



Vitenskapskomiteen for mattrygghet  
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

## **Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid MON863 x MON810 til mat, fôr, import og prosessering under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/DE/2004/03) og direktiv 2001/18/EF (C/DE/02/92)**

### **Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet**

Dato: 7. november 2013  
Dok. nr.: 13/318- endelig  
ISBN: 978-82-8259-112-6

**VKM Report 2013: 42**



## Bidragsyttere

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, Monica Sanden

### **Koordinatorer fra sekretariatet:**

Merethe Aasmo Finne, Arne Mikalsen, Ville Erling Sipinen

## Sammenheng

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 maishybriden MON863 x MON810 fra Monsanto Company ble godkjent til import og videreføring under EU-direktiv 2001/18/EF i 2006 (notifisering C/DE/02/92), og til bruk som mat og fôr under EU-forordning 1829/2003 i 2010 (søknad EFSA/GMO/DE/2004/03).

VKM har tidligere utført helse og miljørisikovurderinger for Mattilsynet og miljørisikovurderinger for Direktoratet for Naturforvaltning (nå Miljødirektoratet) av MON863 x MON810 (VKM 2005a, VKM 2009a, VKM 2009b, VKM 2012).

Helse- og miljørisikovurderingen av MON863 x MON810 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 med kravene i 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 2006a, 2010, 2011), og Organisasjonen for økonomisk samarbeid og utvikling (OECD) konsensusdokumenter for mais (OECD 2002, 2003) lagt til grunn for vurderingen.

Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosess og vektorkonstruksjon, karakterisering og nedarving av genkonstruksjonen(e), komparativ analyse av agronomiske og fenotypiske egenskaper, potensiale for utilsiktede effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

Den vitenskapelige risikovurderingen av MON863 x MON810 omfatter molekylær karakterisering av transformasjonsprosessen, vektorkonstruksjonen, genuttrykk, nedarving og stabilitet av transgenet, komparative analyser av agronomiske og fenotypiske egenskaper, næringsmessige vurderinger, toksikologi og allergenisitet, utilsiktede effekter, potensialet for genoverføring, fitness, effekter på målorganismer og ikke-målorganismer og biogeokjemiske prosesser.

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.

Maishybriden MON863 x MON810 er resultat av konvensjonelle kryssinger mellom foreldrelinjene MON863 og MON810.

Foreldrelinje MON863 er produsert ved biolistisk transformasjon av den innavlete maislinjen A634, og inneholder et modifisert *cry3Bb1*-gen fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* ssp. *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.

Foreldrelinje MON810 inneholder genet *cry1Ab* fra bakterien *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1. Genet koder for et  $\delta$ -endotoksin som gir resistens mot enkelte skadeinsekter i ordenen Lepidoptera, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og enkelte arter i slekten *Sesamia*.

### **Molekylær karakterisering**

Faggruppen vurderer karakteriseringen av de rekombinante DNA-innskuddene i mais MON863 x MON810, og de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringen av proteinene til å være tilfredsstillende. Southern blot -analyser indikerer at de innsatte strukturene nedarves stabilt, og at antall, struktur og organisering av disse genkonstruksjonene er ekvivalent med de som finnes i foreldrelinjene. Nivåene av Cry3Bb1- og Cry1Ab-proteiner både i vegetativt vev og frø er signifikant høyere i hybridene sammenlignet med konsentrasjonen av proteinene i de respektive foreldrelinjene. Faggruppen konkluderer med at nivåene er innenfor normalt variasjonsområde for foreldrelinjene, og har ikke identifisert noen risiko knyttet til det som framkommer av den molekylærbiologiske karakteriseringen av maishybriden.

### **Komparative analyser**

Det er påvist signifikante forskjeller mellom MON863 x MON810 og kontroll i analyserte ernæringsmessige komponenter men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

I henhold til søker er det foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sjukdommer og skadedyr hos maishybrid MON863 x MON810. Søker har imidlertid ikke presentert data fra disse forsøkene, men konkluderer med at det er agronomisk ekvivalens mellom hybridlinjen MON 863 x MON 810 og konvensjonelle sorter. Det vises også til at det har vært foretatt vurderinger av fenotypiske og agronomiske karakterer i foreldrelinjene MON 863 og MON 810 i felt på en rekke lokaliteter over flere vekstsesonger. Maislinjene MON863 og MON810 har dessuten vært i kommersiell produksjon siden henholdsvis 2003 og 1998, uten at det er påvist ikke-tilsiktete, pleiotrofe effekter på disse karakterene.

### **Helserisikovurdering**

Sub-kroniske fôringsstudier utført på rotter med både MON863 x MON810 og foreldrelinjene MON863 og MON810 har ikke indikert helseskadelige effekter av de genmodifiserte maisene. Videre viser fôringsstudier på broilere ernæringsmessig vesentlig likhet mellom foreldrelinjene, MON863 x MON810 og umodifiserte mais. I følge søkers dokumentasjon er det ingen likhetstrekk mellom Cry1Ab, Cry3Bb1 eller NPTII, og kjente toksiner eller IgE-allergener. Det er heller ikke dokumentert at noen av proteinene kan utløse 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 gnagere har ikke påvist toksiske effekter av Cry1Ab, Cry3Bb1 eller NPTII. Denne typen studier anses derimot ikke av VKMs faggruppe for GMO å gi ytterligere informasjon om mulige helseskadelige egenskaper ved mais MON863 x MON810.

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON863 x MON810 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 x MON810 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

### Antibiotikaresistens

Maislinjen MON863 x MON810 inneholder antibiotikasresistensmarkørgenet *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/02/92 og søknad EFSA/GMO/DE/2004/03 gjelder godkjenning av maislinje MON863 x MON810 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 foreskrevet bruk av maislinjen MON863 x MON810 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av patogene mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

### Samlet vurdering

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer har ikke identifisert toksiske eller endrede ernæringsmessige egenskaper ved maishybriden MON863 x MON810 eller prosesserte produkter avledet fra MON863 x MON810 sammenlignet med konvensjonell mais. Ut fra dagens kunnskap er det også lite trolig at Cry-proteinene vil øke det allergiske potensialet til mat/fôr produsert fra MON863 x MON810 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra MON863 x MON810 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 MON 863 x MON810 vil medføre endret risiko når det gjelder miljø sammenlignet med annen mais.

## Nøkkelord

Mais, *Zea mays* L., genmodifiserte maishybrid MON863 x MON810, C/DE/02/9,EFSA/GMO/DE/2004/03, insektsresistens, Cry3Bb1, Cry1Ab, NPTII, helse og miljørisiko, adjuvans, antibiotikaresistens, 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 <sub>1</sub> , BC <sub>2</sub> 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>
Cry1Ab	δ-endotoksin isolert fra jordbakterien <i>Bacillus thuringiensis</i> subspecies <i>kurstaki</i> . Toksinet gjør maisplante resistente mot angrep fra enkelte arter i ordenen <i>Lepidoptera</i> .
<i>cry3Bb1</i>	Gen fra <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i> .
Cry3Bb1	δ-endotoksin, som gir plantene resistens mot angrep fra 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-plasmid som er i jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmid (Transfer-DNA) overføres fra bakterien, og settes inn i plantecellenes kjernegenom. T-DNAet som overføres avgrenses av V (venstre) og H (høyre) flankesequenser, og begrenser derfor den delen av Ti-plasmid 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

<b>Bidragstere</b> .....	<b>2</b>
<b>Takk til</b> .....	<b>2</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Nøkkelord</b> .....	<b>5</b>
<b>Forkortelser og ordforklaringer</b> .....	<b>6</b>
<b>Innholdsfortegnelse</b> .....	<b>8</b>
<b>Bakgrunn</b> .....	<b>9</b>
<b>Oppdrag fra Mattilsynet</b> .....	<b>10</b>
<b>Risikovurdering</b> .....	<b>11</b>
<b>1 Innledning</b> .....	<b>11</b>
1.1 Beskrivelse av egenskaper og virkningsmekanismer .....	11
<b>2 Molekylær karakterisering</b> .....	<b>12</b>
2.1 Hybridproduksjon .....	12
2.2 Evaluering av foreldrelinjer .....	12
2.3 Hybriden MON863 x MON810 .....	16
2.4 Delkonklusjon .....	18
<b>3 Komparative analyser</b> .....	<b>19</b>
3.1 Valg av komparator og forsøksdesign.....	19
3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter .....	19
3.3 Agronomiske karakterer .....	25
3.4 Delkonklusjon .....	26
<b>4 Helseisikovurdering av MON863 x MON810 til bruk i mat og fôr</b> .....	<b>27</b>
4.1 Produktbeskrivelse og tiltenkte bruksområder .....	27
4.2 Effekt av prosessering .....	27
4.3 Toksikologi .....	27
4.4 Allergenitet .....	29
4.5 Ernæringsmessig vurdering.....	29
4.6 Delkonklusjon .....	30
<b>5 Miljøisikovurdering</b> .....	<b>31</b>
5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen .....	31
5.2 Potensiale for genoverføring .....	31
5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer.....	34
5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer.....	34
5.5 Delkonklusjon .....	35
<b>6 Kunnskapshull</b> .....	<b>35</b>
<b>Konklusjon</b> .....	<b>36</b>
<b>Referanser</b> .....	<b>38</b>



## Bakgrunn

Den genmodifiserte maishybriden MON863 x MON810 ble godkjent til import og videreføring under del C av EU-direktiv 2001/18/EF i 2006 (notifisering C/DE/02/09), og som mat og fôr under forordning 1829/2003/EF i 2010 (EFSA/GMO/DE/2004/03).

Søknad om markedsføring av den genmodifiserte maislinjen under direktiv 2001/18/EF ble fremmet og anbefalt av tyske myndigheter i februar 2003. MON863 x MON810 ble opprinnelig søkt godkjent også til bruk i fôrvarer og tilsvarende annen mais, men bruksområdet ble endret under 2001/18/EC-proseduren til bare å omfatte import og prosessering. Etter en 60-dagers høringsperiode til EU/EØS-landene, leverte EUs vitenskapskomité (EFSA) sin første uttalelse i saken 2. april 2004 (EFSA 2004a). Helse- og risikovurderingen var primært basert på dokumentasjon knyttet til foreldrelinjene MON863 og MON810. På bakgrunn av dissens i EFSA ble det derfor etterspurt tilleggsinformasjon fra Monsanto relatert til hybridene, spesielt subkroniske fôringsstudier. Monsanto la frem tilleggsinformasjon i april 2005. EFSA publiserte sin nye vurdering 8. juni 2005 (EFSA 2005a), og endelig godkjenning av søknaden ble gitt 16. januar 2006 (Kommisjonsbeslutning 2006/47/EC).

Monsanto søkte godkjenning av maishybriden til mat og fôr under forordning 1829/2003/EF i juli 2004 (EFSA/GMO/DE/2004/03). EFSA publiserte sin vurdering i 2006 (EFSA 2006b), og endelig godkjenning ble gitt 2. mars 2010 (Kommisjonsbeslutning 2010/140/EU).

MON863 x MON810 ble videre notifisert som eksisterende produkt under EU-forordning 1829/2003/EF, artikkel 8 og 20 i 2003. Godkjenningen av maishybriden gikk ut i april 2007, og Monsanto søkte om fornyet godkjenning av MON863 x MON810 fram til 2017. Dossieret til søknaden (EFSA-GMO-RX-MON863xMON810), som omfatter fôrtilsetning, fôrvarer og næringsmiddeltilsetning var på offentlig høring i perioden 4.6-11.9. 2008. På bakgrunn av at disse bruksområdene er inkludert i søknad EFSA/GMO/DE/2004/03, ble fornyingssøknaden trukket i 2010

I Norge ble MON863 x MON810 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](http://www.mattilsynet.no/planter_og_dyrking/genmodifisering/fire_virksomheter_har_faatt_dispensasjon_fra_kravet_om_godkjenning_av_genmodifisert_fiskefor.10951)

Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderte helseaspekter knyttet til bruk av hybridlinjen som næringsmiddel og fôrvare i 2005 og 2009 (VKM 2005a, 2009). Maishybrid MON863xMON810 ble første gang vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer med hensyn på mulig miljørisiko i 2009 (VKM 2009). Publisering av ny litteratur medførte at VKM valgte å utarbeide en revidert miljørisikovurdering av MON863 x MON810 i forbindelse med DN's oppdrag for 2012.

Utenfor EU/EØS-området er MON863 x MON810 godkjent for alle bruksområder (inkludert dyrking) i Japan (CERA 2012). I tillegg er maislinjen godkjent for omsetning som mat og/eller fôr i Korea, Mexico og Filippinene.

## 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 maishybriden MON863 x MON810 er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside EFSA GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. MON863 x MON810 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 utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser, lagt til grunn for vurderingen.

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

### 1.1 Beskrivelse av egenskaper og virkningsmekanismer

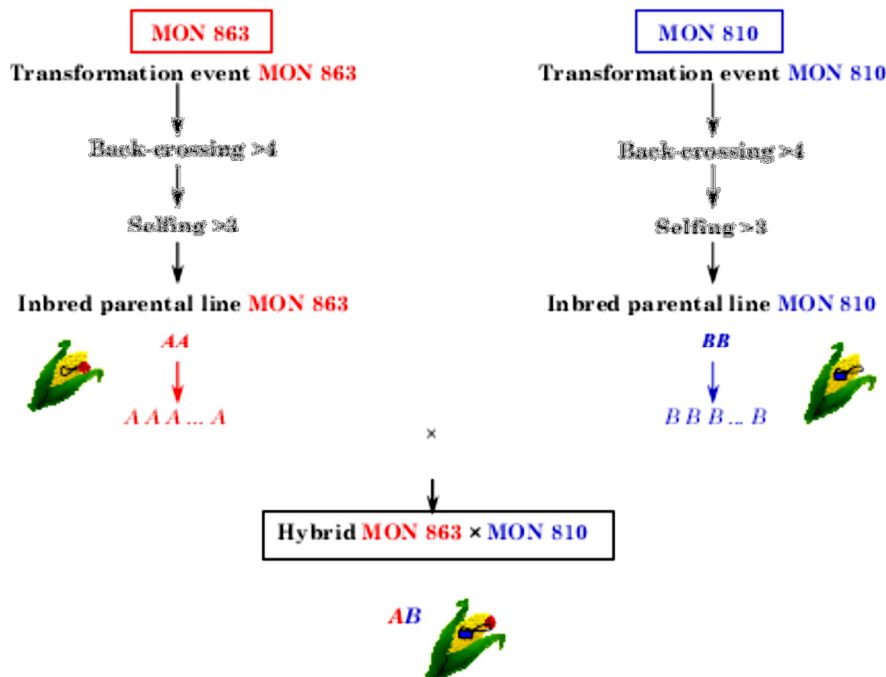
Foreldrelinjen MON863 er produsert ved biolistisk transformasjon (partikkelakselerasjon) av kallusvev fra den innavlete maislinjen A634. Linjen har vært mye benyttet i produksjon av konvensjonelle hybridsorter i USA. Den innsatte genkonstruksjonen inneholder *cry3Bb1*-genet fra jordbakterien *B. thuringiensis* 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  $\delta$ -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.

Foreldrelinjen MON810 har fått innsatt det bakterielle genet *cry1Ab*. Genet er isolert fra *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1. *Cry1Ab*-genet koder for  $\delta$ -endotoksiner som gir plantene toleranse mot enkelte arter i ordenen Lepidoptera, eksempelvis *Ostrinia nubilalis* (maispupalide) og arter i slekten *Sesamia* (nattflyfamilien, *Noctuidae*).

## 2 Molekylær karakterisering

### 2.1 Hybridproduksjon

Hybridforedling er den dominerende foredlingsstrategien i konvensjonell foredling og sortsutvikling i mais i dag. Metodikken innebærer utvikling av innavlede, tilnærmet homozygote foreldrelinjer, som så krysses for produksjon av F1-hybridfrø. Dette gir ensartede og produktive sorter (heterosiseffekt). Den transgene hybridene MON863 x MON810 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom maislinjene MON863 og MON810 (figur 1).



Figur 1. Kryssingsskjema for maishybriden MON863 x MON810.

### 2.2 Evaluering av foreldrelinjer

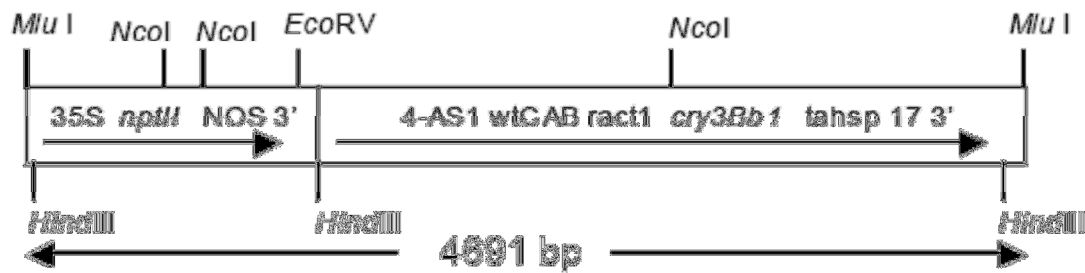
#### 2.2.1 Foreldrelinje MON863

##### 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 2)

##### 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 2. Illustrasjon av det rekombinante DNA-fragment i genomet til maislinjen MON863.

### 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 innsettingsstedet (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.

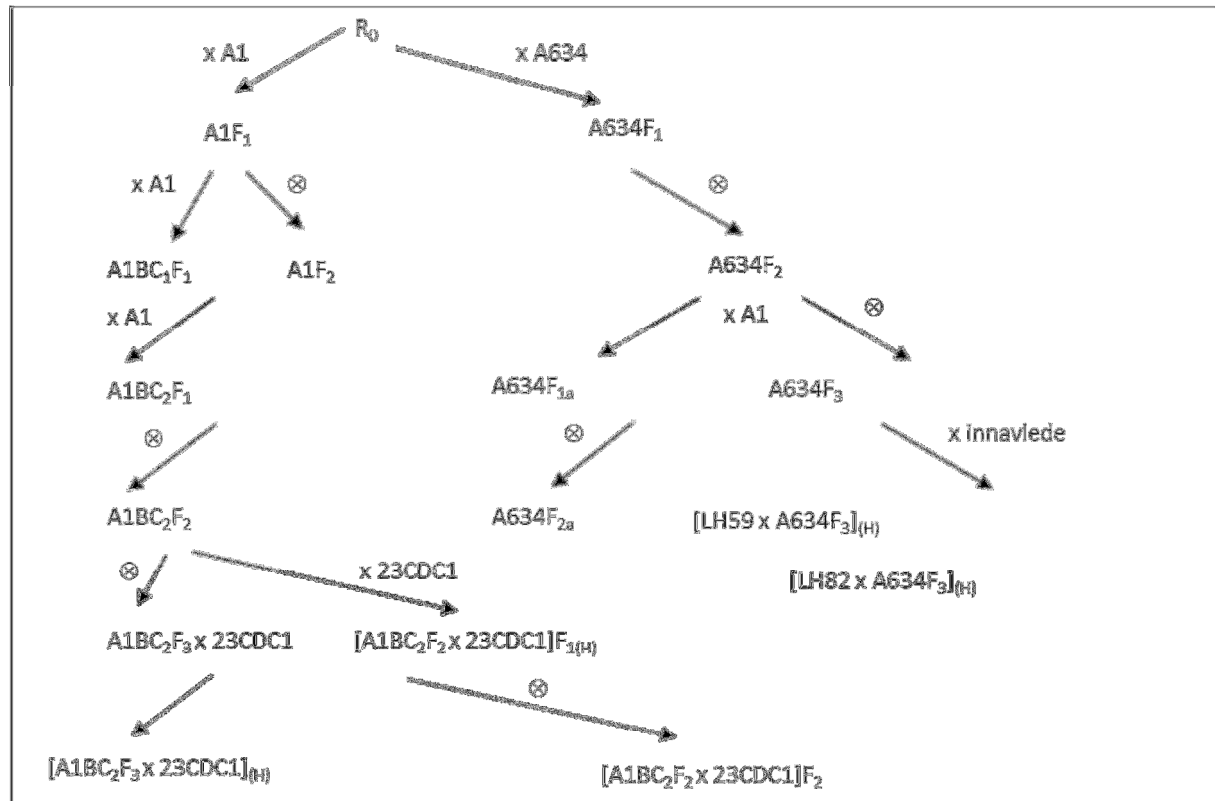
### Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener

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.

### 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<sub>0</sub> x A1 and R<sub>0</sub> x A634 (figur 2). Videre er fenotypisk stabilitet demonstrert ved spaltingsdata fra tre kryssingsgenerasjoner og to generasjoner med selvbestøvning etter R<sub>0</sub> x A1. Segregeringsanalysene (Chi-kvadrat-analyser) viser forventet mendelsk nedarving av *cry3Bb1*-genet.



R<sub>0</sub> - Oprinnelig modifisert plante

⊗ - Selvpollinert

H – Hybrid

Figur 3. Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje MON863.

### Delkonklusjon

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. Passende bioinformatikk og sekvens - analyser 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 overensstemmelse 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.

## 2.2.2 Foreldrelinje MON810

### Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

Cry1Ab-ekspresjonskassetten inneholder *e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus (CaMV), intronet *hsp70* fra mais og et trunkert *cry1Ab*-gen, og finnes som én kopi i genomet. *Cry1Ab*-genet stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*. DNA-fragmentet, som stammer fra plasmidet PV-ZMBK07, ble overført til umodne maisceller med partikkelakselerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

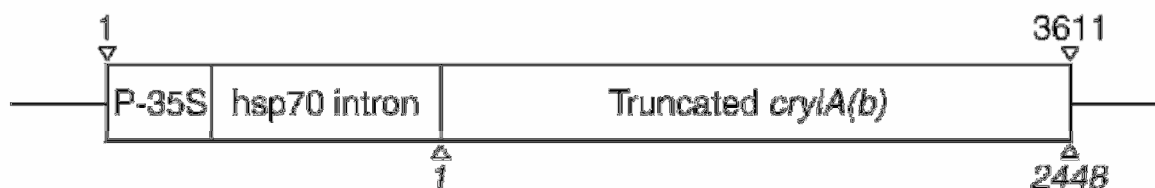


### Karakterisering av geninnsettingen/genkonstruksjonen

Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av det rekombinante DNA-fragmentet i maisens genom. Dette fragmentet inneholder følgende gener og DNA elementer (se figur 4):

#### Cry1Ab ekspresjonskasset

- a) *e35S* promoter med dobbel enhancer, fra blomkålmosaikkvirus(*CaMV*)
- b) *Zmhsp 70* det første intronet i "heat shock" protein-70 genen for å øke transkripsjonen og dermed nivået av gentranskriptet, stammer fra mais
- c) *Cry1Ab* gen som koder et syntetisk Cry1Ab- protein, fra *Bacillus thuringiensis*



**Figur 4. Rekombinant DNA- fragment i maisens genom.**

### Karakterisering av geninnsettingen

Monsanto har i forbindelse med nyere søknader av hybrider med MON810, eksempelvis EFSA-RX-MON863 x MON810, lagt ved oppdatert dokumentasjon av molekylærbiologiske analyser for MON810. Disse molekylærbiologiske analysene viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder et trunkert *cry1Ab* gen, en trunkert *e35S* promoter og et fullengde *hsp70*- intron (figur 4). *Cry1Ab*- proteinet som uttrykkes i maiskorn er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE, densitometri, trypsinbehandling av proteinet og Southern blot.

PCR- og sekvenseringsanalyser av det rekombinante DNA-fragmentet i MON810 viser at fragmentet er på 3582 nukleotider (bp). Analysene viser at det trunkerte *cry1Ab*-genet er på 2448 bp og *e35S* promoteren er 307 bp, mens intronet *hsp70* er uendret. *Cry1Ab*- genen i plasmid PV-ZMBK07 er ca. 3471 bp og *e35S* promoteren er 621 bp. Det er foretatt en rekke sekvenseringsanalyser av flankesekvensene til det rekombinante DNA fragmentet (Borovkov et al. (2001), Holck et al. (2002), Hernández et al. (2003), Scanlon et al. (2007)). Borovkov et al. (2001), Hernández et al. (2003) og Scanlon et al. (2007) har sekvensert henholdsvis ca. 606 bp, ca. 560 bp og ca. 1265 bp nedstrøms fra 3'-flanke-ende til det rekombinante DNA fragmentet. Det er ikke funnet sekvenser som har likheter med kjente maisgener. For sekvenseringsanalysene oppstrøms fra 5'-flankesekvenser henviser Monsanto til Borovkov et al. (2001) og Holck et al. (2002). Sekvensering og BLAST til maisgenomsekvenser støtter antagelsen om at det har skjedd en rekombinasjon mellom transgen og flankesekvensene i MON810, som kan forklare hvorfor mye av plasmidvektor-DNAet er fjernet og en har fått satt sammen nye deler av maismorlinjens kromosomfragment etter genmodifiseringen av MON810. Holck *et al.* har sekvensert 803 bp av flankesekvensene, og analysene viser at flankesekvensene er genomisk DNA fra mais. Nyere karakterisering av det rekombinante DNA fragmentet i MON810 og sekvenseringsanalyser av flankerende sekvenser er utført i 2007 (Scanlon et al. 2007).

### Informasjon vedrørende. uttrykk av introduserte gener og åpne leserammer (ORF)

Monsanto viser til at konsentrasjonen av Cry1Ab1-protein er målt i prøver av MON810 dyrket i feltforsøk i USA og Europa i perioden 1994-1996. De nordamerikanske forsøkene var lokalisert på henholdsvis 6 og 5 steder vekstsesongene 1994 og 1995. I tillegg ble maislinjen testet i felt på

henholdsvis 4 og 3 lokaliteter i Frankrike og Italia i 1995 og 1996. Det ble tatt prøver av blad, hel plante og frø. Proteinekspressjonen i frø ble målt til henholdsvis  $0,31 \pm 0,09$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,19 – 0,39),  $0,57 \pm 0,21$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,39 – 0,91),  $0,53 \pm 0,12$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,42 – 0,69) og  $0,41 \pm 0,06$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,35 – 0,46). I prøver av hel plante ble det målt konsentrasjoner av Cry1Ab på henholdsvis  $4,15 \pm 0,71$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 3,65 – 4,65),  $3,34 \pm 1,09$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 2,31 – 4,48),  $4,80 \pm 0,75$   $\mu\text{g/g}$  rå (variasjonsbredde = 4,11 – 5,56) og  $4,88 \pm 0,52$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 4,32 – 5,34).

Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme v.h.a. allergen (AD4 (5')/UPDATE2 (3'))-, toksin (TOXIN5(5') og Toxin4 (3'))- og peptid (ALLPEPTIDES (5' og 3'))-databaser er utført. Sekvenser som flankerer 5' viser, i henhold til Monsanto, ingen strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Imidlertid viser sekvenseringsanalyser utført av Holck et al. (2002) stor likhet til genklusteret *a-zein* som sitter i maiskromosom 4. Det er ikke funnet andre sekvenser som har likheter med kjente maisgener. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at det er lite sannsynlig at det dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske eller allergene konsekvenser. Sekvenser som flankerer 3' viser i henhold til Monsanto ingen strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Det er imidlertid funnet sekvenslikhet til proteinet importin  $\alpha$ . Monsanto hevder at om et kimært peptid dannes vil ikke dette være skadelig for mennesker eller dyr, fordi 90 dagers fôringsstudie på rotter viser ingen forskjeller mellom MON810 og umodifisert mais.

#### **Nedarving og stabilitet av innsatt DNA**

Nedarving og stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist både via spaltingsdata og ved Southern analyse. Spaltingsdata fra 7 tilbakekryssinger av MON810 til en av foreldrelinjene, og 6 tilbakekryssinger til en ubeslektet, innavlet linje er brukt til å evaluere genetisk stabilitet. Data som presenteres er i overensstemmelse med forventede spaltingstall. I følge søker viser også resultater fra Southern analyse at det innsatte transgenet er stabilt og sitter som i opprinnelig transformasjon på samme kromosom og i samme integreringssete i maisens genom.

#### **Delkonklusjon**

Faggruppen har tidligere vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinene og funnet at informasjonen er tilstrekkelig (VKM 2013). Faggruppen konkluderer med at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON810 er tilfredsstillende.

## **2.3 Hybriden MON863 x MON810**

#### **Molekylær karakterisering**

MON863 x MON810 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom de transgene maislinjene MON863 og MON810. Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelse, antall kopier, samt størrelse og struktur av MON863- og MON810-ekspresjonskassetene i hybridene MON863 x MON810. Det er påvist én enkel kopi av henholdsvis MON863- og MON810-ekspresjonskassetene. Southern blot-analyser viser at MON863 x MON810 og de to foreldrelinjene har samme bruttostørrelse på de innsatte DNA-fragmentene, samt at de er intakte i hybridgenomet.

Ifølge Monsanto er det liten sannsynlighet for molekylær gjensidig påvirkning mellom innskuddene fra MON863 og MON810 i hybridlinjen. Siden ekspresjonskassetene ligger på hvert sitt kromosom i mais MON863 x MON810 er det derfor ikke nødvendig å foreta nye analyser av innskuddsseter, sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettingsstedet, integriteten til ekspresjonskassetene, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn fra foreldrelinjene, eller fravær av annet transformasjonsplasmid-DNA i MON863 x MON810.

**Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener**

Det er foretatt målinger av proteinuttrykk i prøver av plantemateriale fra feltforsøk i Argentina vekstsesongen 1999-2000. Forsøkene ble lagt til 4 ulike lokaliteter i form av fullstendig randomiserte blokkdesign med 4 gjentak. Nivåene av uttrykt Cry3Bb1, Cry1Ab og NPTII -protein ble målt i prøver fra unge blad, hel plante, korn, røtter og pollen på ulike utviklingsstadier. Målingene ble foretatt ved hjelp av Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Nivået av Cry3Bb1-protein varierte mellom 22,0 og 79,6 µg/g råvekt, avhengig av utviklingsstadium og vevstype (tabell 2). Den høyeste konsentrasjonen av proteinet ble målt i pollen, med et variasjonsområde mellom 65,1 og 96,5 µg/g råvekt. Uttrykket av Cry1Ab1-protein varierte fra ikke detekterbar (<0,08 µg/g råvekt) i pollen til 17,9 µg/g råvekt i unge blad (tabell 3). Gjennomsnittlige konsentrasjoner av Cry3Bb1-protein i hybridene var signifikant høyere enn nivået i foreldrelinjen MON863 for alle undersøkte vev. Tilsvarende fant en at ekspresjonen av Cry1Ab i gjennomsnitt var høyere i blad, frø og hel plante av MON863 x MON810 sammenlignet med nivået i MON810. I følge Monsanto er de observerte variasjonsområdene store, og de målte konsentrasjonene av både Cry3Bb1 og Cry1Ab innenfor normalt variasjonsområde for proteinekspressjon. I feltforsøk med foreldrelinjen MON863 i USA i 1999 (søknad C/DE/02/9) varierte f.eks. uttrykket av Cry3Bb1 i unge blad mellom 65 og 93 µg/g råvekt.

**Tabell 2. Konsentrasjon av Cry3Bb1-protein i prøver av unge blad, hel plante, korn, pollen og røtter på ulike utviklingsstadier fra MON863 x MON810 og foreldrelinjen MON863.**

Vevstype	Prøvetidspunkt (antall dager etter plantning)	Gjennomsnittlige nivåer av Cry3Bb1-protein (µg/g t.v.)	
		MON863 x MON810	MON863
Unge blad	18	46 (35,6-53,2)	30,0 (21,3-47,2)
Hel plante (fôr)	90	23,6 (6,7-39,7)	12,8 (<0,22-28,8)
Korn	117	61,1 (38,5-83,1)	43,7 (<0,096-84,1)
Pollen	60	79,6 (65,1-96,5)	60,4 (29,7-90,7)
Røtter (modne)	90	19,7 (6,0-41,7)	16,2 (<0,76-49,8)
Røtter (over sesong)	46	22,0 (N/A)	20,0 (N/A)

**Tabell 3. Konsentrasjon av Cry1Ab-protein i prøver av unge blad, hel plante, korn og pollen fra MON863 x MON810 og foreldrelinjen MON810.**

Vevstype	Prøvetidspunkt (antall dager etter plantning)	Gjennomsnittlige nivåer av Cry1Ab-protein (µg/g t.v.)	
		MON863 x MON810	MON810
Unge blad	18	17,9 (14,1-27,5)	13,0 (9,8-15,4)
Hel plante (fôr)	90	7,9 (3,9-11,9)	5,6 (3,0-8,2)
Korn	117	0,84 (0,63-1,2)	0,46 (0,24-0,77)
Pollen	60	<0,08 (<0,08)	<0,08 (<0,08-0,18)

Konsentrasjonen av NPTII-protein ble målt i unge blad, hel plante og frø, og varierte fra ikke detekterbar (<0,076 µg/g råvekt) i frø til gjennomsnittlig 1,6 µg/g råvekt i blad (tabell 4). Nivået av proteinproduktet i hybridene var i overensstemmelse med foreldrelinjen MON863 for alle vevstyper som ble undersøkt.

**Tabell 4. Konsentrasjon av NPTII-protein i prøver av unge blad, hel plante og korn fra MON863 x MON810 og foreldrelinjen MON863.**

Vevstype	Prøvetidspunkt (antall dager etter plantning)	Gjennomsnittlige nivåer av NPTII-protein (µg/g t.v.)	
		MON863 x MON810	MON863
Unge blad	18	1,6 (0,53-2,3)	1,06 (0,58-1,6)
Hel plante (fôr)	90	0,19 (0,13-0,27)	0,17 (<0,075-0,33)
Korn	117	<0,076 (<0,076)	<0,076 (<0,076)

### Åpne leserammer

Det er ikke foretatt analyser av åpne leserammer, men søker henviser til undersøkelser av foreldrelinjene MON863 og MON810. I følge Monsanto viser molekylære analyser av MON863 x MON810 at den strukturelle integriteten til de to innskuddene er konserverert, og at det derfor ikke er nødvendig å foreta analyser av flankerende sekvenser hos hybridene.

### Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Molekylærbiologiske analyser av F<sub>1</sub>-hybriden viser at det er molekylær ekvivalens og identiske kopitall med de rekombinante DNA-innskuddene i de respektive foreldrelinjene. Søker konkluderer derfor med at det er svært sannsynlig at de rekombinante innskuddene i hybridene er stabilt integrert i genomet. I henhold til dokumentasjonen fra Monsanto er hybridlinjen MON863 x MON810 ikke undersøkt med hensyn på fenotypisk stabilitet eller genetisk stabilitet over generasjoner. Søker henviser til at undersøkelser av MON863 og MON810 har vist at de rekombinante DNA-innskuddene i de respektive foreldrelinjene er stabilt integrerte i genomene, og nedarves stabilt over generasjoner. Ved konvensjonelle kryssinger mellom to slike transgene linjer forventes det ikke ustabilitet. Videre vises det til at F<sub>2</sub>-generasjonen som høstes ikke skal inngå i videre foredlingsarbeid. Søker vurderer det derfor ikke nødvendig å undersøke stabilitet over generasjoner.

## 2.4 Delkonklusjon

Mais MON863 x MON810 er dannet ved konvensjonell kryssing av de transgene maislinjene MON863 og MON810. Faggruppen vurderer karakteriseringen av de rekombinante DNA-innskuddene i mais MON863 x MON810, og de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringen av proteinene til å være tilfredsstillende. Southern blot -analyser indikerer at de innsatte strukturene nedarves stabilt, og at antall, struktur og organisering av disse genkonstruksjonene er ekvivalent med de som finnes i foreldrelinjene. Nivåene av Cry3Bb1- og Cry1Ab-proteiner både i vegetativt vev og frø er signifikant høyere i hybridene sammenlignet med konsentrasjonen av proteinene i de respektive foreldrelinjene. Faggruppen konkluderer med at nivåene er innenfor normalt variasjonsområde for foreldrelinjene, og har ikke identifisert noen risiko knyttet til det som framkommer av den molekylærbiologiske karakteriseringen av maishybridene.

## 3 Komparative analyser

### 3.1 Valg av komparator og forsøksdesign

I følge dokumentasjon fra Monsanto knyttet til søknad om godkjenning av MON863 x MON810 under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/UK/2004/01) og søknad om fornyet godkjenning (EFSA-GMO-RX-MON863 x MON810) fra 2008, er ernæringsmessige viktige komponenter undersøkt i feltforsøk i Argentina. Feltforsøkene ble lagt ut på fire lokaliteter i sentrale dyrkingsområder for mais i vekstsesongen 1999/2000. Hvert forsøksfelt hadde en fullstendig randomisert blokkdesign med fire gjentak. Forsøkene inkluderte fire umodifiserte, kommersielle referansesorter på hver lokalitet, til sammen 16 sorter. Den ikke-transgene hybridlinjen MON846 (A1 x A634) ble benyttet som kontroll. I tillegg til feltforsøkene fra Argentina er analyser fra nordamerikanske og europeiske feltforsøk inkludert i vurderingen.

I følge søkers dokumentasjon skal det være foretatt registreringer av agronomiske karakterer i feltforsøk med MON863 x MON810 i USA. Dette er imidlertid ikke dokumentert verken i dossieret til søknadene eller andre vedlegg.

#### 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  $\pm 20\%$ . VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer bruker denne anbefalingen som grunnlag for vurdering av forsøksresultatene.

### 3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter

#### 3.2.1 Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

Analysene av ernæringsmessige komponenter som medfølger dokumentasjonen er utført i 1999/2000, før OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002) ble publisert. Monsanto hevder i vedlagt dokumentasjon fra 2008 (EFSA-GMO-RX-MON863 x MON810) at valg av analyseparametere er utført i henhold til internasjonale standarder og OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002).

I henhold til søkers dokumentasjon er fôrfraksjonen analysert for innhold av aske, vann, fett, protein, ADF (acid detergent fiber), NDF (neutral detergent fiber), og karbohydrater. I prøver av maiskorn er det analysert protein, fett, aske, vann, karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, aminosyrer, fettsyrer (C16-C22), fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, sink, vitaminene B1 (tiamin), B2 (riboflavin), totalmengde vitamin E og folinsyre (vitamin B9), antinæringsstoffene trypsinhemmer og fytinsyre, samt de sekundære metabolittene furfural, cumarsyre, inositol, raffinose og ferulsyre. Analysene ble utførte under god laboratoriepraksis (GLP) (US EPA 40 CFR PART 160).

#### 3.2.2 Analyser av fôrfraksjon

Kombinerte analyser over lokaliteter viser ingen statistiske signifikante forskjeller mellom den transgene hybrididen og umodifisert kontroll med hensyn på de analyserte komponentene. OECDs konsensusdokument for mais anbefaler at det også skal måles for innhold av kalsium og fosfor i fôrfraksjonen. Det er funnet statistiske signifikante forskjeller for NDF-fiber (NDF= neutral detergent fibre) i de argentinske feltforsøkene. For de øvrige analyserte komponentene er det ikke funnet statistiske signifikant forskjeller. For samtlige komponenter ligger verdiene innenfor typiske verdier

som er rapportert i litteraturen, samt toleranseintervallene for Monsanto's referansesorter som inngikk i studien (tabell 5).

**Tabell 5. Analyser av ernæringsrelaterte komponenter i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referanse-sorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Vevstype/ Komponent	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Fiber</i>							
ADF (% t.v.)	26,28	21,70- 37,31	27,22	22,83- 30,32	15,09- 34,96	18,32- 40,99	21,4- 29,2
NDF (% t.v.)	40,31*	34,48- 53,24	43,20	39,15- 47,21	24,59- 55,98	26,37- 54,45	39,9- 46,6
<i>Hoved- komponenter</i>							
Aske (% t.v.)	6,41	5,36-9,44	6,32	4,88-8,23	2,33-7,70	2,00-6,60	2,9-5,1
Karbohydrat. (% t.v.)	83,23	81,27- 84,90	82,61	81,09- 84,68	78,37- 91,73	83,16- 91,55	84,6- 89,1
Total fett (% t.v.)	1,88	0,82-2,82	1,56	0,71-2,37	0-4,49	0,35-3,62	1,4-2,1
Vann (% t.v.)	74,58	72,00- 78,40	74,13	70,20- 77,70	56,69- 87,10	55,30- 75,30	68,7- 73,5
Protein (% t.v.)	8,48*	7,59-9,77	9,52	8,35-10,60	0,22- 15,79	5,11- 10,27	4,8-8,4



### 3.2.3 Analyser av maiskorn

#### Analyse av fiber, aske, fett, karbohydrater, protein og vann

Det er ikke funnet statistiske signifikante forskjeller for de analyserte ernæringsrelaterte komponentene (tabell 6). Verdiene for samtlige parametere ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien.

**Tabell 6. Analyser av fiber, aske, fett, karbohydrater og vann i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referanse-sorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Vevstype/ Komponent	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Fiber</i>							
ADF (% t.v.)	3,08	2,19- 4,08	3,25	2,58-4,44	1,35-5,75	3,3-4,3	3,1-5,3
NDF (% t.v.)	10,52	8,48- 13,14	11,60	8,49-18,12	4,35- 17,20	8,3-11,9	9,6-15,3
<i>Hoved- komponenter</i>							
Aske (% t.v.)	1,49	1,31-1,64	1,51	1,32-1,80	0,97-1,76	1,1-3,9	1,2-1,8
Karbohydrat. (% t.v.)	84,41	81,62- 86,06	84,49	83,84- 85,92	77,60- 92,24	NA	81,7-86,3
Total fett (% t.v.)	3,77	3,27- 4,42	3,60	2,83- 3,94	1,26-6,25	3,1-5,7 2,9-6,1	2,4-4,2
Vann (% t.v.)	12,88	11,40- 16,30	12,73	11,60- 15,30	0-20,94	7,23	9,4-15,8
Protein (% t.v.)	10,32	8,70- 12,66	10,40	9,30- 10,92	3,37- 16,57	6,0-12,0 9,7-16,1	9,0-13,6

#### Fettsyresammensetning i maiskorn

Fettsyresammensetningen er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Søkers dokumentasjon inneholder analyser av 8 ulike fettsyrer (C16 – C22). Kombinerte analyser over lokaliteter viser statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for palmitin-, stearin-, linolje- og linolensyre (tabell 7). For alle fettsyrene som er målt ligger imidlertid nivåene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien (tabell 7).

#### Aminosyrer i maiskorn

Aminosyreinnholdet er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. I henhold til søker viser statistiske analyser over lokaliteter ingen statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for de analyserte aminosyrene (tabell 8). For de aminosyrene som er målt ligger mengdene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien.

#### Vitaminer

OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002) er ikke fulgt når det gjelder vitaminanalyser. Søker dokumentasjon mangler analyser av vitaminene A, C, B6 og niacin. Med unntak av vitamin E, er det ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for de vitaminene som er undersøkt (tabell 9). Når det gjelder vitaminene B1 og B2 er mengdene innenfor typiske verdier

som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien.

**Tabell 7. Analyser av fett syrer i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referanse-sorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Fettsyre (% av total)	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
16:0 Palmitinsyre	10,57*	10,01- 11,35	11,68	11,35- 12,06	5,63- 17,42	7-19	9,9-12,0
18:0 Stearinsyre	1,92*	1,73- 2,04	1,76	1,64- 1,91	0,80- 2,44	1-3	1,4-2,2
18:1 Oljesyre	21,53	20,91- 22,36	22,03	21,20- 22,92	18,41- 31,88	20-46	20,6-27,5
18:2 Linoljesyre	64,26*	62,56- 65,44	62,58	61,41- 63,36	49-72- 69,67	35-70	55,9-66,1
18:3 Linolensyre	1,01*	0,93- 1,09	1,19	1,15- 1,23	0,76- 1,58	0,8-2	0,8-1,1
20:0 Arakidonsyre	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 Gadolensyre	0,24	0,22- 0,29	0,25	0,24- 0,27	0,19- 0,39	NA	0,2-0,3
22:0 Behensyre	0,13	0,064- 0,17	0,15	0,086- 0,17	0,054- 0,28	NA	0,1-0,3

### Mineraler

Mineraler er ikke målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det er analysert innhold av mineralene fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, og sink, mens analyser av natrium og selen mangler. Det er funnet statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll i innhold av kobber, jern, kalium og sink (tabell 10). Verdiene for samtlige mineraler ligger imidlertid innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien.

### Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter

Sekundære metabolitter og antinæringsstoffer er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Konsentrasjonen av furfural var lavere enn påvisningsgrensen. Med unntak av raffinose viser kombinerte analyser over lokaliteter ingen statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for de analyserte parametrene (tabell 11). For samtlige komponenter ligger verdiene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien.

**Tabell 8. Analyser av aminosyrer i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referanse-sorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Aminosyrer (% av total)	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
Alanin	7,77	7,53-8,08	7,84	7,46-8,06	7,09-8,31	6,4-9,9	7,2-8,8
Arginin	4,26	3,60-4,84	4,24	3,49-5,33	3,00-5,75	2,9-5,9	3,5-5,0
Asparginsyre	6,59	6,20-7,09	6,60	6,30-6,99	5,60-7,68	5,8-7,2	6,3-7,5
Cystin	2,09	1,83-2,30	2,20	1,98-2,30	1,31-3,02	1,2-1,6	1,8-2,7
Glutaminsyre	19,25	18,70- 19,81	19,21	18,61- 19,77	15,91- 22,38	12,4-19,6	18,6-22,8
Glycin	3,68	3,46-3,98	3,71	3,58-3,89	2,29-5,26	2,6-4,7	3,2-4,2
Histidin	2,98	2,84-3,10	2,99	2,79-3,21	2,22-3,71	2,0-2,8	2,8-3,4
Isoleucin	3,71	3,49-3,85	3,71	3,55-3,88	3,18-4,13	2,6-4,0	3,2-4,3
Leucin	13,08	12,54- 13,58	12,99	12,59- 13,44	9,76- 16,17	7,8-15,2	12,0-15,8
Lysin	2,90	2,56-3,26	2,93	2,68-3,21	1,79-4,28	2,0-3,8	2,6-3,5
Metionin	1,98	1,70-2,34	2,08	1,89-2,38	1,03-3,01	1,0-2,1	1,3-2,6
Fenylalanin	5,10	4,97-5,19	5,02	4,92-5,15	4,25-5,75	2,9-5,7	4,9-6,1
Prolin	9,46	8,71- 10,60	9,68	9,17- 10,56	8,47- 10,48	6,6-10,3	8,7-10,1
Serin	4,93	4,65-5,27	4,92	4,56-5,29	4,11-5,52	4,2-5,5	4,9-6,0
Treonin	3,29	2,91-3,63	3,31	2,87-3,61	2,87-3,99	2,9-3,9	3,3-4,2
Tryptofan	0,56	0,42-0,65	0,58	0,51-0,66	0,23-0,94	0,5-1,2	0,4-1,0
Tyrosin	3,35	2,33-3,65	3,00	1,93-3,66	2,38-4,19	2,9-4,7	3,7-4,3
Valin	5,01	4,74-5,17	4,98	4,77-5,16	4,49-5,47	2,1-5,2	4,2-5,3

**Tabell 9. Analyser av vitaminer i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referanse-sorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Vitamin	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
Folsyre (% t.v.)	0,71	0,61-0,92	0,68	0,59-0,75			
Vitamin B1 (mg/100g t.v.)	0,25	0,22-0,30	0,27	0,23-0,33		0,3-0,86	NA
Vitamin B2 (µg/g t.v.)	1,24	0,96-1,57	1,27	0,91-1,74		0,25-5,6	NA
Vitamin E (mg/g t.v.)	0,0097*	0,0076- 0,012	0,0080	0,0060- 0,011	0-0,028	0,017- 0,047	0,008- 0,015

**Tabell 10. Analyser av mineraler i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referansesorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Mineraler	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter		
	Gj. snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.	Litt. verdier	Hist. var.
Kalsium (% t.v.)	0,0041	0,0027- 0,0049	0,0044	0,0033- 0,0055	0,0016- 0,0090	0,01-0,1	0,003- 0,006
Kopper (mg/kg t.v.)	1,98*	1,70- 2,26	2,82	2,32- 3,22	0-3,91	0,9-10	NA
Jern (mg/kg t.v.)	22,61*	18,35- 27,15	25,33	22,84- 27,19	2,49- 37,25	1-100	NA
Magnesium (% t.v.)	0,13	0,11- 0,16	0,13	0,12- 0,14	0,074- 0,17	0,09-1,0	NA
Mangan (mg/kg t.v.)	7,69	5,55- 10,38	7,58	6,04- 9,05	0,90- 11,97	0,7-54	NA
Fosfor (% t.v.)	0,34	0,25- 0,41	0,36	0,31- 0,39	0,25-0,39	0,26-0,75	0,288- 0,363
Kalium (% t.v.)	0,41*	0,33- 0,46	0,43	0,41- 0,46	0,23-0,52	0,32-0,72	NA
Sink (mg/kg t.v.)	25,75*	22,07- 31,31	28,13	24,38- 31,63	6,10- 40,05	12-30	NA

**Tabell 11. Analyser av sekundære metabolitter og antinæringskomponenter i frø fra den transgene maishybriden MON863 x MON810, umodifisert nær-isogen kontroll og kommersielle referanse-sorter. Data fra feltforsøk i Argentina 1999/2000.**

Vevstype/ Komponent	MON863 x MON810		Kontroll		Ref. sorter		
	Gj. snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.	Litt. verdier	Hist. var.
<i>Antinærings- komponenter</i>							
Fytinsyre (% t.v.)	0,65	0,36-0,86	0,60	0,42-0,76	0,36-0,97	To 0,9 %	NA
Trypsin- inhibitor	3,62	2,73-4,84	3,83	2,19-5,05	0-6,98	NA	NA
<i>Sekundære metabolitter</i>							
Ferulsyre (% t.v.)	0,24	0,18-0,29	0,23	0,19-0,27	0,17-0,28	NA	0,17-0,27
Inositoltsyre (µg/g t.v.)	1520,57	1135,07- 1762,63	1494,18	1244,34- 1704,55			
Raffinose (% t.v.)	0,15*	0,12-0,19	0,11	0,091-0,13	0-0,35	0,028- 0,074	
p- kumarinsyre (% t.v.)	0,022	0,017- 0,025	0,020	0,016- 0,026	0,0022- 0,037	NA	0,011- 0,030

### 3.2.4 Vurdering av manglende vitaminanalyser for norsk kosthold

Søker har ikke utført analyser av vitaminene A, C, B6 og niacin. Ved vurdering av ernæringsmessige viktige komponenter har faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes. I OECDs konsensusdokument oppgis det variasjonsområde (lav og høy mengde) for innhold av vitaminer i både fôrmais, sukkermais og popkorn, basert på analyseresultatene fra et stort antall maisprøver.

#### Vurdering av vitamin A

For en voksen person i Norge vil et gjennomsnittlig inntak av maisprodukter (mel, stivelse, blandingsprodukter, sukkermais) bidra med fra ca. 0,2 (lav mengde) til 1 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak for vitamin A. Ved et inntak lik 97,5 persentilen vil mais bidra med fra 0,4 (lav mengde) til 1,45 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak av vitamin A. For ungdom (13 år) vil daglig inntak av hermetisk mais og popkorn dekke ca. 0,1 % (gjennomsnitt, lav mengde) til 4,1 % (97,5 % persentil) av daglig anbefaling for vitamin A (Vikse 2008, upublisert).

#### Vurdering av vitamin B6

For en voksen person i Norge vil et gjennomsnittlig inntak av maisprodukter (mel, stivelse, blandingsprodukter, sukkermais) bidra med fra ca. 1,2 (lav mengde) til 3,6 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak for vitamin B6. Ved et inntak lik 97,5 persentilen vil mais bidra med fra 1,7 (lav mengde) til 6,0 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak av vitamin B6. For ungdom (13 år) vil daglig inntak av hermetisk mais og popkorn dekke ca. 0,6 % (gjennomsnittsinntak) til 10,8 % (97,5 % persentil) av daglig anbefaling for vitamin B6 (Vikse 2008, upublisert).

#### Vurdering av niacin

For niacin vil et gjennomsnittlig inntak av mais bidra med ca 0,5 % til 2,5 % av daglig anbefalt inntak. Et inntak av mais lik 97,5 % persentilen vil dekke fra 1,7 % til 5,0 % av den daglige anbefalingen for niacin ved henholdsvis lav og høy vitaminmengde i maisen (Vikse 2008, upublisert).

#### Vitamin C

Fôrmais inneholder ikke vitamin C. Et gjennomsnittlig inntak av sukkermais vil dekke fra 0,3 til 0,5 % av anbefalt daglig inntak av vitamin C, og et inntak av mais lik 97,5 % persentilen vil dekke fra 1,5 til 2,6 % av daglig anbefaling (Vikse 2008, upublisert).

Et gjennomsnittlig forbruk av mais i Norge vil bidra med en liten del av vitaminene A, niacin, B6 og C i kostholdet. Et høyt forbruk av popkorn hos ungdom vil dekke ca 10 % av daglig anbefaling for vitamin B6. Faggruppen vurderer at eventuelt avvikende vitaminnivå i MON863 x MON810 har liten ernæringsmessig betydning. FG3 påpeker imidlertid at OECDs konsensusdokument bør følges.

## 3.3 Agronomiske karakterer

I følge søkers dokumentasjon skal det være foretatt registreringer av agronomiske karakterer i feltforsøk med MON863 x MON810 i USA. Dette er imidlertid ikke dokumentert verken i dossieret til søknadene eller andre vedlegg. I disse forsøkene skal det, i henhold til søker, være foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sykdommer og skadedyr. Monsanto har imidlertid ikke presentert data fra disse forsøkene, men konkluderer med at det er agronomisk ekvivalens mellom hybridlinjen MON863 x MON810 og konvensjonelle sorter.

Det vises også til at det har vært foretatt vurderinger av fenotypiske og agronomiske karakterer i foreldrelinjene MON863 og MON810 i felt på en rekke lokaliteter. Det har også vært kommersiell produksjon av MON863 og MON810 siden henholdsvis 2003 og 1998, uten at det er påvist ikke-tilsiktede, pleiotrofe effekter på disse karakterene.

### 3.4 Delkonklusjon

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter er vurdert. Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais. Dette gjelder analyser av vitamin A, vitamin C, vitamin B6, niacin, natrium og selen. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Et gjennomsnittlig forbruk av mais i Norge vil bidra lite til inntaket av vitaminene A, niacin, B6 og vitamin C i kostholdet. Et høyt forbruk av popkorn hos ungdom vil dekke ca. 10 % av daglig anbefaling for vitamin B6. 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 x MON810 har liten ernæringsmessig betydning.

For noen dyregrupper som svin og fjærfe, kan inntaket av mais utgjøre 80 % av fôret. For en gris på 50 kg som spiser ca 4 % av kroppsvekten sin per dag (med 50 % innblanding av mais i fôret) vil dette bli 1 kg mais per dag. Med tall hentet fra tabell 2 og 3 vil denne grisen bli eksponert for nesten 62 µg av cry3Bb1 and cry1ab per gram fôr og toalt per dag 62 mg.

For de analyserte komponentene er det påvist signifikante forskjeller mellom maishybriden MON863 x MON810 og kontroll i enkeltparametere, men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

I henhold til søker er det foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sjukdommer og skadedyr hos maishybrid MON863 x MON810. Søker har imidlertid ikke presentert data fra disse forsøkene, men konkluderer med at det er agronomisk ekvivalens mellom hybridlinjen MON 863 x MON 810 og konvensjonelle sorter. Det vises også til at det har vært foretatt vurderinger av fenotypiske og agronomiske karakterer i foreldrelinjene MON 863 og MON 810 i felt på en rekke lokaliteter over flere vekstsesonger. Maislinjene MON863 og MON810 har dessuten vært i kommersiell produksjon siden henholdsvis 2003 og 1998, uten at det er påvist ikke-tilsiktede, pleiotrofe effekter på disse karakterene



## 4 Helserisikovurdering av MON863 x MON810 til bruk i mat og fôr

### 4.1 Produktbeskrivelse og tiltenkte bruksområder

Søknad om godkjenning av maishybriden MON863xMON810 omfatter bruksområdene fôrvarer, næringsmidler, import og prosessering. De genetiske modifiseringene i hybridene gjør planten tolerant overfor angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica* og enkelte sommerfuglarter i ordenen Lepidoptera. *NptII*-genet er introdusert som seleksjonsmarkør for identifikasjon av transformanter under regenerasjonen.

### 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 liten grunn til å anta at ferdige produkter avledet fra mais MON863 x MON810 vil være forskjellige fra annen umodifisert mais, eller at proteinene Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII vil reagere annerledes på foredlingsprosesser enn de fleste andre proteiner. Cry- proteinene er generelt ikke varmestabile proteiner (Hammond & Jez 2011). 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.

### 4.3 Toksikologi

#### 4.3.1 Toksikologisk vurdering av de uttrykte proteinene NPTII, Cry1Ab og Cry3Bb1

##### 4.3.1.1 Akutt oral toksisitet

Fôringsforsøk med renfremstilt NPTII, Cry1Ab og Cry3Bb1 er dokumentert i ulike markedsføringsøknader av MON863 x MON810, MON863 og MON810 (referert i VKM 2005a, 2006, 2007a, 2008, 2013). Studiene dokumentert i disse søknadene viser at proteinene Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske.

##### 4.3.1.2 Degradering av Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII i fordøyelsesvæske

Studier viser at Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII brytes raskt ned i testsystemer som etterlikner fordøyelse hos pattedyr, det antas derfor at proteinene også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal. 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 x MON810 i hel mat/fôr

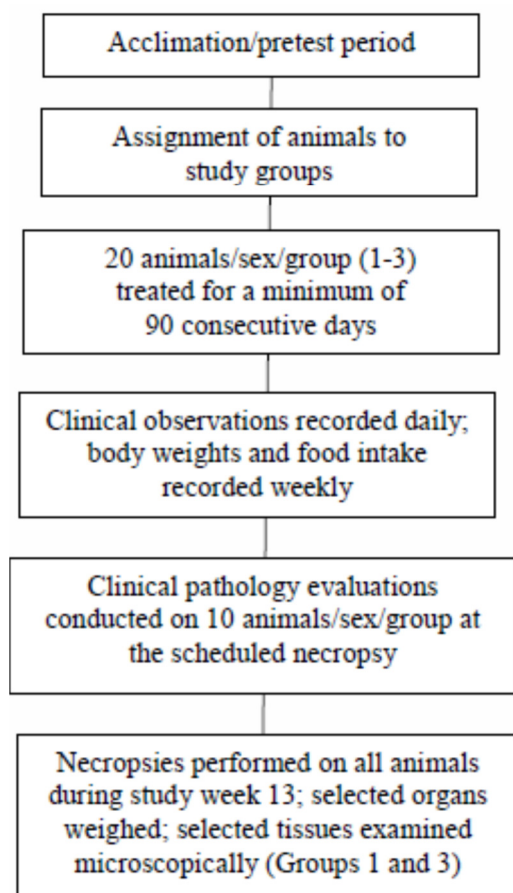
##### 4.3.2.1 Fôringsforsøk med rotter

VKM har tidligere vurdert fôringsforsøk med MON863, MON810 (VKM 2006, 2007a, 2008, 2013), og MON863 x MON810 (sluttføring av søknad C/DE/02/9 i 2009), utført på både rotter og broilere.

Et 90 dagers fôringsforsøk med rotter ble utført med hann- og hunnrotter (stamme Sprague Dawley Crl:CD(SD)IGS BR), med tre grupper á 20 rotter/kjønn. Studien er utført i henhold til prinsippene til OECDs retningslinje 408 (1998).

Rottene var 7 uker gamle ved starten av fôringsforsøket. Gjennomsnittlig vekt ble oppgitt å være  $190 \pm 12$  gram for hanner og  $168 \pm 10$  gram for hunner. Fôret bestod av henholdsvis 11 og 33 % vekt/vekt maiskorn fra MON 863 x MON 810 og 33 % fra den nær-isogene maislinjen DKC46-26. Fôret ble undersøkt for en rekke komponenter som mineraler, tungmetaller, mykotoksiner (aflatoksiner, fusariumtoksiner m.fl.), organoklorider (36 stk) og organofosfater (31 stk). Fôranalyser viser at innholdet av ernæringsmessige komponenter, sekundære plantemetabolitter, antinæringsstoffer og mineraler var sammenlignbare for de ulike fôrgruppene. Det ble påvist lave konsentrasjoner av fumonisiner (ca. 3 ng/g maiskorn) i alt maiskorn. Konsentrasjonene av mykotoksinene var lavere enn det som antas å kunne påvirke dyrs helse. Det ble ikke påvist organoklorider eller fosfater.

Det ble foretatt makroskopiske og mikroskopiske undersøkelser av organer, patologiske undersøkelser, og kjemisk og hematologisk undersøkelse av blod fra 10 dyr i hver gruppe (figur 5).



**Figur 5. Forsøksdesign - fôringsforsøk på rotter.**

Blant hunnrottene ble det i uke 1 - 2, uke 5 - 6, uke 9 - 10 og uke 10 - 11, påvist statistisk signifikante forskjeller i ukentlig fôrinntak med fôr som innholdt 11 % maiskorn, men ikke hos dyrene som ble fôret med 33 % mais. Det ble det ikke funnet signifikante forskjeller i ukentlig fôrinntak i de andre ukene. Hos hannrotter ble det ikke påvist statistisk signifikante forskjeller i fôrinntak.

Det ble ikke påvist signifikante forskjeller for de fleste klinisk-kjemiske parametrene som ble undersøkt. Det ble imidlertid funnet redusert gjennomsnittlig mengde erythrocytt hemoglobin (MCHC)

hos hanndyr som ble fôret med henholdsvis 11 % og 33 % maiskorn sammenliknet med kontroll. MCHC-mengdene var lik i begge gruppene, så det er ikke påvist dose-responsforhold. Det ble heller ikke påvist endringer i hematokrit, antall røde blodlegemer eller andre indikatorer for røde blodlegemer. Hos hunnrotter ble det funnet statistisk signifikante forskjeller for absolutt og relativ vekt av tyroidea/paratyroidea (11 % og 33 % maiskorn) og gjennomsnittlig nyrevekt relativt til kroppsvekt (33 % maiskorn). Forskjellene som ble påvist for tyroidea/paratyroidea var små og ble av søker betraktet som effekter av beskjæring av organene. Forskjellene i relativ nyrevekt til kroppsvekt ble ikke betraktet som toksikologisk relevant siden det ikke er påvist forskjeller i gjennomsnittlig nyrevekt og nyrevekt relativt til hjernevekt. Andre ikke statistiske signifikante forskjeller som ble påvist, har søker kommentert som toksikologisk ikke relevante. Dette fordi forskjellene kun er påvist i en enkelt fôrgruppe og ikke i den andre fôrgruppen.

## 4.4 Allergenitet

### 4.4.1 Vurdering av allergene egenskaper til Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII

Allergene egenskaper til Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII har tidligere blitt vurdert av VKM i forbindelse av blant annet risikovurderinger av foreldrelinjene MON810 og MON863.

Basert på dagens litteratur har ingen av de uttrykte proteinene blitt påvist å være allergener eller å ha likheter med kjente allergener. Når det gjelder Cry-proteiner, foreligger det pr i dag ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksposering etter vel 50 års bruk av plantevernmidler med *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. 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 krystallproteiner.

### 4.4.2 Adjuvans (fremming av immunreaksjon mot andre stoffer)

Kun Cry1Ab og Cry1Ac 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. Dersom Cry3Bb1 og/eller Cry1Ab 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 og Cry1Ab brytes derimot raskt ned i magesaft slik at eksponering av tarmepitel for disse proteinene antas å være marginal. Basert på dagens kunnskap mener faggruppen det er lite sannsynlig at Cry-proteiner vil øke det allergiske potensialet til mat/fôr produsert fra MON863 x MON810 sammenliknet med konvensjonelle mais sorter (VKM 2012).

## 4.5 Ernæringsmessig vurdering

### 4.5.1 Fôringsforsøk med broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringsforsøk på broilere som inkluderte 800 dyr fordelt på åtte grupper. Forsøksdyrene ble fôret med blant annet MON863 x MON810, 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, fôringsforsøkene og VKMs tidligere vurderinger konkluderer faggruppen med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til mais MON863 x MON810 er forskjellig fra konvensjonell mais.

## 4.6 Delkonklusjon

Sub-kroniske fôringsstudier utført på rotter med både MON863 x MON810 og foreldrelinjene MON863 og MON810 har ikke indikert helseskadelige effekter av de genmodifiserte maisene. Videre viser fôringsstudier på broilere ernæringsmessig vesentlig likhet mellom foreldrelinjene, MON863 x MON810 og umodifiserte mais. I følge søkers dokumentasjon er det ingen likhetstrekk mellom Cry1Ab, Cry3Bb1 eller NPTII, og kjente toksiner eller IgE-allergener. Det er heller ikke dokumentert at noen av proteinene kan utløse 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 gnagere har ikke påvist toksiske effekter av proteinene Cry1Ab, Cry3Bb1 eller NPTII. Denne typen studier anses derimot ikke av VKMs faggruppe for GMO å gi ytterligere informasjon om mulige helseskadelige egenskaper ved mais MON863 x MON810.

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON863 x MON810 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 x MON810 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

## 5 Miljørisikovurdering

Søknad om godkjenning av maishybriden MON863xMON810 under EU forordning 1829/2003/EF og direktiv 2001/18/EF omfatter bruksområdene fôrvarer, næringsmidler, 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 føret 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.

Maiskorn 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 maiskorn 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 MON863xMON810 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 maishybrid MON863 x MON810 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 x MON810 skal kunne overføres til andre enn plantens naturlige kryssingspartnere (se utfyllende oversikt og vurdering i EFSA 2009, VKM 2005b).

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 2005b).

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 verts bakterien 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 tilstede i MON863 x MON810 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 x MON810 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 x MON810 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 x MON810 kan derfor betraktes isolert sett i forhold til bruksområde til MON863 x MON810, 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 x MON810 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 x MON810 er det høyst usannsynlig at sjeldne HGT-begivenheter fra MON863 x MON810 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 2005b), 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 maishybriden MON863 x MON810 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.



Insektsresistens 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 x MON810 er transformert med *cry3Bb1*- og *cry1Ab*-genene fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, henholdsvis subsp. *kumamotoensis* og subsp. *kurstaki*.

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>).

Cry1Ab-proteinet i MON810 gir plantene resistens mot angrep fra enkelte arter i ordenen Lepidoptera, eksempelvis *Ostrinia nubilalis* (maispyralide) og *Sesamia* ssp. I Norge er det registrert enkeltfunn av maispyralide i Vestfold, Telemark og Agder, men arten er ikke rapportert som skadegjører (Meadow 2007). Det er ikke gjort observasjoner av *Sesamia*-arter i Norge.

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 x MON810 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 føret 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 gjødsel. 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 *nptIII*-genet fra MON863 x MON810 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 miljøer.

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

Antibiotikaene som *nptIII*-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 *nptIII*-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)

## Konklusjon

### Molekylær karakterisering

Mais MON863 x MON810 er dannet ved konvensjonell kryssing av de transgene maislinjene MON863 og MON810. Faggruppen vurderer karakteriseringen av de rekombinante DNA-innskuddene i mais MON863 x MON810, og de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringen av proteinene til å være tilfredsstillende. Southern blot -analyser indikerer at de innsatte strukturene nedarves stabilt, og at antall, struktur og organisering av disse genkonstruksjonene er ekvivalent med de som finnes i foreldrelinjene. Nivåene av Cry3Bb1- og Cry1Ab-proteiner både i vegetativt vev og frø er signifikant høyere i hybridene sammenlignet med konsentrasjonen av proteinene i de respektive foreldrelinjene. Faggruppen konkluderer med at nivåene er innenfor normalt variasjonsområde for foreldrelinjene, og har ikke identifisert noen risiko knyttet til det som framkommer av den molekylærbiologiske karakteriseringen av maishybriden.

### Komparative analyser

Det er påvist signifikante forskjeller mellom MON863 x MON810 og kontroll i analyserte ernæringsmessige komponenter, men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

I henhold til søker er det foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sjukdommer og skadedyr hos maishybrid MON863 x MON810. Søker har imidlertid ikke presentert data fra disse forsøkene, men konkluderer med at det er agronomisk ekvivalens mellom hybridlinjen MON 863 x MON 810 og konvensjonelle sorter. Det vises også til at det har vært foretatt vurderinger av fenotypiske og agronomiske karakterer i foreldrelinjene MON 863 og MON 810 i felt på en rekke lokaliteter over flere vekstsesonger. Maislinjene MON863 og MON810 har dessuten vært i kommersiell produksjon siden henholdsvis 2003 og 1998, uten at det er påvist ikke-tilsiktete, pleiotrofe effekter på disse karakterene

### Helserisikovurdering av MON863 x MON810 til bruk i mat og fôr

Sub-kroniske fôringsstudier utført på rotter med både MON863 x MON810 og foreldrelinjene MON863 og MON810 har ikke indikert helseskadelige effekter av de genmodifiserte maisene. Videre viser fôringsstudier på broilere ernæringsmessig vesentlig likhet mellom foreldrelinjene, MON863 x MON810 og umodifiserte mais. I følge søkers dokumentasjon er det ingen likhetstrekk mellom Cry1Ab, Cry3Bb1 eller NPTII, og kjente toksiner eller IgE-allergener. Det er heller ikke dokumentert at noen av proteinene kan utløse IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at noen typer Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Akutte toksisitetsstudier utført på gnagere har ikke påvist toksiske effekter av Cry1Ab, Cry3Bb1 eller NPTII. Denne typen studier anses derimot ikke av VKMs faggruppe for GMO å gi ytterligere informasjon om mulige helseskadelige egenskaper ved mais MON863 x MON810.

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON863 x MON810 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 x MON810 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

### Antibiotikaresistens

Maislinjen MON863 x MON810 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/02/92 og søknad EFSA/GMO/DE/2004/03 gjelder godkjenning av maislinje MON863 x MON810 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 foreskrevet bruk av maislinjen MON863 x MON810 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av patogene mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

### **Samlet vurdering**

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer har ikke identifisert toksiske eller endrede ernæringsmessige egenskaper ved maishybriden MON863 x MON810 eller prosesserte produkter avledet fra MON863 x MON810 sammenlignet med konvensjonell mais. Ut fra dagens kunnskap er det også lite trolig at Cry-proteinene vil øke det allergiske potensialet til mat/fôr produsert fra MON863 x MON810 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra MON863 x MON810 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 MON 863 x MON810 vil medføre endret risiko når det gjelder miljø sammenlignet med annen mais.

## Referanser

- Bensasson D, Boore JL, Nielsen KM (2004) Genes without frontiers. *Heredity* 92: 483-489.
- CERA (2012) Center for Environmental Risk Assessment. GM Database for safety information.  
[http://cera-gmc.org/index.php?action=gm\\_crop\\_database](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](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html)
- EFSA (2006a) 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](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html)
- EFSA (2006b) Opinion of the European Food Safety Authority in accordance with Articles 6 and 18 of Regulation (EC) No 1829/2003 on application EFSA-GMO-DE-2004-03. Application for the placing on the market of insect-protected genetically modified maize MON863 x MON810 for food and feed uses from Monsanto. 31 March 2006
- 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](http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo_biohaz_st_ej1108_ConsolidatedARG_en.pdf?ssbinary=true)
- EFSA (2010) 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 (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](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.
- Meadow (2007) Expected effects and side effects of approval for the use of maize MON 810 on target and non-target arthropods in and around maize fields in Norway. Rapport fra Bioforsk PlanteHelse. 9 s.
- 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 (1998) OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. Number 1. ENV/MC/CHEM (98)17.  
[http://www.olis.oecd.org/olis/1998doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/\\$FILE/01E88455.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/1998doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/$FILE/01E88455.PDF)
- 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 (2005a) Helserisikovurdering av genmodifisert mais MON863 x MON810. Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 24.2.2005.
- VKM (2005b) 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 (2007a) Helserisikovurdering av genmodifisert mais MON810, C/DE/02/9. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 30.1.2007 (06/312-endelig). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2007b) Miljørisikovurdering av genmodifisert mais MON810, C/DE/02/9. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 9.11.2007 (07/320-endelig). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- 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 (2009) Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais MON863 x MON810 fra Monsanto Company (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 2.10.2009.
- 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.
- VKM (2013) Endelig helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais MON810 fra Monsanto Company (C/F/95/12/02), av Faggruppen for genmodifisert organismer 27.9.2013. 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.