



Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

30.05.08

Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid 1507 x NK603 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/UK/2004/05)

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicid- og insekttolerante maishybriden 1507 x NK603 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/UK/2004/05) er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning maishybriden til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer i Norge, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning (DN) og Mattilsynet om å foreta en vitenskapelig risikovurdering av 1507 x NK603 med hensyn på eventuelle effekter på helse og miljø.

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. I tillegg er det benyttet informasjon fra andre vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. Maislinje 1507 x NK603 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven, forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, forordning 1829/2003/EF, samt kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser. Videre er EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006a) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002) lagt til grunn for vurderingen. Den vitenskapelige vurderingen omfatter benyttet transformeringsprosess, vektorer og transgent konstrukt, samt komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensiale for ikke-intenderte effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

F₁-hybriden 1507 x NK603 er dannet ved konvensjonell kryssing av foreldrelinjene 1507 og NK603. Foreldrelinjen 1507 har fått innsatt et *cryIF*-gen fra bakterien *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* og et *pat*-gen, som er isolert fra *Streptomyces viridochromogenes*. *CryIF*-genet koder for et δ -endotoksin og gir resistens mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og nattflyarten *Sesamia nonagrioides*. *Pat*-genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicider av typen

Finale. Foreldrelinjen NK603 uttrykker CP4-EPSPS-proteiner, som er resultat av introduksjon av *cp4-epsps*-genet fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt ved nærvær av N-fosfonometyl glycin (glyfosat). De transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av herbicider med virkestoff glyfosat sammenlignet med konkurrerende ugras.

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Det ble bemerket at noen av de komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais ikke er utført. Det er funnet statistiske forskjeller for enkelte komponenter. De statistiske forskjellene for disse komponentene er ikke konsistente da forskjellene som er påvist i enkelte forsøksfelt, ikke er påvist i de andre forsøksfeltene. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av hybridene 1507 x NK603 til bruk som mat og fôr.

Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om det uttrykte toksinet CRY1Ab kan ha adjuvanseffekter.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maishybriden 1507 x NK603 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos næringsmidler og fôrvarer fra 1507 x NK603 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1F i maiskorn totalt kan være 2,4 ng/mg tørrvekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av det beslektede Cry1Ac.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen 1507 x NK603 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. 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 1507 x NK603 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Medlemmene i Faggruppen finner det lite trolig at bruk av maislinjen 1507 x NK603 vil medføre endret risiko for miljø i forhold til annen mais. Faggruppen påpeker kunnskapshull knyttet til om Cry-proteinet i 1507 x NK603 kan indusere immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot immunologiske aktive proteiner gitt samtidig.

NØKKELORD

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maishybrid 1507 x NK603, EFSA/GMO/UK/2004/05, insektsresistens, herbicidtoleranse, PAT, CP4 EPSPS, Cry1F, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, forordning (EF) Nr. 1829/2003

INNHOLDSFORTEGNELSE

SAMMENDRAG	1
VURDERT AV	3
BAKGRUNN	4
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET.....	5
RISIKOVURDERING	6
KONKLUSJONER	19
REFERANSER	21
VEDLEGG	24

Vurdert av:

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

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

Koordinatorer i sekretariatet: Arne Mikalsen, Merethe Aasmo Finne

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning og Mattilsynet om å foreta en vitenskapelig vurdering av helse- og miljørisiko i forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av den genmodifiserte maishybriden 1507 x NK603 fra Pioneer Hi-Bred international, Inc. og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/UK/2004/05). 1507 x NK603 er godkjent for omsetning i EU/EØS-området under forordning (EF) Nr. 1829/2003. Godkjenningen omfatter import og videreprosessering, og bruk av maislinjen i/som mat og fôr.

Søknad om markedsføring av den genmodifiserte maishybriden ble fremmet og anbefalt av britiske myndigheter 1. oktober 2004. Etter en 90-dagers høringsperiode til EU/EØS-landene, leverte EUs vitenskapskomité (EFSA) sin uttalelse i mars 2006 (EFSA 2006b). Endelig godkjenning av søknaden ble gitt 24. oktober 2007 (Kommisjonsbeslutning 2007/703/EC). Pioneer Hi-Bred/Mycogen Seeds har også søkt om godkjenning av maishybriden 1507 x NK603 for dyrking.

Foreldrelinjene 1507 og NK603 er godkjent i EU for import, videreprosessering, mat og fôr under henholdsvis forordning 1829/2003/EF og direktiv 2001/18/EF. Det er også fremmet søknader om godkjenning av 1507 og NK603 for dyrking (www.gmo-compass.org). Foreldrelinjene er i tillegg notifiserte som eksisterende produkter under forordning 1829/2003/EF. Godkjenningene av begge linjene gikk ut i april 2007, og Pioneer/Monsanto har søkt om fornyet godkjenning fram til 2017. Dossieret til søknaden (EFSA-GMO-RX-1507), med bruksområde fôrvarer, er lagt ut på EFSA-net.

Utenfor EU/EØS-området er maishybriden 1507 x NK603 godkjent for dyrking, og/eller omsetning som mat/fôr i Japan, Korea, Filippinene og Mexico (tabell 1, vedlegg). Oversikt over notifiseringer av foreldrelinjene er presentert i tabell 2 og 3 i vedlegg.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har tidligere foretatt en vurdering av både foreldrelinjene og hybrid 1507 x NK603 med hensyn på eventuelle helseeffekter ved bruk som mat og fôr (VKM 2004, 2005 a, 2006).

OPPDRAG FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad EFSA/GMO/UK/2005/04, genmodifisert maishybrid 1507 x NK603 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds, har Direktoratet for naturforvaltning og Mattilsynet i brev datert henholdsvis 4.4.2008 (ref.2005/3841 ART-BM-BRH) og 4.2.2008 (ref. 2008/13804) bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å foreta en vitenskapelig risikovurdering av maislinjen med hensyn på eventuelle effekter på helse og miljø. Bakgrunnen for oppdraget er at Norge i forbindelse med ved en eventuell implementering av EUs regelverk på genmodifisert mat og fôr, må ta endelig stilling til om søknaden skal innvilges også her i landet.

Faggruppe for genmodifiserte organismer skal vurdere søknaden om markedsføring av maishybriden til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003/EF. Oppdraget omfatter forhold knyttet til miljørisiko som gjelder for alle land som omfattes av godkjenningen (EØS-området), og på miljørisiko som vil være spesielt viktige for Norge. Det skal også gis en samlet konklusjon om miljørisiko i tråd med kravene i forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, vedlegg 2C.

Produktet som ønskes vurdert:

Genmodifisert maislinje 1507xNK603 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/UK/2004/05)

Unik kode: DAS-Ø1507-1 x MON-ØØ6Ø3-6

Status i EU: godkjent til import, prosessering, og som mat og fôr under forordning (EF) Nr 1829/2003 i 2007.

Ønsket svarfrist til DN: 1. juni 2008.

RISIKOVURDERING

1. Innledning

Risikovurderingen av den transgene maishybriden 1507 x NK603 er i hovedsak basert på dokumentasjon fra EFSA som er relatert til søknadene om godkjenning av hybridene for bruksområdene mat og fôr (EFSA/GMO/UK/2004/05) og dyrking (EFSA/GMO/UK/2005/17), samt foreldrelinjene 1507 (EFSA/GMO/NL/2004) og NK603 (EFSA/GMO/NL/2005/22). Denne informasjonen er tilgjengelig på EFSAAs nettside GMO EFSAAnet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk, og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven, forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, forordning 1829/2003/EF, samt kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 2.2.2005 vedtatt å bruke EFSAAs retningslinjer som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSAAs dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006a). Ved vurdering av vesentlig likhet har Faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes. I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet 23. april 2004 har Faggruppe for genmodifiserte organismer vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppe for genmodifiserte organismer får sakene til behandling, skal søknadene behandles på samme måte som i EU-landene, dvs. ved en noe forenklet risikovurdering. EFSAAs vurdering av maishybriden 1507 x NK603 ble publisert 28. mars 2006 (EFSA 2006b).

Det er kun medlemmene i Faggruppen som har vurdert den genmodifiserte maisen.

1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

F1-hybriden 1507 x NK603 er dannet ved tradisjonell kryssingsforedling mellom avkom av de genmodifiserte maislinjene 1507 og NK603.

Foreldrelinjen 1507 har fått innsatt et *cry1F*-gen fra *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* og et *pat*-gen, som er isolert fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. *Cry1F*-genet koder for et δ -endotoksin og gir resistens mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og nattflyarten *Sesamia nonagrioides*. *Pat*-genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicer (Finale mfl.). Herbicer, som er basert på glufosinat-ammonium, gir en irreversibel hemming av plantenes eget enzym glutaminsyntetase. Enzymet deltar i assimilasjonen av nitrogen og katalyserer omdanning av glutamat og ammonium til aminosyren glutamin. Ved sprøyting med fosfinotricin-herbicer vil inkorporeringen av nitrogen i planten blokkeres, og planten vil normalt dø etter kort tid på grunn av akkumulering av ammonium til et nivå som er toksisk for plantene. Når det introduserte *pat*-genet uttrykkes i de transgene maisplantene vil det aktive stoffet acetyleres og plantenes eget enzym glutaminsyntetase vil ikke hemmes. Syntesen av glutamat og detoksifiseringen av ammonium går derfor som normalt, og de transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras. Ifølge søker er *pat* nyttet som seleksjonsmarkør.

Foreldrelinjen NK603 er transformert med genet *cp4-epsps* fra bakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase (CP4 EPSPS), som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. N-fosfonometyl glycin (glyfosat) hemmer generelt EPSPS-enzymet og

blokkerer derved biosyntesen av aromatiske aminosyrer i planter. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt ved nærvær av glyfosat.

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 hybriden 1507 x NK603 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom maislinjene 1507 og NK603.

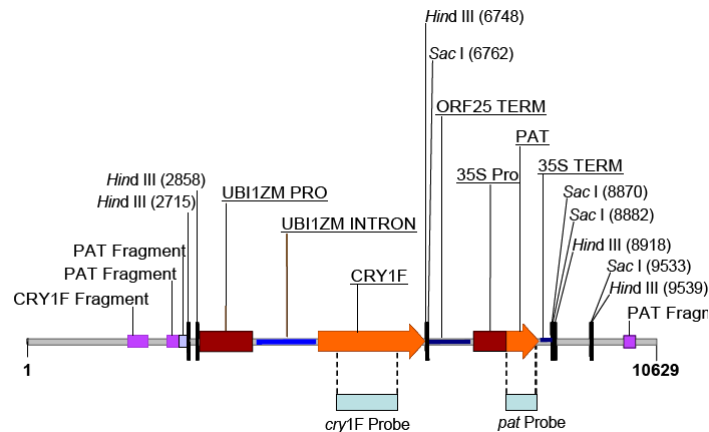
2.2. Evaluering av foreldrelinjer

2.2.1. Maislinje 1507

Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

Den genmodifiserte maislinjen 1507 uttrykker glufosinat- og insekttoleranse ved at et lineært DNA-fragment på 6235 basepar (1507 transkript) er ført inn i umodne maisceller ved hjelp av partikkel akselerasjonsmetoden. DNA- fragmentet inneholder følgende gener og DNA- elementer:

- a) *pat* gen fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. *Pat* genet uttrykker enzymet fosfotricin acetyltransferase (PAT, phosphinothricin acetyl transferase) som har høy spesifisitet overfor fosfotricin, som er den aktive komponenten i herbicider av glufosinat-typen. PAT inaktiverer fosfotricin ved N-acetylering og beskytter derved planten i et fosfotricinmiljø. Basesekvensene i genet er endret slik at genet kan uttrykkes i planter. PAT-proteinets aminosyresekvens i planten er lik bakterieproteinets aminosyresekvens.
- b) CaMV 35S Promoter og terminatoren CaMV 35S kommer fra agurk mosaikkvirus. Promoterer styrer uttrykket av *pat*. Termineringen av uttrykket styres av terminatoren CaMV 35S.
- c) *cryIF* genet kommer fra *Bacillus thuringiensis (B.t.)* sbsp. *aizawai*, som er en vanlig jordbakterie. Bakterien danner det intracellulære proteinkrystallet CryIF som har entomopatogen effekt. Basesekvensene i genet er endret slik at genet kan uttrykkes i planter. CryIF proteinets aminosyresekvens i planten er lik bakterieproteinets aminosyresekvens.
- d) *ubiZM1(2)* Ekspresjonen av *CryIF* reguleres av promoterer *ubiZM1(2)* som kommer fra mais.
- e) *mas1* Termineringen av ekspresjonen styres av terminatoren *mas1* fra *Agrobacterium tumefaciens*.



Figur 1. Restriksjonskart og beskrivelse av de forskjellige genelementene på det rekombinante DNA fragmentet som er satt inn i genomet til mais 1507.

Karakterisering av geninnsettingen/genkonstruksjonen

Southern blot - og sekvensanalyse viser at et nesten fullengde kopi av 1507 DNA fragmentet (6186 bp fra 6235 bp fragmentet) er satt inn i maisens genom. Et ca. 11 kb genomisk DNA fragment fra mais hvor 1507 fragmentet ligger på, er sekvensert. Dette DNA fragmentet inneholder begge genene og de respektive regulatoriske sekvensene til 1507 fragmentet. I tillegg inneholder dette fragmentet 6 ikke-funksjonelle DNA-fragmenter som stammer fra 6235 bp 1507 fragmentet. Disse 6 DNA fragmentene befinner seg enten ved 5' eller 3' endene til 6186 bp fragmentet.

Informasjon vedr. uttrykk av innsatte gener, åpne leserammer (ORF)

Analyser av uttrykk av Cry1F- og PAT-proteiner ble foretatt vha ELISA. Cry1F ble påvist i blad, pollen, 'silke', stilk, frø og hel plante, men uttrykket av proteinet varierte mellom ulike utviklingsstadier og organer/vev i planten. I pollen ble den gjennomsnittlige konsentrasjonen målt til 20,0 µg/g tørrvekt (maksimum 29,3 µg/g tørrvekt), mens nivået i frø og prøver av hele planten varierte mellom hhv 1,2-3,1 og 1,0-6,6 µg/g tørrvekt. Nivået av Cry1F viste seg å være uavhengig av dyrkingsbetingelser og herbicidbehandling. Med unntak av blad og ekstrakter fra hel plante, var nivået av PAT-protein under deteksjonsgrensen.

Western blot og påvisning med polyklonale antistoffer viser at både Cry1F- og PAT-proteinene har den forventede molekylvekt. Cry1F forelå som dublett, henholdsvis med 65 og 68 kD. Årsaken oppgis å være at planteproteaser spalter av et N-terminalt fragment, siden trypsinbehandling av Cry1F-proteinene gir et protein på 65 kD. Det er ingen indikasjoner på fusjonsproteiner. Cry1F ble påvist i blad, pollen, korn og hel plante. PAT ble kun påvist i blad.

Det gjort en detaljert studie for å påvise åpne leserammer. Det er påvist 5 åpne leserammer, ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 og ORF25PolyA. ORF25PolyA er deler av CaMV 35S promoter og terminator. ORF4 ligger inne i ORF25PolyA. ORF1 og 2 er deler av 1507 transkriptet, og de kommer fra maisgenomet. Disse to ORFene ble også påvist i umodifisert mais, men har ikke noen homologi til beskrevne sekvenser i maisgenomet. De har ikke regulatoriske elementer som kan føre til transkripsjon. ORF3 og ORF4 ligger henholdsvis på grensen av og inne i 1507 fragmentet. Det er ikke påvist ORF3- transkript ved Northern eller RT-PCR. Northern og RT-PCR analyser for påvisning av ORF4- transkript indikerer at heller ikke denne åpne leserammen er i stand til å føre til transkripsjon selv om den ligger inne i ORF25PolyA.

Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA

Utgangslinjen Hi-II med eventen 1507 ble krysset med en av Pioneers elitelinjer, og tilbakekrysset over 6 generasjoner. Genetisk stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist ved spaltingsdata og Southern analyse. Felteforsøk i Europa og USA over flere vekstsesonger har også vist at de innsatte genene er stabilt inkorporert i maisgenomet.

Konklusjon

Faggruppen har tidligere vurdert karakteriseringen av det rekombinante innskuddet, de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av 1507 til å være tilstrekkelige (VKM 2004).

2.2.2. Maislinje NK603

Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

Den genmodifiserte maislinjen NK603 uttrykker glyfosattoleranse pga et bakterie 5-enolpyruvylsikumat-3-fosfat syntetase enzym som uttrykkes av *cp4-epsps*-genet. Enzymet omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikumat-3-fosfat, som er en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. Alle planter og mikroorganismer inneholder dette enzymet, noe som dyr ikke gjør. De må dermed få aromatiske aminosyrer fra føden. *Cp4-epsps*-genet fra bakterien *Agrobacterium* stamme CP4 ble klonet inn i plasmidet PV-ZMGT32. Det rekombinante DNA-fragmentet på 6706 basepar fra PV-ZMGT32 plasmidet inneholder to ekspresjonskassetter med et enkelt *cp4-epsps*-gen i hver kassett. Den første kassetten inneholder en aktinpromoter og et intron (r-act P+I) fra ris, et optimalisert kloroplast overføringspeptid (CTP2), og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (NOS3'). Den andre ekspresjonskassetten inneholder en e35S-promoter, et ZmHSP70 intron *cp4-epsps* gen og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (NOS3'). DNA-fragmentet ble overført til embryomaisceller med partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotika-resistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

Beskrivelse av de innsatte genene

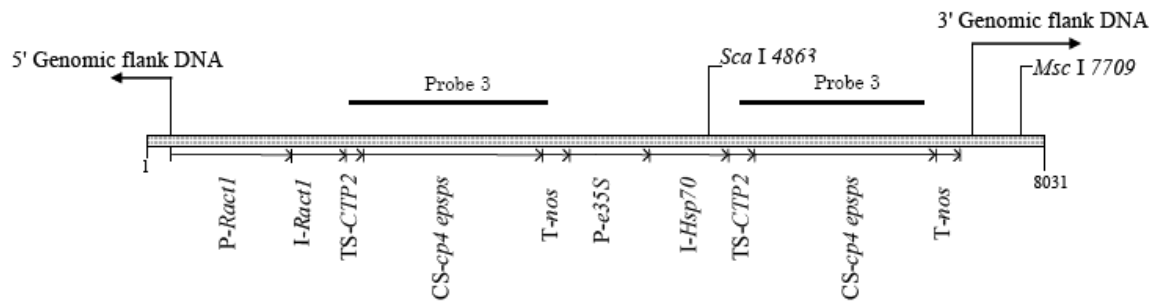
Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. De molekylærbiologiske karakteriseringene viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment i NK603 åkermais. Dette fragmentet inneholder:

Cp4epsps genkassett

- | | |
|---------------------------|--|
| a) <i>P-Ract1/I-Ract1</i> | Actingenets promoter og intron fra ris (1,4 kb) |
| b) <i>TS-CTP2</i> | <i>Arabidopsis thaliana</i> targeting sekvens (0,2 kb) |
| c) <i>CS-cp4epsps</i> | Gensekvensen <i>5 enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase</i> fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> stamme CP4 (1,4 kb) |
| d) <i>T-Nos</i> | Transkripsjonstermineringssekvens fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (0,3 kb) |

Cp4epspsl214p genkassett

- | | |
|----------------------------|--|
| a) <i>P-e35S</i> | Blomkålmosaikkvirus promoter (0,6 kb) |
| b) <i>I-Hsp70</i> | Heatshockprotein 70 promoter fra mais (0,8 kb) |
| c) <i>TS-CTP2</i> | <i>Arabidopsis thaliana</i> targeting sekvens (0,2 kb) |
| d) <i>CS-cp4epspsl214p</i> | Gensekvensen <i>epsps</i> fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> stamme CP4 (1,4 kb) |
| e) <i>T-Nos</i> | Transkripsjonstermineringssekvens fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (0,3 kb) |



Figur 3. Rekombinant DNA fragment fra mais-NK603 som er integrert i 1507 x NK603- genomet.

Karakterisering av geninnsettingen

Molekylærbiologisk analyse av NK603 viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i bakterien. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i NK603 åkermais uttrykker EPSPS-protein som er identisk (med unntak av en aminosyre) med proteinet som uttrykkes i bakterien.

Ved revers transkriptase PCR (RT PCR) ble det påvist et transkripsjonsprodukt som startet inne i det rekombinante fragmentet. Transkripsjonen gikk gjennom NOS-terminatoren og inn i maisgenomets flankerende 3' område. To eller flere mRNA molekyler ble dannet, ett på 1,4 kb (antatt å være *cp4-epsps L214P* transkriptet) og et større som er større enn 1,4 kb (antatt gjennomlesning av NOS). RT PCR viste at kun en svært liten del av det store fragmentet inneholdt *cp4-epsps* sekvens. Dette transkriptet kunne ikke påvises med Northern blot. Transkriptet på 1,4 kb ble påvist med Northern blot.

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er analysert, 300 bp oppstrøms og 500 bp nedstrøms. Sammenlignende analyse med foreldrelinjen LH82xB73 viste at de flankerende sekvensene til NK603s DNA-fragment stammer fra foreldrelinjen.

Strukturell og funksjonell likhet mellom CP4 EPSPS og CP4 EPSPSL214P er undersøkt med røntgenkristallanalyse, variabel løkkestruktur i proteinet som inneholder det nye prolinet, og domenet som inneholder det nye prolinet. Disse analysene viser at CP4 EPSPS L214P proteinet er strukturelt lik CP4 EPSPS proteinet. Analyse av enzymatisk aktivitet viser ingen forskjell mellom de to proteinene. Fordøyelighetstest viste også at begge proteinene fordøyes like raskt i simulert mage- og tarmsaft. Mengde CP4-EPSPS i korn er anslått til 0,01 % av den totale proteinmengden.

Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Krysning over seks generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjon viser at det rekombinante EPSPS-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet.

Delkonklusjon

Faggruppen har tidligere vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av CP4 EPSPS proteinet og funnet at informasjonen er tilstrekkelig (VKM 2006). Faggruppen konkluderer med at karakterisering av det rekombinante innskuddet i NK603 er tilfredsstillende.

2.2.3. Hybriden 1507 x NK603

1507 x NK603 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom maislinjene 1507 og NK603.

Molekylær karakterisering

Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelse og organisering av de innsatte genkonstruksjonene i maishybriden 1507 x NK603. I disse analysene er det benyttet ulike restriksjonszymer og genspesifikke prober for 1507 og NK603. For å verifisere molekylær

ekvivalens og at antall kopier i maishybriden er tilsvarende foreldrelinjen 1507, ble genomisk DNA ekstrahert fra 4 planter av 1507 x NK603 og 6 planter av 1507 og analysert vha Southern blot med *cry1F*- og *pat*-genprober. Videre ble det foretatt sammenligninger mellom hybridene og begge foreldrelinjene, fire planter av hver genotype. I disse analysene ble det benyttet genspesifikke prober mot 35S promoteren (som er felles for 1507 og NK603), *cry1F*- og *pat*-genene. Endelig ble 44 planter av 1507 x NK603 analysert med Southern blot med en DNA-probe inneholdende den kodende regionen av *cp4 epsps*-genet. Resultatene fra analysene av de rekombinante DNA innskuddene i 1507 x NK603-genomet viser at det er molekylær ekvivalens og identisk kopiantall med de rekombinante DNA innskuddene i henholdsvis 1507 og NK603. Sammenlignende analyser av Southern blot mellom hybridene 1507 x NK603 og de to foreldrelinjene viser at totalstørrelsen på de innsatte DNA-fragmentene er intakte. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra disse elementene.

Informasjon om uttrykk av introduserte gener

I følge Pioneer HiBred/Mycogen Seeds er nivået av uttrykk av Cry1F-, PAT- og CP4 EPSP-proteiner undersøkt i planter dyrket i feltforsøk på 6 lokaliteter i Chile vekstsesongen 2002-2003 (se 3.1). Konsentrasjoner av transgene proteiner er analysert i frø fra planter eksponert for henholdsvis glyfosat, glufosinat-ammonium (GA), glyfosat etterfulgt av GA, samt kontroll uten herbicidbehandling. I tillegg er det tatt prøver fra hele planter behandlet med glyfosat etterfulgt av GA. Proteinene ble ekstrahert og kvantifisert vha ELISA. I gjennomsnitt var nivåene av proteinene Cry1F, PAT og CP4 EPSP i frø sammenlignbare uavhengig av herbicidbehandling. Uttrykket av Cry1F-proteinet i frø varierte fra 0,53 til 2,43 ng/mg tørrvekt, og var i overensstemmelse med nivået i foreldrelinjen 1507 (1,2-3,1 ng Cry1F protein/mg tørrvekt). Nivået av CP4 EPSPS varierte fra 3,80 til 11,10 ng/mg tørrvekt og var sammenlignbart med nivået i NK603. Konsentrasjonen av PAT-proteiner i frø var under deteksjonsgrensen, dvs. 0,075 ng/mg t.v. Uttrykket av alle de tre transgene proteinene var høyere i vegetativt vev. I gjennomsnitt var nivået av Cry1F og CP4 EPSPS i maishybriden 5,57 og 62,0 ng/mg tørrvekt, mens konsentrasjonen av PAT ble målt til 0,58 ng/mg tv.

Resultater fra feltforsøk i Europa, presentert i dyrkningssøknaden fra 2005, viser variasjon i uttrykk av Cry1F-proteinet i vegetativt vev mellom 7,28 og 8,06 ng/mg tørrvekt. Nivået av PAT- og CP4 EPSPS-proteiner ble målt til henholdsvis 1,17 - 1,53 ng/mg tv og 92,7-104 ng/mg tv. I frø ble nivået av Cry1F i 1507 x NK603 målt til 1,55-1,76 ng/mg tv, mens konsentrasjonen av PAT-proteiner var under deteksjonsgrensen. Uttrykket av CP4 EPSPS-protein varierte fra 7,32 til 8,55 ng/mg tv. Nivået av samtlige proteiner var i overensstemmelse med nivået i foreldrelinjene.

Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Søker viser til spaltingsdata fra kryssinger over flere generasjoner med foreldrelinjene 1507 og NK603, og resultater fra en krysningsgenerasjon med hybridene 1507 x NK603 for å demonstrere genetisk stabilitet. Videre viser Southern analyser av de rekombinante DNA innskuddene i 1507 x NK603-genomet at det er molekylær ekvivalens og identisk kopiantall med de rekombinante DNA innskuddene i henholdsvis 1507 og NK603.

2.2.4. Delkonklusjon

Hybriden 1507 x NK603 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom maislinjene 1507 og NK603. Spaltingsdata og Southern-analyser indikerer at de innsatte strukturer nedarves stabilt, og at antall, struktur og organisering av disse genkonstruksjonene er ekvivalent med de som finnes i foreldrelinjene. Nivåene av Cry1F, PAT- og CP4 EPSPS-proteiner i vegetativt vev og frø er sammenlignbare med uttrykk av tilsvarende proteinprodukter i foreldrelinjene.

3. Komparative analyser

3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

Pioneer HiBred Int./Mycogen Seeds opplyser at det er foretatt registreringer av agronomiske karakterer og analyser av ernæringsmessig viktige komponenter av prøver fra hybridene fra seks forsøksfelt i Chile vekstsesongen 2002/2003. I søknad fra 2005 (EFSA/GMO/UK/2005/17), som omfatter alle bruksområder, presenterer Pioneer i tillegg resultater fra feltforsøk fra 3 lokaliteter i Spania og 2 i Bulgaria fra 2003. I dokumentasjonen fra søker opplyses det om at det har vært feltforsøk med 1507 x NK603 i EU i 2004 og 2005, men disse gir ifølge Pioneer ingen tilleggsinformasjon og er ikke inkludert i søknaden.

I både de europeiske og søramerikanske forsøkene bestod hvert forsøksfelt av et randomisert blokkdesign med 4 blokker (gjentak). Tre av blokkene ble benyttet til komparative analyser, mens den fjerde blokken ble brukt til analyser av proteinekspressjon. Testlinjen 1507 x NK603 ble dannet ved konvensjonelle kryssinger av elitelinjer inneholdende event DAS-Ø15Ø7-1 og MON-ØØ6Ø3-6. Som kontroll er det benyttet en ikke-transgen, nær-isogen linje, som hevdes å ha samme genetisk bakgrunn som den transgene testhybriden. Søker gir ingen ytterligere informasjon om komparator som er benyttet i disse forsøkene.

Alle gjentak med testhybriden 1507 x NK603 ble enten behandlet med herbicider med virkestoffene glyfosat eller glufosinat-ammonium på to ulike vekststadiet, alternativt glyfosat etterfulgt av en behandling med glufosinat-ammonium. Det ble ikke brukt herbicider på forsøksruter der kontrollhybriden ble dyrket.

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 $\pm 20\%$.

3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

Valget av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais, men det er ikke analysert for alle parametrene som er anbefalt i OECD dokumentet. Det ble analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), total fiber, kalorier, vann, aminosyrer, fettsyrer, jern, kalium, kalsium, magnesium, mangan, sink, vitaminene B1, B2, E, folinsyre, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-cumarinsyre, og anti-ernæringsstoffene fytinsyre og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

For hovedkomponentene er det ikke funnet statistiske forskjeller, med unntak for fett i mais sprøytet med glufosinat. Analyser over hovedkomponenter i maisplanten viser at verdier for alle disse hovedkomponentene ligger innenfor typiske verdiområder for andre maissorter som er publisert.

Fettsyresammensetning i maiskorn

Fettsyresammensetningen for 1507xNK603 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. For feltforsøkene i Chile ble det analysert for 22 fettsyrer. For forsøkene i Europa ble det undersøkt for 5 fettsyrer, som er i tråd med OECDs konsensusdokument. Målingene utført på 1507xNK603 i Chile viser statistiske forskjeller over flere forsøksfelter for fire fettsyrer, men ikke over alle forsøksfeltene. Målingene i Europa viser statistiske forskjeller for palmitinsyre og stearinsyre. For palmitinsyre er det funnet forskjeller over to av fem forsøksfelt, mens for stearinsyre ble det funnet statistiske forskjeller

over ett av fem feltforsøk. Forskjellene er mindre enn 10 %, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn

Analyser av aminosyrer er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. For feltene som er sprøytet med glyfosat + glufosinat og kun glufosinat er det funnet statistiske forskjeller for to og tre aminosyrer i de chilenske forsøkene. I de europeiske forsøkene er det funnet forskjeller for 9 aminosyrer. For alle de observerte statistiske forskjeller er det ikke påvist forskjeller over alle forsøksfeltene. Verdiene ligger innenfor 10 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer

Vitaminer som i henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør undersøkes for er A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin. Mengde av vitamin B2 er lavere enn påvisningsgrensen. Følgende vitaminer er ikke målt: Vit. B6, niacin og vit. C. Resultatene for vit. B1, folat og vit. E viser for 1507xNK603 til dels store statistiske forskjeller innenfor enkelte forsøksfelter, men disse forskjellene er ikke konsistente for alle forsøksfeltene. Forskjellene ligger innfor 15 % over forsøksfeltene.

Mineraler

Med unntak for selen, er mineralene som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Feltforsøk viser statistiske forskjeller for kalium, magnesium, mangan og sink i de chilenske forsøkene, mens for de europeiske er det påvist statistiske forskjeller for fosfor, kalium, kalsium, magnesium, mangan og sink. Forskjellen er ikke påvist over alle forsøksfeltene, og de påviste forskjellene ligger imidlertid 15 % og innenfor for typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Mengden av furural er lavere enn påvisningsgrensen. I de chilenske feltforsøkene der det er sprøytet med glufosinat er det funnet statistiske forskjeller for p-coumarin og ferulsyre. Forskjellene er mindre enn 15 %. I de to andre chilenske forsøksfeltene er det ikke funnet statistiske forskjeller for de målte parametrene. I de europeiske feltforsøkene er det statistiske forskjeller for inositol og raffinose, men forskjellene er ikke konsistente da det ikke er funnet statistiske forskjeller for alle forsøksfeltene. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA. For de statistiske forskjellene som er funnet ligger verdiene innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

3.3. Agronomiske egenskaper

Søker opplyser at det er foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst, samt sjukdoms- og insektresistens. Det er foretatt statistiske analyser innen steder og kombinerte analyser over steder for hver karakter. Fra de europeiske feltforsøkene viser resultatene av variansanalysen over steder signifikante forskjeller på 5 % nivå mellom 1507 x NK603 og den ikke-transgene kontrollinjen for karakterene tidlighet (antall døgngader til pollenspredning og dannelse av silkestråder), 'kolbehøyde' (avstand fra bakken til basis av første kolbe) og antall planter pr. forsøksrute ved modning. Analyser innen steder for disse karakterene viste signifikante forskjeller mellom testhybrid og kontroll på henholdsvis en og to lokaliteter for karakterene knyttet til tidlighet, 'kolbehøyde' og plantetetthet. I feltforsøkene fra Chile vekstsesongen 2002-2003 ble det ikke funnet signifikante forskjeller mellom 1507 x NK603 og komparator for noen av de undersøkte agronomiske egenskapene. Det ble heller ikke funnet endringer i pollen- og frøproduksjon, frøvitalitet eller spireprosent hos den transgene linjen sammenlignet med konvensjonell mais.

3.4. Delkonklusjon

Analysene av ernæringsmessig viktige komponenter viser statistiske forskjeller i enkeltparametere. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen mener at de forskjellene som er påvist, ikke har noen ernæringsmessig betydning. Med unntak av insekts- og herbicidtoleranse, viser feltforsøk i Europa og Sør-Amerika små eller ingen signifikante forskjeller mellom maishybriden 1507 x NK603 og konvensjonelle linjer med hensyn på agronomiske karakterer.

4. Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet

4.1. Toksisitet

Søknaden inneholder ikke dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt PAT-, Cry1F- og CP4 EPSPE-proteiner. Pioneer Hi-Bred hevder at siden dokumentasjon over disse fôringsforsøkene finnes i andre søknader som for eksempel NK603 og 1507, er det ikke nødvendig å inkludere denne dokumentasjonen i denne søknaden.

Fôringsforsøk på broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 840 dyr, fordelt på syv grupper à 120 dyr (12 bur à 5 hunn + 5 hann). Dyrene ble fôret med henholdsvis mais fra 1507 x NK603 som er behandlet med henholdsvis glufosinat, glyfosat og glyfosat etterfulgt av glufosinat, en tradisjonell kontroll og tre referansemaissorter. Gjennomsnittlig mengde Cry1F-protein i fôret var ca. 1 µg/g fôr (maks 1,17 µg/g, min 0,73 µg/g), mens gjennomsnittlig inntak av Cry1F er ca. 25 µg Cry1F per dag. Med unntak for lever- og nyrevekt ble det påvist enkelte testrelaterte statistiske endringer i de parametrene som ble målt. Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

4.2. Allergisitet

Bt-proteiner

Til tross for vel 50 års bruk av B.t.k. som sprøytemiddel er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksposering. Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinene. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallproteinene.

Adjuvans

Det har ikke vært utført immunologiske studier med de transgene produktene. Det er vist at Cry1Ac-proteinet binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot proteiner gitt samtidig (Vazquez-Padron et al. 2000a, Vazquez et al. 1999, Moreno-Fierros et al. 2003, Rojas-Hernández et al. 2004). Immunologisk kartlegging av systemisk og mucosal immunreaksjon på Cry1Ac har videre påvist at mus lager både systemisk IgM, IgG og sekretorisk IgA etter intraperitoneal og intragastrisk immunisering (Vazquez-Padron et al. 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer Cry1F toksinet som den transgene maislinjen lager. Det er vist at domene II fra Cry1Ab og Cry1Ac genererer ulik immunologisk respons i kanin (Vazquez-Padron et al. 1998). I en annen studie er det vist at Cry1Ac hadde utpreget mucosal adjuvanseffekt ved å potensere IgM-, IgG- og IgA-responsen mot hepatittvirusantigenet og bovint serumalbumin som ble gitt med sondefôring samtidig med Cry1Ac (Vazquez et al. 1999). Produksjonen av IgE-antistoff, som er knyttet til allergisk reaksjon, ble ikke målt. Også i tidligere studier (Prasad & Shetna 1975) er det påvist adjuvanseffekt av krystallprotein fra *Bacillus*

thuringiensis. Adjuvanseffekten av Cry1Ac er bekreftet i to senere publikasjoner med henholdsvis pneumokokk-antigen (Moreno-Fierros et al. 2003) og amøbe-lysat (Rojas-Hernández et al. 2004). Adjuvanseffekten av Cry1Ac ble funnet å være like sterk som adjuvanseffekten av koleratoksin (Vazques-Padron et al. 1999), som er et mye brukt slimhinneadjuvans i eksperimentelle studier av vaksinasjon og av allergi, og som regnes for å være det sterkeste slimhinneadjuvans vi kjenner.

Det gjennomsnittlige forbruket av mais i Europa er i følge søker 8,8 g/person/dag, mens for eksempel i Afrika er forbruket 106,2 g/person/dag (GEMS/FOOD 2003). Spesielle målgrupper, som barn, kan ha et langt større inntak av mais enn det beregnede gjennomsnittlige inntaket i Europa. I Frankrike er det rapporterte inntaket for store porsjoner, 97,5 persentil, for barn under 6 år 8,3 g/kg kroppsvekt/dag og for voksne 4,17 g/kg kroppsvekt/dag (FAO/WHO 2003). I henhold til Pioneer Hi-Bred er mengde Cry1F i maiskorn målt til henholdsvis 0,53 til 2,43 µg/g tørrvekt korn. Teoretiske beregninger fra faggruppen viser at dersom alt maisinntak i Europa kommer fra 1507 x NK603 vil dette medføre et inntak for voksne på 380 µg Cry-protein/person/dag. Teoretiske beregninger fra faggruppen viser at for barn som spiser store porsjoner blir inntaket 350 µg Cry-protein/kg kroppsvekt/dag og for voksne 180 µg/kg kroppsvekt/dag. De totale mengdene for henholdsvis barn og voksne blir da 6200 µg/barn/dag og 10800 µg/person/dag. De mengder CRY1Ac som ga mucosal adjuvanseffekt ved sondeføring av mus var fra 0,1 µg til 100 µg (Vazquez et al. 1999). De adjuvansdoser som brukes for immunisering av mus og mennesker i andre sammenhenger er ofte av samme størrelsesorden, det vil si om lag samme dose brukes til mus og menneske. Det er mulig at Cry1F som benyttes i 1507 x NK603 kan ha tilsvarende effekter som vist for det beslektede Cry1Ac-proteinet, som induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og økt reaksjon mot proteiner gitt samtidig. Dersom Cry1F 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. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i noen områder, bl.a. Nord-Italia. Man ville vente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. IgE ble ikke målt i de refererte studiene av adjuvanseffekt av CRY1Ac-proteinet. Uventede effekter av å sette inn nye gener kan opptre og kan føre til endret uttrykk av endogene proteiner. Det er imidlertid ikke påvist at slike effekter har skjedd med MON810 som inneholder CRY1Ab proteinet. MON810 har vært dyrket og konsumert siden 1996.

4.3. Delkonklusjon

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra 1507 x NK603 er mer allergifremkallende enn umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos maishybriden med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde CRY1F i maiskorn til sammen kan være opp til 2,43 ng/mg tørrvekt, mener Faggruppen at det må kreves av Pioneer Hi-Bred/Mycogen Seeds å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac.

5. Miljørisikovurdering

Maishybriden 1507 x NK603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger av foreldrelinjene 1507 og NK603. Foreldrelinjen 1507 har fått innsatt et *cry1F*-gen fra bakterien *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* og et *pat*-gen, som er isolert fra bakterien *Streptomyces viridochromogenes*. *Cry1F*-genet koder for et δ -endotoksin og gir resistens mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og nattflyarten *Sesamia nonagrioides*. *Pat*-genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicer av typen Finale. Den innsatte genkonstruksjonen i foreldrelinjen NK603 inneholder det bakterielle *cp4-epsps*-genet, som gir plantene toleranse mot herbicer med virkestoffet glyfosat.

Pioneer Hi-Bred/Mycogen Seeds' søknad om godkjenning av hybridlinjen 1507 x NK603 under forordning 1829/2003/EF omfatter bruksområdene næringsmidler, fôrvarer, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og 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 ikke intenderte effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

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

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

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

Spredning av mais til andre habitater i Europa er hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sjukdom og liten toleranse for lave temperaturer. Det er ikke påvist forskjeller mellom den insektresistente maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene, og det er det ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen hos 1507 x NK603 vil medføre økt fitness 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 den transgene sorten. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA. Siden mais ikke har viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, vil vertikal genoverføring være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

5.2.1. Horisontal genoverføring

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

Ut fra dagens vitenskapelig innsikt mht barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer, dyr eller mennesker gjennom inntak eller eksponering, er det ingenting som tyder på at transgenene i 1507 x NK603 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere dvs. annen dyrket mais i Europa. Det er blant annet gjort forsøk som ser på stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen hvor mus er oralt tilført M13 DNA. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter fôring. Svært små mengder av M13 DNA (<0.1 %) kunne spores i blodbanene i en periode på maksimum 24 timer, mens M13 DNA ble funnet i opptil 24 timer i lever og milt (Schubbert et al. 1994). Ved oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood et al. (2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist GM DNA i feces. Nielsen et al.(2000) og De Vries og Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det detektert svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien.

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra 1507 x NK603 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr. Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil skje horisontal genoverføring av DNA-materiale fra 1507 x NK603.

5.2.2. Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom 1507 x NK603 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.

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

5.3. Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Maislinjen 1507 x NK603 er transformert med *cryIF*-genet fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*. *CryIF*-genet koder for et δ -endotoksin og gir resistens mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og nattflyarten *Sesamia nonagrioides*. I Norge er det registrert enkeltfunn av maispyralise i Vestfold, Telemark og Agder (<http://nhm.uio.no/norlep/>), 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.

5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Sporadiske spillplanter av 1507 x NK603 med opphav i utilsiktet frøspredning under ulike omsetningsledd antas ikke å medføre risiko for ikke-målorganismer.

Når det gjelder indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais vil mesteparten av CRY-, PAT- og CP4 EPSPS- proteinene denatureres av enzymaktivitet (proteaser) i fordøyelseskanalen, og mikrobielle prosesser vil føre til en ytterligere nedbryting av proteinet i gjødsla. Dette medfører at svært lite CRY-, PAT- og CP4 EPSPS-proteiner blir spredt med husdyrgjødsel på dyrket mark, som igjen minimerer faren for eksponering av potensielt sensitive ikke-målorganismer. Spredning av CRY-toksinet, samt PAT- og CP4 EPSPS-proteiner via gjødsel antas derfor ikke å gi signifikante miljøeffekter.

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

Ved foreskrevne bruk av maislinjen 1507 x NK603 vil eksponeringsnivået av CRY-proteinet være svært lavt, og ikke medføre signifikante effekter på abiotisk miljø og biokjemiske prosesser.

5.6. Overvåking

I følge direktiv 2001/18/EF, annekset VII er formålet med overvåkingsplanen å bekrefte at alle antagelser i miljørisikovurderingen som gjelder forekomst og omfang av potensielle skadevirkninger av den genmodifiserte organismen, eller bruken av den er korrekt. Videre skal den identifisere forekomsten av skadevirkninger på menneskers helse eller miljøet som skyldes den genmodifiserte organismen eller bruken av den, og som ikke ble forutsett i miljørisikovurderingen.

Overvåking er relatert til risikohåndtering og en totalvurdering av overvåkingsplanen er derfor utenfor VKMs mandat. I henhold til oppdrag fra DN, skal imidlertid VKM diskutere behovet for særskilt overvåking. Dette gjelder både i de tilfeller hvor søker ikke har foreslått særskilt overvåking og i de tilfeller hvor søkers risikovurdering avdekker behov for en spesiell overvåkingsplan. I sistnevnte tilfelle skal VKM gi en vurdering av kvaliteten på søkers overvåkingsplan, om denne er egnet til å avdekke så vel umiddelbare og direkte virkninger som forsinkede og indirekte virkninger påvist i miljørisikovurderingen. VKM skal ikke vurdere innretningen av den generelle overvåkingen.

Notifiseringen EFSA/GMO/UK/2004/05 omfatter ikke dyrking, og potensiell miljøeksponering av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning. Miljørisikovurderingen som er presentert av søker identifiserer ingen endret risiko for miljø i forhold til annen mais. Pioneer Hi-Bred Int./Mycogen Seeds har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohåndtering eller en særskilt plan for overvåking av denne eventen.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for 1507 x NK603 anser Faggruppen at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av maishybriden.

5.7. Delkonklusjon

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen 1507 x NK603 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer, og omfatter ikke dyrking. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinjen 1507 x NK603 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser det for lite trolig at disse forskjellene har noen helsemessig konsekvens, og Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av tilgjengelige informasjonen ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen 1507 x NK603 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinene Cry1F, PAT og CP4 EPSPS ikke er akutt toksiske. Pioneer HiBred/Mycogen Seeds viser til sub-kroniske studier på rotter føret med maiskorn fra 1507 og NK603. Disse studiene viser at fôr som inneholder genmodifisert mais ikke fører til påvisbare helseeffekter på dyrene. Disse studiene er imidlertid ikke dokumentert i denne søknaden. Søker har ikke utført sub-kroniske studier på rotter med 1507 x NK603. Faggruppen konkluderer likevel med at det er lite sannsynlig at eksponering for Cry1F-, PAT- og CP4 EPSPS -proteiner i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, fører til påvisbar helseskade hos pattedyr og fugl.

Det er vist at Cry1Ac-proteinet binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot proteiner gitt samtidig. Det er mulig at Cry1F som benyttes i 1507 x NK603 kan ha tilsvarende effekter som vist for det beslektede Cry1Ac-proteinet, og derved indusere immunologiske reaksjoner mot seg selv og økt reaksjon mot immunologisk aktive proteiner gitt samtidig. Faggruppen mener derfor at det må kreves av Pioneer HiBred/Mycogen Seeds å kommentere de forsøk som gjort der det er påvist adjuvanseffekter av CRY1Ac og om slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt CRY1F-protein.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen 1507 x NK603 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av 1507 x NK603 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Medlemmene i Faggruppen finner det lite trolig at bruk av maislinjen 1507 x NK603 vil medføre endret risiko for miljø i forhold til annen mais. Faggruppen påpeker kunnskapshull knyttet til om Cry-

proteinet i 1507 x NK603 kan indusere immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot immunologiske aktive proteiner gitt samtidig.

REFERANSER

- Agbios (2008) Agbios GM Database. Information on GM Approved Products.
<http://www.agbios.com/dbase.php>
- Codex (2003) Codex Alimentarius Commission Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Fifth Session, Rome, Italy, June 30 – July 5, 2003. Report of the third session of the Codex ad hoc intergovernmental task force on foods derived from biotechnology. Appendix III, Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant- DNA plants, and Appendix IV, Annex of the assessment of possible allergenicity, pp 47-60.
- de Vries J & Wackernagel W (2002) Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(4):2094-2099.
- EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal* 48: 1-18. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html
- EFSA (2006a) Guidance document of the scientific panel on genetically organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. 100 p.
http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html
- EFSA (2006b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2004-05) for the placing on the market of insect-protected and glufosinate and glyphosate-tolerant genetically modified maize 1507 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred and Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* 355 1-23.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/gmo_ov_op5_annexa_en1_0.pdf
- Hallauer AR (2000) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Hernández M, Pla M, Esteve T, Prat S, Puigdomènech P, Ferrando P (2003) A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard[®] based on the 3'-transgene integration sequence. *Transgenic Research* 12: 179–189.
- Lid J & Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. 1230 s.
- Meadow R (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.
- Moreno-Fierros L, Ruiz-Medina EJ, Esquivel R, López-Revilla R & Piña-Cruz S (2003) Intranasal Cry1Ac protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of *Streptococcus pneumoniae* polysaccharides in mice. *Scand J Immunol.*, 57: 45-55.
- Netherwood T, Martín-Orúe SM, O'Donnell AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC & Gilbert HJ. (2004) Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nat Biotechnol* 22(2):204-209.
- Nielsen KM, van Elsas JD & Smalla K (2000) Transformation of *Acinetobacter* sp. 13(pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Appl Environ Microbiol* 66: 1237-42.

- Nielsen KM (2003) An assessment of factors affecting the likelihood of horizontal transfer of recombinant plant DNA to bacterial recipients in the soil and rhizosphere. Collection of Biosafety Reviews (Italy), Vol. 1. pp. 96-149.
- 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.
- Prasad SSSV & Shethna YI (1975) Enhancement of immune response by the proteinaceous crystal of *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis*. *Biochem Biophys Res Commun.*, 62: 517-521.
- Rojas-Hernández S, Rodríguez-Monroy MA, López-Revilla R, Reséndiz-Albor AA & Moreno-Fierros L (2004) Intranasal coadministration of the Cry1Ac protoxin with amoebal lysates increases protection against *Naegleria fowleri* meningoencephalitis. *Infect Immun.*, 72:4368-4375.
- Schubert GW, Lettmann C & Doerfler W (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice *Mol Gen Genet* 242:495-504.
- 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.
- Vazquez-Padron RI, Martinez-Gil AF, Ayra-Pardo C, Gonzalez-Cabrera J, Prieto-Samsonov DL & de la Riva GA (1998). Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. *Biochem Mol Biol Int.* 45(5):1011-20.
- Vazquez RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, De La Riva GA & Lopez-Revilla R (1999) *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scand J Immunol.*, 49: 578-84.
- Vazquez-Padron RI, Gonzales-Cabrera J, Garcia-Tovar C, Neri-Bazan L, Lopez-Revilla R, Hernandez M, Moreno-Fierro L & de la Riva GA (2000a) Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.* 271:54-8.
- Vazquez-Padron RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, Martinez-Gil AF, de-la-Riva GA & Lopez-Revilla R (2000b) Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz J Med Biol Res.*, 33:147-55.
- VKM (2004) Risikovurdering av genmodifisert maislinje 1507 (C/ES/01/01) under direktiv 2001/18/EF til bruk som fôrvare (04/303).
- VKM (2005a) Risikovurdering av genmodifisert maislinje 1507 x NK603 (EFSA/GMO/UK/2004/01).
- 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. 62 p.

VKM (2006) Risikovurdering av genmodifisert mais NK603 fra Monsanto (EFSA/GMO/NL/2005/22)
(05/315)

VEDLEGG

Tabell 1. Sammendrag over godkjenninger av maishybrid 1507 x NK603

Land	Utsetting	Mat og/eller fôr	Mat	Fôr
Japan	2005	2005		
Korea			2004	
Mexico		2004		
Filippinene			2006	2006

Kilde: Agbios (2008)

Tabell 2. Sammendrag over godkjenninger av maislinje 1507

Land	Utsetting	Mat og/eller fôr	Mat	Fôr
Argentina	2005	2005		
Australia			2003	
Canada	2002		2002	2002
Kina		2004		
Japan	2002		2002	2002
Korea			2002	2004
Mexico		2003		
Filippinene			2003	2003
Sør-Afrika		2002		
Taiwan			2003	
USA	2001	2001		

Kilde: Agbios (2008)

Vedlegg 2: Sammendrag over godkjenninger av NK603

Land	Utsetting	Mat og/eller fôr	Mat	Fôr	Markedsføring
Argentina	2004	2004			
Australia			2002		
Canada	2001		2001	2001	
Kina		2005			
EU			2004	2004	
Japan	2001		2001	2001	
Korea			2002	2004	
Mexico		2002			
Filippinene	2005			2003	2003
Sør Afrika	2002	2002			
Taiwan			2003		
USA	2000	2000			

Kilde: Agbios (2008)