hvor plantenes cellevegg er fjernet) ved å perforere maiscellers cellemembraner vha polyethylenglycol (PEG) som muliggjør overføring av genetisk materiale (Mórocz et al 1990).

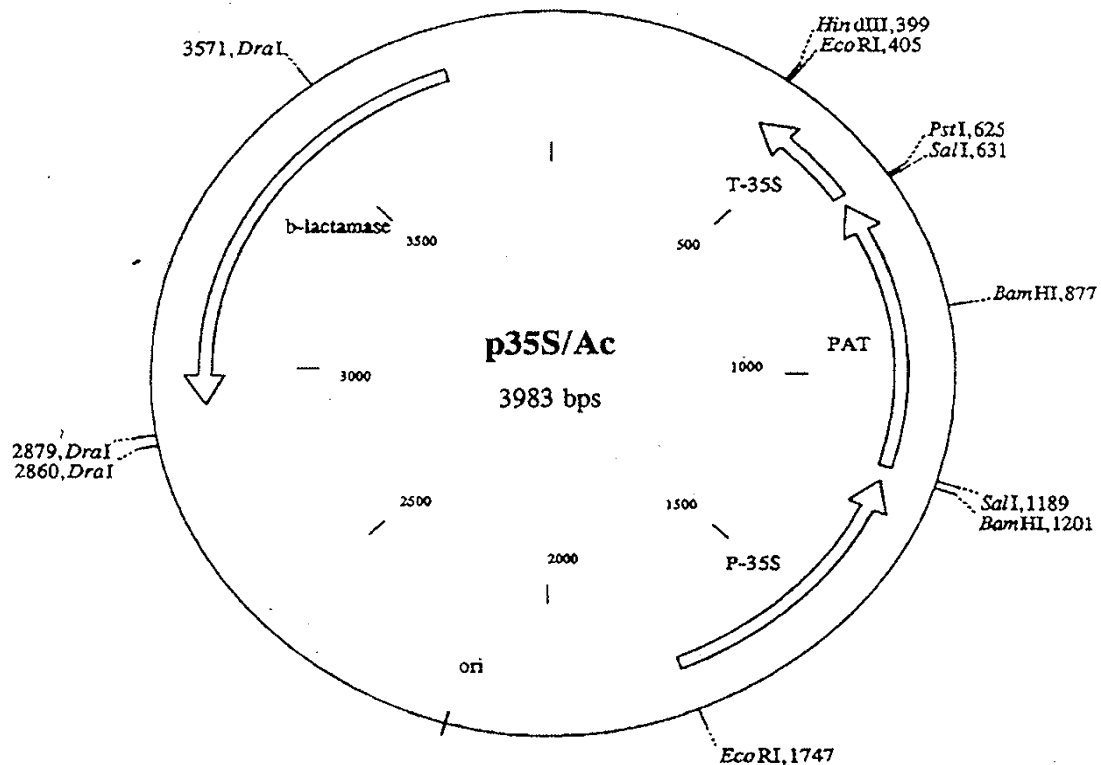
2.1. Transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon

Genetiske elementer fra pUC/Ac brukt til transformering av T25:

Genetisk element	Posisjon i vektor	Str (kb)	Funksjon og beskrivelse av klonede genfragmenter:
pUC18 vektor	1747-411	2.63 ¹	Vektor som bærer DNAet en ønsker å overføre til maisen ved transformering/ genmodifisering. Vanlig høykopi <i>E. coli</i> plasmid brukt til kloning av DNA (Yanish-Perron et al. 1985).
<i>ori-pUC</i>	2164-2714	0.55	Replikasjonsorigo som dirigerer replikasjon av plasmidet i <i>E. coli</i> som del av oppgitt vektor over.
<i>β-lact.</i>	3782-2922	0.86	Trunkert gen for Ampicillinresistens ved uttrykk av <i>β-lactamase</i> fra <i>E. coli</i> . Genet skal bare uttrykkes i bakterier fra en prokaryot promoter. Fragmentet er en del av tidligere oppgitt vektor over.
<i>P-35S</i>	1746-1217	0.52 ²	Blomkål mosaikk virus (<i>CaMV</i>) promoter (Odell et al. 1985) fra vektor pDH51 (Pietrzak et al. 1986).
<i>Pat</i>	1188-637	0.53 ³	Et syntetisk <i>Pat</i> (Glyfosinat) resistensgen fra fra <i>Streptomyces viridochromogenes</i> (Eckes et al. 1989; Strauch et al. 1993).
<i>T-35S</i>	618-412	0.20 ⁴	3' terminator delen av <i>35S</i> genet (Pietrzak et al. 1986).

- 1) Det er ikke entydig hvordan denne oppgitte posisjon i vektor 1747 – 399, gir et fragment på 2.63 kb. Ifølge vektorkonstruksjon av plasmidet er total lengden 3983, som tilsier at vektor regnes fra klonet *P35S* til slutten av vektor og til posisjon 399 hvor *T35S* er klonet. Dette tar imidlertid ikke hensyn til hevdet delesjon av deler av vektorens *ampR* resistensgen.

Oppdatert Figur av vektor i tilleggsinformasjon.



Beskrivelse av gener i plasmidet pUC/Ac (også kalt p35S/Ac avledet fra plasmidet pDH51; Pietrzak et al. 1986):

P35S promoteren binder RNA polymerase og initierer transkripsjon, men uttrykkes ikke som RNA eller protein. *T35S* terminerer transkripsjonen, men uttrykkes ikke i endelig mRNA eller protein (Franck et al. 1980).

ori-pUC området er replikasjonsgenet for pUC plasmidet, og dets funksjon er at plasmidet kan replikeres i *E. coli*. Replikasjon fra dette origo er begrenset til Enterobakterier og fungerer ikke i eukaryote celler.

β-lactamase - vektoren inneholder et Ampicillin resistensgen, som gir resistens mot beta-lactam antibiotika (penicillin, ampicillin, etc). Genene uttrykkes ikke i maisplanten T25 og genproduktet er ikke til stede (Eckes 1994; van Wert 1994). *Pat* genet er opprinnelig isolert fra *Streptomyces viridochromogenes* (Hara et al. 1991). Genet har to funksjoner i den genmodifiserte organismen. Det fungerer både som selektiv markør, som gjør at en kan skille transgene celler fra ikke transgene i vevskulturen under regenerering av transgene linjer, og gir de transformerte plantene en økt toleranse mot fosfotricin-herbicer.

2.2. Karakterisering av geninnsettingen/ genkonstruksjonen i T25

Den genmodifiserte maislinjen T25 uttrykker *Pat* genet fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494 (Wohlleben et al. 1988). Hele plasmidet er sekvensert, godt karakterisert og vist seg å bli stabilt nedarvet.

Opprinnelig informasjon og beskrivelse av transgener innsatt i T25 er korrigert i fornyet søknad om markedsføring av T25 for perioden 2007 til 2017. Informasjon fra begge søknadene er inkludert i risikovurderingen.

I fornyet søknad brukes Southern blot og PCR resultater som dokumentasjon fra Bayer CropScience for å beskrive den innsatt genkonstruksjon i GM planten. Southern blot hybridisering indikerer at bare en kopi av *pat*-genet er integrert i maisgenomet. Videre analyser av GM-planten viser at insertet består av P35S-*pat*-T35S ekspresjonskassetten og ved 3'-enden et fragment som består av deler av P35S promoteren lenket til et fragment av *ampR*-genet. Dette *ampR*-fragmentet består av sekvenser fra bp 80 til bp 433 fra P35S, samt sekvenser fra bp 196 til bp 861 fra *ampR*-genet. De første 5 bp av *ampR*-genet, som inneholder ATG transkripsjonstartkondon er satt inn i 5'-enden av insertet (se figur 4) PCR-data indiker at pUC/Ac-sekvenser, fra bp 3814 til 3555 har blitt integrert i maisgenomet (se figur 4). Sekvenser fra bp 3588 til bp 3778 er i henhold til Bayer CropScience ikke integrert i maisgenomet. I henhold til Bayer CropScience betyr dette at ca. 25 % av 5'-enden til *ampR*-genet mangler i insertet (se figur 4). Nyere PCR- og sekvenseringsanalyser, fra 2002, viser at dette insertet har vært til stede i de tidligste T25-plantene. Ny informasjon i ny søknad fra 2007 viser også vha Southern hybridisering at det er to kopier av 35S promoter i T25, og at den andre kopien ligger foran β -lactamase gen. Det hevdes likevel å ikke ha noen funksjonell betydning. Resistensgenet er ufullstendig pga en delesjon og gir ikke noe funksjonelt genprodukt. I respons til kommentarer på notifiseringen hevder søker at det er ett *pat* gen integrert i T25, siden egenskapen nedarves som en mendelsk karakter. Dette er ikke tilstrekkelig dokumentasjon, da det typisk innsettes flere kopier av transgenkonstrukter i såkalte hotspots i genomer etter transformering (Kohli et al. 1998). Det en kan hevde ut fra denne nedarvingen er at transgenet eller transgenene er integrert i et locus, eller sitter forholdsvis tett sammen på genomet.

Figur 4:

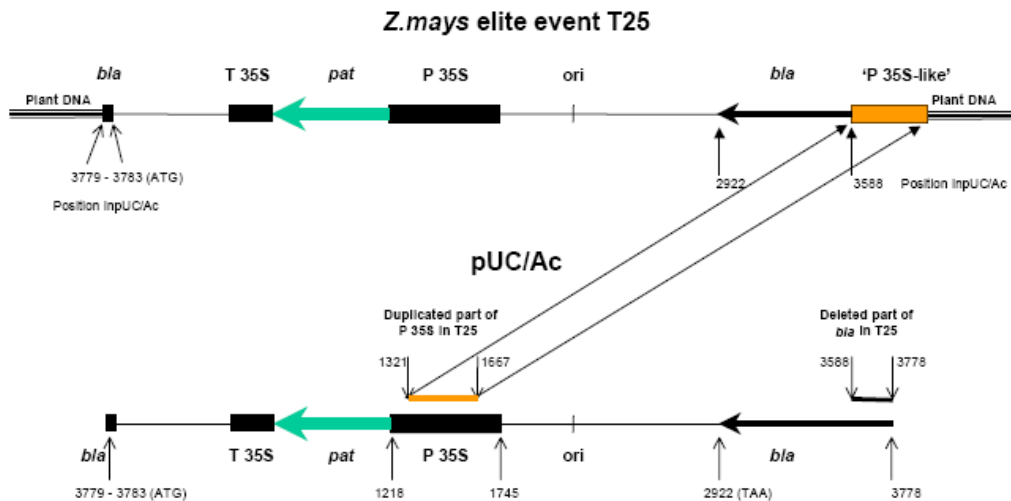


Figure 4. Schematic drawing of T25 and pUC/Ac

I den fornyede søknaden er det lagt ved dokumentasjon på undersøkelser av fravær av andre pUC/AC-plasmidsekvenser i maisgenomet. Undersøkelsene er utført ved Southern-blot med P35S- sekvenser og hele T-DNAet som prober. P35S-proben, 540 bp, ble syntetisert v.h.a. PCR (se figur 2).

Figur 2:

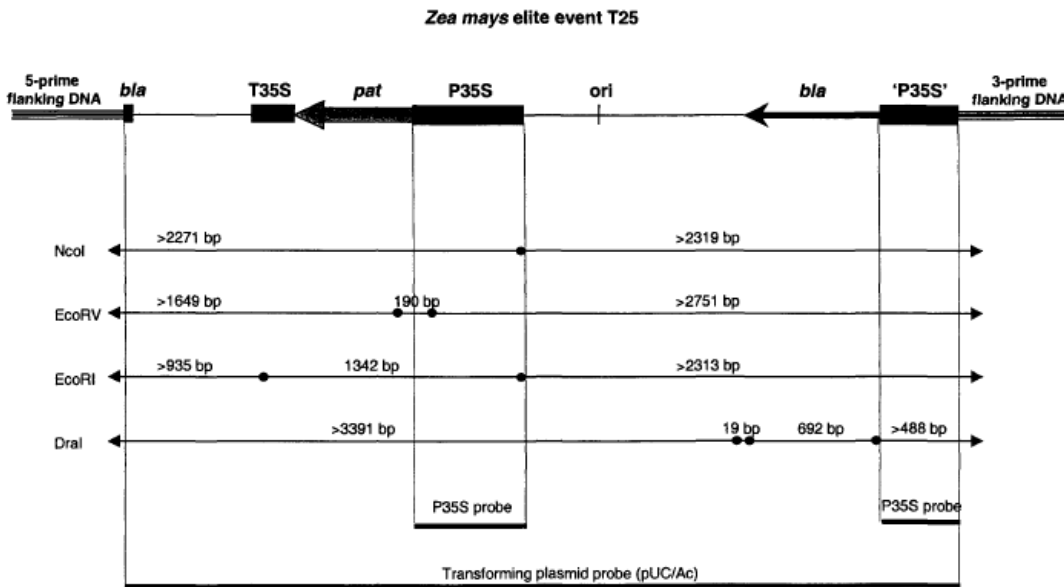


Figure 2: Hybridization strategy

Genomisk T25 DNA ble kuttet med fire forskjellige restriksjonsenzymmer, NcoI, EcoRV, EcoRI og DraI. Bayer CropScience hevder at de påviste DNA-fragmentene på Southern-blottene er i henhold til sekvensene på insertet.

I en nylig publisert karakterisering av insertet i T25 (Collonnier et al. 2005), beskrives rearrangement og duplisering av deler av insertet.

AmpR genet er ikke funksjonelt da 25 % av genet er deletert. Bayer CropScience har lagt ved dokumentasjon fra 1999 som viser at det ikke kan påvises mRNA fra det trunkerte *ampR*-genet med Northern-blot. Analysene som er gjort med mRNA fra blad av hybridene LH82 xT25 tyder på at det trunkerte *ampR*-genet ikke uttrykkes. Bayer har også utført analyser med ¹⁴C-penicillin på bladekstrakt fra T25 for å påvise β-laktamaseaktivitet. Det ble ikke påvist β-laktamaseaktivitet.

2.3. Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener, ORF

I 2003 ble det foretatt analyser av sekvensene i 5'- og 3'-enden av insertet. Det ble sekvensert henholdsvis 308 bp og 150 bp. For disse flankerende sekvensene ble det påvist høy grad av sekvenslikhet (90-97 %) til flere maisgener samt til *Huck-2* retrotransposonsekvenser. Bayer har også lagt ved dokumentasjon på åpne leserammer (ORF). Dokumentasjonen er fra 2007. Det ble påvist 6 ORF i området rundt forbindelsen mellom insertet og genomisk mais-DNA. Bayer har ikke påvist at disse ORFene har regulatoriske sekvenser som er nødvendige for transkripsjon og translasjon. Bayer hevder at sannsynligheten for ekspresjon fra insertet av andre proteiner enn PAT er usannsynlig. Uten vedlagt dokumentasjon kan vi ikke si noe sikkert her angående *Pat*, utover at genet uttrykkes og gir et forholdsvis lavt proteinprodukt. *35S* promoteren er ikke så sterkt regulert i enfrøbladete planter som i tofrøbladete, som kan være noe av årsaken til at en observerer et noe beskjedent PAT- produkt i T25.

Det er likevel tilstrekkelig til å gi glufosinattoleranse. Videre dokumenterer søker at *AmpR* genet ikke kan detekteres på Northern blot, som regnes som sannsynlig pga delesjonen av gensekvensen.

2.4. Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA

Det er vist gjennom Southern, kryssinger, rekombinasjon og gjennom flere generasjoner at *Pat* genet i T25 nedarves som ett locus og at det er stabilt over tid dvs generasjoner. Prokaryote gener kan generelt uttrykkes i planter gitt at de reguleres av promotere som binder RNA Polymerase og fungerer i de respektive planters genom, og den åpne leseramma gir et funksjonelt transkript (Fraley et al. 1983). Det ultimate svaret på om det fungerer er om en får et funksjonelt protein som gir den ønskede egenskapen til en transgen organisme (Herrera-Estrella et al. 1983).

2.5. Konklusjon

Maislinjen T25 har fått tilført en modifisert utgave av *Pat* genet fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494, og et delvis deletert β -lactamase fra pUC vektoren ved genoverføring til protoplaster. Etter ny informasjon fra søker om integreringsplass, flankesekvenser mellom integrert transgen og genomet og Southern, er det grunn til å tro at transgenene sitter i et locus i genomet fra nedarvingsresultatene. Det trunkerte β -lactamase-genet uttrykkes ikke i T25 mens *Pat* genet er funksjonelt. T25 muliggjør ugrasbekjemping i mais med glufosinatpreparater, dvs ikke-selektive og ikke systemiske kjemikalier.

3. Maisdyrking i Norge

Norge er i utkanten av dyrkingsområdet for mais, og dyrkingsomfanget er svært begrenset. Tall fra 2006 viser at det ble dyrket 960 dekar sukkermais til konsum, og 3000-3500 daa med fôrmais (SSB 2007; Felleskjøpet). Det er ikke registrert produksjon av økologisk mais eller maisarealer under omlegging til økologisk drift (<http://www.debio.no>). Maisproduksjonen er hovedsakelig lokalisert til områdene rundt Oslofjorden og i Rogaland. Interessen for dyrking av mais til fôr har imidlertid vært økende de siste årene. Mais er en lite arbeidskrevende kultur, og nye og tidligere sorter, samt positive resultater av plastlegging etter såing, har gjort at flere dyrkere ønsker å supplere tradisjonelt grovfôr med surfôr av mais. Når vekstsesongen er lang nok gir mais store avlinger og et godt, smakelig og næringsrikt fôr som kan øke grovfôropptaket. Blir imidlertid vekstsesongen for kort, slik at kolbene ikke får tid til å utvikle seg, kan fôrenhetskonsentrasjonen bli svært lav (0,75 FEm/kg TS; <http://www.grovfôrnett.no>).

I en undersøkelse av potensialet for og risiko for avlingssvikt ved dyrking av fôrmais i marginale områder, har Bakken et al. (2005) testet et utvalg tidlige sorter på ulike lokaliteter i Sør- og Midt-Norge. Konklusjonen på undersøkelsen er at med dagens sortsmateriale er fôrmaisproduksjon i Trøndelag og Rogaland et risikoforetak, også dersom en tar i bruk intensive dyrkingsmetoder. Ut fra resultatene i undersøkelsen vil ikke gode avlinger av tilstrekkelig kvalitet være årssikker selv i de beste jordbruksområdene langs Oslofjorden. Klimaendringer, som medfører lengre vekstsesong og høyere gjennomsnittstemperaturer, kan imidlertid utvide dyrkingsarealet for mais i Norge.

4. Glufosinat-ammonium

Glufosinat-ammonium (GA) er et bredspektret, kontaktvirkende bladherbicid, med virkning både på en- og tofrøbladete ugras. GA er per i dag godkjent som plantevernmiddel i Norge i preparatet Finale. Middelet er blant annet tillatt brukt mot ugras under frukttrær, bærbusker, prydbusker, i jordbær, poteter, grønnsaker, stauder og sommerblomster, i frøeng og til brakking

(<http://www.plantevernguiden.no>). Herbicidet er ikke godkjent til bruk verken i fôr- eller sukkermais i Norge.

EFSA gjennomførte i 2005 en ny risikovurdering av glufosinat-ammonium (EFSA 2005), og ny godkjenning og bruksområde for virkestoffet ble fastsatt i et nytt direktiv (direktiv 2007/25/EF), med ikrafttredelse 1. oktober 2007. Endringene i EUs sprøytemiddeldirektiv (direktiv 91/414/EEC) medfører betydelige bruksbegrensinger for GA, og herbicidet er kun tillatt anvendt i epleplantasjer (skjermet sprøyting).

Glufosinat-ammonium er lite giftig for fugler, bier, meitemark og andre jordorganismer, og EFSA konkluderer med at risikoen er lav for disse organismene (EFSA 2005). Stoffet er vist å være giftig for pattedyr, men EFSA vil ikke konkludere hvilken risiko dette innebærer for ville pattedyr før nyere data er gjennomgått. Glufosinat-ammonium har, til forskjell fra dagens godkjente midler i mais, helseklassifisering for både akutte og kroniske skadevirkninger (fareklasse T – giftig). Virkestoffet klassifiseres som farlig ved innånding, hudkontakt og svelging, og kan gi alvorlig helsefare ved lengre tids eksponering ved innånding og svelging. I tillegg er det rapportert at stoffet kan skade forplantingsevnen og ansees som en mulig risikofaktor for fosterskade. I følge EFSA vil bruk av glufosinat-ammonium i transgen mais føre til eksponeringer som overstiger akseptabel eksponeringsgrense (AOEL) for sprøytemannskap, også ved bruk av verneutstyr. Ved vurdering av søknader om godkjenning av preparater som inneholder virkestoffet glufosinat-ammonium i andre bruksområder enn frukthager, skal medlemslandene ta særlig hensyn til en rekke kriterier definert i Art. 4 (1)(b) i direktivet.

I Norge ble glufosinat sist vurdert av Rådet for plantevernmidler i 2004. Endelig vedtak om fornyet godkjenning ble imidlertid utsatt i påvente av endelig klassifisering i EU, og det ble gitt en midlertidig godkjenning fram til 30.06.2007. Mattilsynet vil i nær framtid vurdere bruksområder og godkjenning av GA i Norge. Konklusjonen når det gjelder tillatt bruksområde for stoffet vil trolig bli tilsvarende som i EU (M.Skuterud, Mattilsynet, pers. komm.). Helse- og miljørisikovurderinger som grunnlag for Mattilsynets behandling foretas av VKM.

Da glufosinat-ammonium per i dag ikke er godkjent for bruk i mais, verken i Norge eller EU, er miljørisiko knyttet til dyrking av T25 med bruk av dette herbicidet vurdert i henhold til oppdrag fra DN.

I Norge er herbicidene pyridat (kontaktvirkende bladherbicid), klopuralid (systemisk herbicid) og tifensulfuron-metyl godkjent for bruk mot ugras i maiskulturer (<http://www.plantevernguiden.no>; M. Skuterud, Mattilsynet, pers. komm).

5. Agronomiske egenskaper, G x E- samspill

En rekke kommersielle innavla linjer er tilbakekrysset med T25, og disse er testet i felt med ikke-transgene isogene linjer. Søker opplyser at det er gjennomført feltforsøk med T25 og avkomstlinjer i USA (fra 1992), Frankrike (fra 1992), Tyskland (fra 1994), Italia (fra 1994), Storbritannia (fra 1995) og Ungarn (fra 1999). Formålet med de fleste av forsøkene har vært å teste herbicidtoleranse under ulike sprøyteregimer og ulike konsentrasjoner av GA. I tillegg er det foretatt registreringer av reproduksjonsegenskaper, morfologi, agronomiske karakterer og resistens mot sjukdommer og skadedyr i noen av disse forsøkene.

Feltforsøk på 4 ulike lokaliteter i Frankrike viste ingen signifikante forskjeller i plantehøyde, avling og kolbestørrelse mellom T25 og kontrollinjene. På to av forsøksstedene ble det registrert noe tidligere blomstring hos kontrollinjene. I søknad fra 1996 presenteres også resultater fra en undersøkelse av spireprosent (i form av gjennomsnitt og st.avvik). Spiretestene, som ble gjennomført på to lokaliteter i USA i 1994, viste ingen forskjeller mellom den transgene maislinjen og kontrollinjer. Søker konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at det er forskjeller mellom den transgene maislinjen og

kontrollsorter med hensyn på frøkvile og evne til overlevelse i miljøet. Det er ikke foretatt registreringer av overvintring eller spiring i felt, men forsøksfeltene ble overvåket mhp oppspiring av spillfrø og forekomst av spillplanter. I følge søker ble det ikke funnet forskjeller med konvensjonelle linjer mhp frekvens av spillplanter.

Forsøk fra 1993-1995 viser ingen genotype x miljø-samspill for de undersøkte karakterene.

Avledete hybridsorter av T25 har inngått i offisielle sortsprøvinger i en rekke europeiske land i perioden 1999 til 2002. Det er ikke påvist forskjeller i agronomiske karakterer mellom disse hybridsortene og ikke-transgene kontrollsorter.

Maislinjen har vært kommersielt dyrket i en rekke land siden 1995, og en kan derfor anta at eventuelle uventede pleiotropiske effekter, manifestert gjennom endringer i mottagelighet for sjukdommer og skadedyr, morfologiske og utviklingsmessige endringer eller gjennom endret respons på dyrkingsmessige regimer er blitt identifisert gjennom denne perioden. Ikke-intenderte endringer kan også først komme til syne ved spesifikke genotype x miljø-samspill.

6. Potensiale for ikke intenderte 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. Fôrmais, brukt som surfôr, dominerer maisdyrkingen i Norge og kolbene høstes før frømodning.

Maisfrø stiller store krav til spiretemperatur, har ingen frøkvile og frøplantene er svært sensitive for lave temperaturer. Under våre dyrkingsforhold er det derfor små muligheter for oppspiring og vekst av eventuelle spillfrø. I sørlige områder med milde vintre kan spillfrø overleve og spire påfølgende vekstsesong, men arten er ikke persistent og utvikler 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 og 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 (Bodet et al. 1994). Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med (OECD 2003).

Med unntak av toleranse overfor glufosinat-ammonium er det ikke påvist signifikante forskjeller mellom maislinjen T25 og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn med hensyn på karakterer knyttet til reproduksjon og vegetativ vekst i feltforsøk i USA og Europa. Herbicidresistens kan bare betraktes å ha selektive fordeler hvor og når glufosatholdige herbicider anvendes, dvs. hovedsakelig på dyrket mark. Spredning av mais til andre habitater i Europa er hovedsakelig begrenset av dårlig konkurranseevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sjukdom og liten toleranse for lave temperaturer. Siden det ikke er påvist forskjeller mellom den transgene maislinjen og konvensjonelle sorter for disse karakterene er det ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen hos T25 og avkomstlinjer medfører økt risiko for utvikling av ugraspopulasjoner av mais i dyrkingsmiljø eller invasjon av naturlige habitater i forhold til konvensjonelle maissorter.

7. 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 den transgene sorten. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA.

Siden mais ikke har viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, vil vertikal genoverføring være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter. I tillegg vil utilsiktet innblanding av genmodifisert materiale i såvare representere en mulig spredningsvei for transgener mellom ulike dyrkingssystemer. Risiko for pollenspredning fra spillplanter vil være helt marginal under norske dyrkingsbetingelser. Alle varieteter av mais som produseres i Europa er innbyrdes fertile.

7.1. Horisontal genoverføring

Data fra tilgjengelige eksperimentelle studier viser at genoverføring fra transgene planter til bakterier etter all sannsynlighet inntreffer svært sjelden under naturlige forhold, og at denne overføringen forutsetter sekvenshomologi mellom overført DNA og bakterien (EFSA 2004b; VKM 2005).

Ut fra dagens vitenskapelig innsikt mht barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer, dyr eller mennesker gjennom inntak eller eksponering, er det ingenting som tyder på at transgenene i T25 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere dvs. annen dyrket mais i Europa. Det er blant annet gjort forsøk som ser på stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen hvor mus er oralt tilført M13 DNA. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter føring. Svært 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 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 GM DNA i feces. Nielsen et al. (2000) og De Vries og Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det detektert svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien.

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av *Pat*-genet og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra T25 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr. Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil skje horisontal genoverføring av DNA-materiale fra T25.

7.2. Vertikal genoverføring

Det finnes en omfattende litteratur på pollenmigrering og utkryssing i mais, både mellom konvensjonelle sorter, og mellom transgene og konvensjonelle sorter. Betydelige metodiske forskjeller mellom studiene og påvirkning av ulike miljøfaktorer gjør imidlertid sammenligning av forskningsresultater vanskelig. I tillegg til direkte målinger av pollenkonsentrasjon i ulike avstander fra pollenkilden, er det benyttet ulike kvalitative og kvantitative metoder til å estimere faktisk

utkryssing (fenotypiske markører, proteinanalyse, molekylære markører, kvantitativ DNA-analyse) (Devos et al. 2005). På bakgrunn av empiriske data har det de seinere årene vært utviklet matematiske modeller for simulering av potensialet for utkryssing under ulike betingelser.

Omfanget av utkryssing mellom sorter vil avhenge av en rekke parametere som avstand, topografi og vegetasjon mellom donor- og mottakerpopulasjonene, i tillegg til relativ størrelse, utforming og orientering av dyrkingsfeltene. Størrelsen på henholdsvis donor- og mottakerfeltet vil ha betydning for mengde konkurrerende pollen og dermed faktisk utkryssing (Ingram 2000; Devos et al. 2005). Tilsvarende vil en buffersone med samme landbruksvekst produsere konkurrerende pollen, i tillegg til å være en fysisk hindring for vindspredt pollen mellom feltene, og redusere innkryssingsrater effektivt. Graden av utkryssing vil også avhenge av hvordan resipientfeltet er utformet. Forsøk har vist at avlange og grunne dyrkingsfelt gir betydelig høyere utkryssingsfrekvenser sammenlignet med smale og dype felt med samme areal.

Utkryssingsfrekvensene påvirkes også av pollenets vitalitet og levedyktighet, størrelsen på reproduksjonsapparatet (pollenproduksjon og utvikling av hunnblomst), synkronitet mellom pollendonor og pollenmottaker, samt klimatiske forhold som temperatur, vindstyrke, vindretning og nedbør (Sanvido et al. 2007). I tillegg må en ta i betraktning tiltenkt bruksområde ved vurdering av graden av utkryssing. Når det gjelder fôrmais høstes normalt hele planten og vegetativt vev som ikke påvirkes av krysspollineringen, vil utgjøre en stor del av avlingen (avhengig av sort og modningsnivå).

Mais er primært en fremmedbefruktende art med vindspredning av pollenet, og under normale forhold er frekvensen av sjølpollinering under 5 prosent (Eastham og Sweet 2002). Pollenspredningen foregår normalt over 5-8 dager, med et variasjonsområde på 2-14 dager. Pollenets levedyktighet varierer imidlertid sterkt med miljøforholdene. Normalt er pollenet spiredyktig i om lag 24 timer, men ved lave temperaturer og høy relativ luftfuktighet er det registrert levedyktig pollen opp til 9 dager etter frigjøring (Emberlin et al. 1999). Under norske forhold kan en derfor forvente at maispollen gjennomsnittlig har lengre levetid enn det som ligger til grunn for de fleste studiene som er gjort av utkryssing i mais.

Som hos andre vindbestøvede arter vil pollenspredningen hos mais følge en leptokurtisk fordeling, der det aller meste av pollenet avsettes i relativ kort avstand fra pollenkilden. Det er registrert pollinering mellom maissorter opp til 800 meter, men pollenkornene hos mais er store og relativt tunge, og de fleste undersøkelser av spredningsmønsteret hos denne arten viser at det aller meste av pollenet (90-98 %) avsettes innen 10 til 30 m fra donorplantene (Halsey et al. 2005; Brookes et al. 2004). Devos et al. (2005) har gjennomgått en rekke forsøksresultater fra ulike studier av genspredning i mais. I undersøkelsene er det benyttet ulike metodikk for å estimere faktisk utkryssing i felt. I tillegg er det inkludert to matematiske modeller som simulerer effekter av dyrkingsavstand på utkryssing (MAPOD, SCIMAC). Oversikten viser at ved isolasjonsavstander på 300 m lå utkryssingsfrekvensene mellom 0 og 0,5 %. Når avstanden mellom donor- og mottagerplanter var henholdsvis 200 og 100 meter var frekvensene henholdsvis 0,3 -1,2 %, og 0-1 %. Ved avstander under 50 meter ble det registrert utkryssingsfrekvenser mellom 0,26 og 1 %.

I en nylig publisert studie har Sanvido et al. (2007) vurdert en rekke undersøkelser av utkryssing i mais, og foreslått relevante kriterier for evaluering av slike studier med hensyn på definere vitenskapelig baserte isolasjonsavstander. Kriteriene for evaluering omfatter både biologiske og fysiske parametere, samt relevante dyrkingsbetingelser. Med utgangspunkt i EUs gjeldende terskelverdi for utilsiktet og teknisk uunngåelig innblanding på 0,9 % i mat og fôr, har gruppen foreslått isolasjonsavstander på 20 og 50 m for henholdsvis fôr- og sukkermais.

I utkast til norsk regelverk for sameksistens er det foreslått et krav om minimum 200 meter avstandsisolering mellom dyrkingsareal med henholdsvis transgen og konvensjonell/økologisk mais. Faggruppe for genmodifiserte organismer har tidligere uttalt at foreslått dyrkingsavstand på 200 meter gir en tilstrekkelig sikkerhetsmargin, og anser at det er svært liten sannsynlighet for at den prosentvise innblandingen av transgener vil overstige 1 % med dette tiltaket (VKM 2006). Generelt anser

faggruppen at det under slike forutsetninger er mer sannsynlig at den prosentvise innblandingen vil være under 0,3 % enn i intervallet 0,3 til 1,0 %. Det understrekes imidlertid at dette avhenger av forhold som dyrkingsfeltenes relative størrelse og utforming, samt eventuelle bufferzoner.

Feltforsøk viser ingen indikasjoner på at karakterer knyttet til overlevelse, reproduksjon og spredning er endret hos T25 i forhold til ikke-transgene linjer. Pollenproduksjon og pollenets levedyktighet forventes ikke å påvirkes av genmodifikasjonen. Det er derfor ikke sannsynlig at utkryssingsfrekvensene til andre sorter vil være forskjellig fra konvensjonelle sorter.

Herbicidtoleranse vil ikke representere noen selektiv fordel for spredning av mais i Europa. Overlevelse hos mais er hovedsaklig begrenset av manglende frøkvile, mottakelighet for soppsjukdommer og liten frosttoleranse. Som for konvensjonelle sorter er det ingenting som tilsier at eventuelle spillplanter vil overleve til neste vekstsesong eller etablere uønskede populasjoner under våre dyrkingsforhold.

8. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser

I følge søker er det ikke observert umiddelbare og/eller forsinkede effekter på bio-geokjemiske prosesser som følge av potensielle direkte og indirekte vekselvirkninger mellom T25 og ikke-målorganismer i nærheten av utsettingsstedet.

Det er publisert få studier som er relatert til effekter av herbicidresistente planter på jordlevende organismer og jordmiljø. Som et ledd i EU-prosjektet ECOGEN har Krogh et al (2007) undersøkt mulige virkninger av redusert jordarbeiding på populasjoner av meitemark i dyrkingssystemer med henholdsvis GA-tolerant mais og konvensjonelle maissorter. Studien, som kun ble foretatt på en lokalitet i Danmark i 2004 og 2005, viste signifikante reduksjoner i antall og biomasse av meitemark i plot med herbicidresistent mais sammenlignet med ikke-transgen mais. Effektene ble tilskrevet eksponering for herbicidet Basta. Det ble ikke funnet noe entydig mønster med hensyn på effekter av jordbearbeiding på ulike arter av meitemark. I nevnte ECOGEN-prosjekt er det også vist små forskjeller mellom dyrkingssystemer med hensyn på effekter på mikrobiell samfunnsstruktur (Griffiths et al 2007). Størst effekt på jordpopulasjoner var knyttet til ulik jordarbeiding. Holland (2004) konkluderer at både mikroorganismer, meso- og makrofauna blir stimulert av redusert jordarbeiding.

Mesteparten av PAT-proteinet vil denatureres av enzymaktivitet i fordøyelseskanalen og mikrobielle prosesser vil føre til en ytterligere nedbryting av proteiner i gjødsla. Dette medfører at svært lite PAT-proteiner blir spredt med husdyrgjødsel på dyrket mark, som igjen minimerer faren for eksponering av potensielt sensitive ikke-målorganismer.

9. Potensiale for effekter på agroøkologiske forhold, dyrkingspraksis etc.

Dyrkingspraksis

Mais er en kultur som må dyrkes med stor radavstand, og med stor avstand mellom planter i raden for å oppnå skikkelig utvikling. Maisplantene vokser seint i starten og er lite konkurransedyktig overfor ugras. Ugrasbekjempelse er derfor helt påkrevet.

I henhold til opplysningene fra søker vil introduksjon av glufosinattolerante planter åpne for en mer fleksibel ugrasbekjempelse der dyrkerne kan velge sprøytetidspunkt mer uavhengig av vekstens utviklingstrinn. Ved konvensjonell bruk av selektive herbicider er det snakk om gradforskjeller i toleranse mellom kulturplanten og ugras, og sprøyting blir utført når kulturplantene er tilstrekkelig utviklet til å tåle herbicidet, ikke nødvendigvis når ugraset er mest følsomt. I følge søker gir dette

mulighet for en mer målrettet bruk med seinere sprøyting, færre behandlinger og redusert jordarbeiding sammenlignet med konvensjonell dyrkingspraksis. Det hevdes også at bruk av den herbicidtolerante eventen medfører redusert bruk av persistente jordherbicer, og overgang til bladherbicer med kortere nedbrytningstid i jord, mindre lekkasje til grunnvann, og lav toksisitet for ikke-målorganismer. I søknad fra 2007 refereres det til undersøkelser av Phipps og Parks (2002), som har sammenlignet bruk av herbicer i standard sprøyteprogram i henholdsvis Storbritannia og EU for øvrig med dyrking av herbicidresistente maissorter (glyfosat og glufosinat). Resultatene av disse undersøkelsene viste en reduksjon i bruk av aktivt stoff på totredjedeler i dyrkingsfelt med herbicidresistente sorter sammenlignet med konvensjonell dyrking. Sammenligningen er blant annet gjort med atrazin, et persistent jordherbicid som har vært mye brukt i mais i UK, men som ble totalforbudt i EU i 2004 (Kommisjonsbeslutning 2004/248/EF). Undersøkelser av Brookes og Barfoot (2005) viser også små, men signifikante reduksjoner i bruk av herbicer i mais i USA og Canada. En ISAAA-rapport fra 2006 (www.isaaa.org) hevder at endret dyrkingspraksis ved introduksjon av glufosinatresistente maissorter har ført til færre sprøytinger og mindre jordarbeiding, med tilhørende redusert bruk av landbruksmaskiner, redusert utslipp av CO₂ og bedret økonomi for dyrkerne. Andre publiserte studier dokumenterer derimot økt bruk av sprøytemidler ved bruk av herbicidresistente sorter (Benbrook 2001, 2003). Det er imidlertid store variasjoner mellom kulturer og regioner, noe som gjør at det er vanskelig å trekke klare konklusjoner. Etter det faggruppen kjenner til er det ikke foretatt sammenligninger av dyrkingsregimer med GA-tolerante maislinjer og konvensjonell produksjon med relevante herbicer for norske dyrkingsforhold.

Biodiversitet

Når det gjelder effekter av herbicidtolerante planter på biodiversiteten i jordbruksarealer er det bekymring knyttet til at ugraskontrollen med bredspektrede herbicer skal bli så effektiv at det vil medføre nedgang i antall arter som lever i og omkring dyrkingsarealer på lengre sikt (Heard et al. 2005). I fornyet søknad fra 2007 hevder søker at dyrking av GA-resistent mais vil ha positiv effekt på biodiversiteten i landbrukshabitater sammenlignet med konvensjonelle dyrkingssystemer. Dette relateres til utsatt og redusert herbicidbruk og større tetthet av ugras i store deler av vekstsesongen. I søknaden refereres det til en omfattende undersøkelse fra Storbritannia (Farm Scale Evaluations (FSE)), der ulike biodiversitetsindikatorer i dyrkingsfelt med henholdsvis transgene sorter og konvensjonelt dyrkede sorter av fôrmais, sukkerbete og oljeraps ble evaluert. Studien pågikk i perioden 2000-2003, og for hver art ble tetthet og spekter av ugrasarter og evertebrater undersøkt i om lag 60 ulike forsøksfelt. Registreringene ble foretatt både på landbruksarealer og omkringliggende arealer. Ved bruk av herbicidprogrammer med glufosinat-ammonium ble det påvist redusert antall og biomasse av tofrøbladete ugras på arealer med transgen oljeraps og sukkerbete, mens det for mais ble påvist en økning sammenlignet med konvensjonell dyrkingspraksis. Det ble ikke funnet signifikante effekter av behandling på botanisk diversitet eller frøbank i forsøksfeltene med mais (Heard et al. 2003). Det ble heller ikke rapportert om effekter av ulike dyrkingssystemer på vegetasjonen i randsonene til dyrkingsfeltene (Roy et al 2003).

Populasjonene av ulike herbivorer, saprofager, pollinatorer, predatorer og parasitoider som ble studert viste seg å være mer influert av årstid og kultur enn dyrkingsregime (Hawes et al. 2003). Individtallet av flere grupper av evertebrater økte 2-5 ganger mellom for- og seinsommer. Tettheten av spretthaler (*Collembola*) var imidlertid gjennomgående høyere i felt med herbicidresistente sorter sammenlignet med konvensjonelle dyrkingsfelt (Brooks et al 2003; Haugthon et al 2003). Dette ble relatert til større mengde organisk materiale. Som et resultat av færre blomstrende ugras ble det påvist reduksjoner i forekomst av sommerfugler og bier i sukkerbete og raps, mens det i maisfelt ble registrert et større antall evertebrater generelt. Det ble ikke påvist forskjeller i forekomsten av sommerfuglarter i randsonene av herbicidresistente maisfelt sammenlignet med forsøksfelt med konvensjonelle dyrking. Forfatterne bak FSE-undersøkelsen konkluderer med at forskjellene som ble avdekket i denne studien ikke er relatert til introduksjon av transgene planter, men til effekter av ulike sprøytestrategier mellom herbicidresistente sorter og konvensjonell dyrking.

I FSE-studien ble GA-tolerant mais sammenlignet med konvensjonelle sorter som i 75 % av forsøksfeltene ble behandlet med atrazin. Herbicidet er svært toksisk for evertebrater, og forfatterne

har ikke vurdert effekter av forskjeller i toksisitet mellom herbicidene. Etter det faggruppen kjenner til er det ikke foretatt tilsvarende studier med dagens godkjente herbicider. Det hevdes imidlertid i en seinere studie at den komparative fordelene på biodiversitet vil reduseres, men ikke elimineres (Perry et al 2004).

Resistensutvikling

Økt bruk av enkelte herbicider som følge av dyrking av herbicidresistente planter kan medføre økt seleksjonsintensitet og økt mulighet for resistensutvikling i ugraspopulasjoner. Utviklingen av herbicidresistens i planter påvirkes primært av seleksjonsintensitet (i form av herbicidets virkemåte, dosering og persistens, sprøytehyppighet), dyrkingspraksis og vekstskifte, ugrasartenes generasjonstid, genetiske faktorer og relativ fitness hos resistente og følsomme genotyper (Rognli 1994). Det er ikke funnet resistens mot glufosinat-ammonium i ugraspopulasjoner til nå, men det er påvist lavere sensitivitet hos enkelte arter av *Viola*, *Equisetum*, *Sedum* m.fl. (ref. Scütt et al. 2004).

I følge Sanvido et al. (2005) viser tilgjengelige data fra områder der det har vært dyrket herbicidresistente planter over lengre tid at resistensutvikling generelt ikke er knyttet til introduksjon av transgene sorter, men til agronomisk praksis.

10. Miljøovervåkingsplan

Formålet med overvåkingsplanen er å bekrefte at alle antagelser som gjelder forekomst og omfang av potensielle skadevirkninger av den genmodifiserte organismene eller bruken av den er korrekt (Direktiv 2001/18/EF, annekse VII). Videre skal den identifisere forekomsten av skadevirkninger på menneskers helse eller miljøet som skyldes den genmodifiserte organismen eller bruken av den, og som ikke ble forutsett i miljørisikovurderingen.

Strukturen på overvåkingsplanen som er presentert i ny søknad fra 2007 er i overensstemmelse med kravene definert i norsk forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, direktiv 2001/18/EF med retningslinjer (vedlegg VII), nedfelt i EFSA's retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter ("Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed"). Overvåkingsplanen omfatter særskilt og generell overvåking, og beskriver mål, ansvar, informasjonsflyt og overvåkingsmetoder.

10.1 Samspill mellom miljørisikovurdering og overvåkingsplan

Miljørisikovurderingen som er presentert av søker identifiserer ingen risiko knyttet til introduksjon av *Pat*-genet eller til dyrkingsregimet med den herbicidtolerante maislinjen. Søker har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohandtering eller en særskilt plan for overvåking av denne eventen.

For at overvåkingsplanen skal være i tråd med gjeldene regelverk er det etter faggruppens vurdering nødvendig å evaluere kort- og langtidseffekter av dyrkingspraksis som omfatter bruk av relevant herbicid. Dette gjelder både effekter av endret jordarbeiding og av direkte og indirekte effekter av sprøyeregimet. Det er nødvendig å overvåke effekter av herbicidtolerante planter på biodiversiteten i landbrukshabitater og omkringliggende arealer. Dette gjelder både effekter på ugraspopulasjoner og arter av som lever på eller i tilknytning til dyrkingsarealer. Videre må overvåkingsplanen ta i betraktning risiko for resistensutvikling hos ugrasarter som resultat av økt bruk av bredspektrede herbicider. Særskilt overvåking skal utføres over en tidsperiode som er tilstrekkelig lang til at så vel umiddelbare og direkte virkninger som forsinkede og indirekte virkninger kan oppdages.

10.2 Generell overvåking av effekter av maislinjen T25

Målet med den generelle overvåkingen er å identifisere uforutsette negative effekter av den transgene planten eller bruken av den som ikke var forutsett i risikovurderingen.

I følge søkers overvåkingsplan vil den primære kilden for informasjon vedrørende uforutsette effekter vil være planteprodusenter, importører og næringsmiddel- og fôrindustrien. I forbindelse med søknad om fornyet godkjenning i EU vil Bayer CropScience informere stakeholders, inkludert bønder og deres organisasjoner, frøfirma, importører og industrien om at produktet er i markedet, og be disse rapportere eventuelle uforutsette negative effekter på helse og miljø. Søker vil også kontakte en rekke dyrkere med erfaring med T25mais og oppfordre disse om å delta i regulære miljøundersøkelser ('Farmer questionnaires'). Data fra produsentene vil bli innsamlet og analysert, og inngå i årlige overvåkingsrapporter. Det fremheves videre at Bayer CropScience aktivt vil overvåke informasjonskilder som offisielle websider, publiserte rapporter m.m. og følge opp potensielle observasjoner av forhold som kan ha effekter på human- eller dyrehelse, eller økologiske effekter av utsetting av maislinjen. Overvåkingsplanen inneholder også tiltak for å oppfylle kravene i forordning 1830/2003/EF angående sporbarhet og merking.

10.3 Rapportering

Søker oppgir at det vil bli publisert årlige rapporter om resultatene av overvåkingsplanen basert på informasjon fra medvirkede aktører. Når det gjelder bekreftet informasjon om skadelige effekter som endrer den eksisterende miljørisikovurderingen, skal søker utarbeide en rapport til EU-Kommisjonen med en vitenskapelig vurdering av uventede negative effekter og en konklusjon vedrørende risiko forbundet med produktet. Rapporten skal, hvis det er formålstjenelig, også inneholde nødvendige tiltak for å hindre ytterligere negative effekter på miljø og helse.

KONKLUSJON

Den genmodifiserte maislinjen T25 uttrykker ett *Pat*-gen som gjør at disse maisplantene kan tolerere høyere doser av sprøytemiddelet glufosinat ammonium sammenlignet med konkurrerende ugras. Glufosinat er per i dag ikke godkjent for bruk i mais, verken i Norge eller EU. En fullstendig miljørisikovurdering knyttet til dyrking av T25 med bruk av dette herbicidet er derfor ikke foretatt.

Med unntak for den introduserte egenskapen er ikke T25 forskjellig fra konvensjonelle maislinjer med hensyn på karakterer knyttet til overlevelse, reproduksjon og spredning. Det vurderes ikke å være økt risiko for utvikling av ugraspopulasjoner av mais i dyrkingsmiljø eller spredning og etablering utenfor dyrking. Det er ingen viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med, og vertikal genoverføring vil være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter. I tillegg vil utilsiktet innblanding av genmodifisert materiale i såvare representere en mulig spredningsvei for transgener mellom ulike dyrkingsystemer.

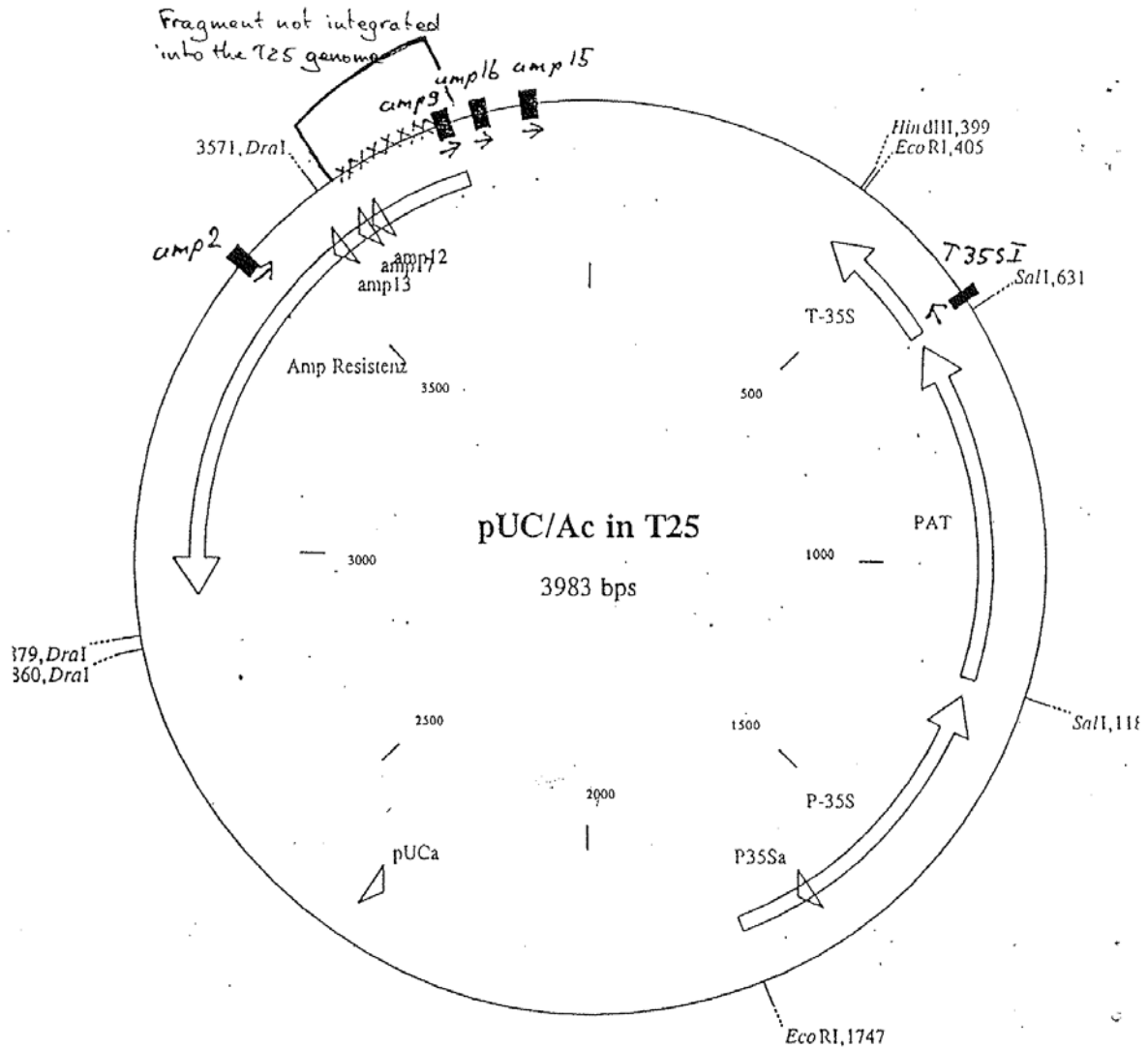
Undersøkelser av biodiversitet på arealer med herbicidresistent transgen mais tyder ikke på negative effekter sammenlignet med konvensjonell dyrkingspraksis.

Samlet vurdering

Faggruppen finner det lite trolig at bruk av maislinjen T25 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais.

TILLEGG

Fig av vektorplasmidet i opprinnelig søknad (scannet kopi av søknad har kuttet bort deler av posisjonene, så vi tar forbehold om at denne ikke kan bekrefte posisjonene i oversikt over), med merket deletert område av *AmpR* genet:



REFERANSER

- Bakken AK, Nesheim L, Harbo O, Johansen A & Wikmark T (2005) Potensial for dyrking av fôrmais i Norge. Grønn kunnskap 9 (106):1-6.
- Benbrook C (2001) Do GM crops mean less pesticide use? Pesticide Outlook 204-2007.
- Benbrook C (2001) Impacts of genetically engineered crops on pesticide use in the United States: the first eight years. BioTech InfoNet.
- Brookes G, Barfoot P, Mele E, Messeguer J, Benetrix D, Foueillassar X, Fabie A & Poeydomenge C (2004) Genetically Modified Maize: Pollen movement and crop coexistence PG Economics.
- Brookes G & Barfoot P (2005) GM crops: the global economic and environmental impact- the first nine years 1996-2004. AgBioForum 8: 187-196.
- Brooks DR, Bohan DA, Champion GT, Haugton AJ, Hawes C, heard MS, Clark SJ, Dewar AM, Firbank LG, Perry JN, Rothery P, Scott RJ, Woiod IP, Birchall C, Skellern MP, Walker JH, baker P, Bell D, Browne EL, Dewar AJG, Fairfax CM, Garner BH, Haylock LA, Horne SL, Hulmes SE, Mason NS, Norton LR, Nuttall P, Randle Z, Rossall MJ, Sands RJN, Singer EJ & Walker MJ (2003) Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I Soil-surface-active invertebrates. Phil Trans Royal Soc Lond Series B- Biolog Sci 358: 1847-1862.
- Collonnier C, Schattner A, Berthier G, Boyer F, Coue-Philippe G, Diolez A, Duplan M-N, Fernandez S & Kebdani N (2005) Characterization and event specific-detection by quantitative Real-Time PCR of T25 Maize insert. J AOAC Int. 88:536-546.
- de Vries J & Wackernagel W. (2002) Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. Proc Natl Acad Sci U S A. 99(4):2094-2099.
- Devos Y, Reheul D & De Schrijver A (2005) The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. Environ. Biosafety Res. 4:71-87.
- Eastham K & Sweet J (2002) Genetically modified organisms (GMO): The significance of gene flow through pollen transfer. Environmental issue report. No 28. European Environment Agency (EEA), Copenhagen. http://reports.eea.eu.int/environmental_issue_report_2002_28/en
- Eckes P (1994) Transcription of the bacterial Ampicillin resistance gene in Glyphosate tolerant maize lines T14 and T25. Report/Study AgrEvo No Ec94.01. 5p.
- Eckes P, Vijtewaal B & Donn G (1989) Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants. J Cellular Biochem Suppl. 13D:334.
- Eckes P nov. 1994 konfidensiell gjennomgang av *Pat* sekvensen er vedlagt i tilleggsinformasjon, ikke refererbar.
- EFSA (2004a) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Austrian invoke of Article 23 of Directive 2001/18/EC. The EFSA Journal 78: 1-13.
http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/507/opinion_gmo_safeguard_clauses_austria_en1.pdf

- EFSA (2004b) 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 (2005) Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glufosinate. Summary of the EFSA Scientific Report (2005) 27: 1-81. 5 s.
- EFSA (2006a) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to genetically modified crops (Bt176 maize, T25 maize, Topas 19/2 oilseed rape and Ms1xRf1 oilseed rape) subject to safeguard clauses invoked according to Article 16 of Directive 90/220/EEC. The EFSA Journal 338: 1-5. http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/gmo_opinions/1439.Par.0002.File.dat/gmo-op-ej338-safeguard-clauses_en1.pdf
- EFSA (2006b) Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. 100 s. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html
- Emberlin J, Adams-Groom B & Tidmarsh J (1999) The dispersal of maize (*Zea mays*) pollen. A report commissioned by the Soil Association: A National Pollen Research Unit, University College Worcester, UK.
- Fraley RT, Rogers SG, Horsch RB, Sanders PR, Flick JS, Adams SP, Bittner ML, Brand LA, Fink CL, Fry JS, Galluppi GR, Goldberg SB, Hoffmann NL & Woo SC (1983) Expression of bacterial genes in plant cells PNAS:4803-4807.
- Franck A, Guilley H, Jonard G, Richards K & Hirth L (1980) Nucleotide sequence of Cauliflower mosaic virus DNA. Cell 21:285-294.
- Griffiths BS, Caul S, Thompson J, Birch, Cortet J, Andersen MN & Krogh PH (2007) Microbial and microfaunal community structure in cropping systems with genetically modified plants. Pedobiologia 51: 195-206.
- Hallauer AR (2000) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Halsey ME, Remund KM, Davis CA, Qualls M, Eppard PJ & Berberich S (2005) Isolation of Maize from Pollen-Mediated gene Flow by Time and Distance Crop Science 45: 2172-2185.
- Hara O, Murakami T, Imai S, Anzai H, Itoh R, Kumada Y, Takano E, Satoh E, Satoh A, Nagaoka K & Thompson C (1991) The bialaphos biosynthetic genes of *Streptomyces viridochromogenes*: cloning, heterospecific expression, and comparison with the genes of *Streptomyces hygroscopicus*. J Gen Microb 137:351-359.
- Haughton AJ, Champion GT, Hawes C, Heard MS, Brooks DR, Bohan DA, Clark SJ, Dewar AM, Firbank LG, Osborne JL, Perry JN, Rothery P, Roy DB, Scott RJ, Woiwod IP, Birchall C, Skellern MP, Walker JH, Baker P, Browne EL, Dewar AJG, Garner BH, Haylock LA, Horne SL, Mason NS, Sands RJN & Walker MJ (2003) Invertebrate response to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops II. Within-field epigeal and areal arthropods. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences 358: 1899-1913
- Hawes C, Haughton AJ, Osborne JL, Roy DB et al. (2003) Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically

- modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences* 358: 1863-1877.
- Heard MS, Hawes C, Champion GT, Clark SJ, Firbank LG, Haughton AJ, Parish AM, Perry JN, Rothery, P, Scott RJ, Skellern MP, Squire GR & Hill MO (2003) Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Phil Trans R Soc Land* 358: 1819-1832.
- Heard MS, Rothery P, Perry JN & Firbank LG (2005) Predicting longer-term changes in weed populations under GMHT crop management. *Weed Research* 45:331-338.
- Herrera-Estrella L, Depicker A, VanMontagu M & Schell J (1983) Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector *Nature* 303:209-213.
- Holland JM (2004) The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe: reviewing the evidence. *Agric Ecosyst Environ* 103: 1-25.
- Ingram J (2000) Report on the separation distances required to ensure cross-pollination is below specific limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape. MAFF Project No RG0123
- Kohli A, Leech M, Vain P, Lauri DA & Christou P (1998) Transgene organization in rice engineered through direct DNA transfer supports a two-phase integration mechanism mediated by the establishment of integration hot spots. *PNAS* 95:7203-7208.
- Krogh PH, Griffiths B, Demsar D, Bohanec M, Debeljak M, Andersen MA, Sausse C, Birch ANE, Caul, S, Holmstrup M, Heckmann LH & Cortet J (2007) Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and *Bt* maize cropping systems. *Pedobiologia* 51: 219-227.
- Lid J & Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. 1230s.
- Mórocz S, Donn G, Németh J & Dudits D (1990) An improved system to obtain fertile regenerants via maize protoplasts isolated from a highly embryogenic suspension culture. *Theor Appl Genet* 80:721-726.
- 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. *Nat Biotechnol* 22(2):204-209.
- Nielsen KM., van Elsas JD & Smalla K (2000). Transformation of *Acinetobacter* sp. 13(pFG4delta*nptII*) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Appl Environ Microbiol* 66: 1237-42.
- Nielsen KM (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)*, Vol. 1. pp. 96-149.
- Odell JT, Nagy F & Chua NH (1985) Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature* 313:810-812.
- 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.

- Perry JN, Firbank LG, Champion GT, Clark, SJ, Heard MS, May MJ, Hawes, C, Squire GR, Rothery P, Wolwod IP & Pidgeon JD (2004) Ban on triazin herbicides likely to reduce but not negate relative benefits of GMHT maize cropping. *Nature* 428: 313-316.
- Phipps RH & Park JR (2002) Environmental benefits of genetically modified crops: Global and European perspectives on their ability to reduce pesticide use. *Journal of Animal and Feed Science* 11: 1-18.
- Pietrzak M, Shillito DS, Hohn T & Potrykus I (1986) Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acid Research* 14:5857-5868.
- Rognli OA (1994) Økologisk risiko ved utsetting av genmodifiserte kulturplanter. *Faginfo* nr. 2 21: 81-197.
- Roy DB, Bohan, DA, Haughton AJ, Hill MO, Osborne JL, Clark SJ, Perry JN, Rothery P, Scott, RJ, Brooks DR, Champion, GT, Hawes C, Heard MS & Firbank LG (2003). Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subjected to constant herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil Trans R Soc Lond B* 358: 1879-1898.
- Sanvido O, Stark M. & Bigler F (2006) Ecological impacts of genetically modified crops. Experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. *ART-Schriftenreihe* 1. 1-84.
- Sanvido O, Widmer F, Winzeler M, Streit B, Szerencsits E & Bigler F (2007) Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. *TransgenicRes.* Online 12. juni 07. <http://www.springerlink.com/content/n561562061873351/>
- SCP (1998) Opinion of the Scientific Committee on Plants Regarding "Submission for Placing on the Market of Glufosinate Tolerant Corns (*Zea Mays*) Transformation Event T25" by the Agrido Company. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out04_en.html
- SCP (2001) Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the submission for placing on the market of glufosinate tolerant maize (*Zea mays*) transformation event T25 by the AgrEvo Company, now Aventis Crop Science (Notification C/F/95/12/07). SCP/GMO/299-Final.
- Schubbert GW, Lettmann C & Doerfler W (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice *Mol Gen Genet* 242:495-504.
- Schütt G, Stachow U. & Werner A (2004). Agronomic and environmental aspects of the cultivation of transgenic herbicide resistant plants. ISSN 0722-186x. 115 s.
- Strauch E, Wohlleben W & Pühler A (1993) Europäische Patentschrift In: Pflanzen wirksames Resistenzgen gegen Phosphinothricin und seine Verwendung. 30 pages M-209751-01-1.
- van Wert S (1994) Petition for determination of nonregulated status: Glufosinat resistant corn transformation event T14 and T25. 23 December 1994.
- 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. 62 s.

VKM (2006) Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer. Vurdering av foreslåtte virkemidler for sameksistens mellom genmodifiserte vekster og konvensjonelt/økologisk landbruk, og rangering av spredningsrisiko av transgener fra relevante genmodifiserte

VKM (2007). Vurdering av Avenis CropScience genmodifiserte mais T25 (C/F/95/12/07). 7 s.

Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hikkemann D, Strauch E & Puhler A (1988) Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70:25-73.

Yanisch-Perron C, Vieira J & Messing J (1985) Improved M13 phage cloning vectors and host strains: Nucleotide sequences of the M13 mp18 and pUC19 vectors. *Gene* 33:103-119.