



**Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje  
T25 fra Bayer CropScience  
(EFSA/GMO/RX-T25)**

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

**20.01.09**

## **BIDRAGSYTERE**

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

## **VURDERT AV**

### Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Knut G. Berdal (leder), Thomas Bøhn, Jihong Liu Clarke, Askild Holck, Helge Klungland, Casper Linnestad, Richard Meadow, Anne I. Myhr, Audun Nerland, Ingolf Nes, Kåre M. Nielsen, Hilde-Gunn Opsahl Sorteberg, Odd E. Stabbetorp, Vibeke Thrane og Rose Vikse

### Koordinatorer i sekretariatet:

Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

## SAMMENDRAG

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente maislinjen T25 (EFSA/GMO/RX-T25) fra Bayer CropScience er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM). VKM er bedt av Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning (DN) om å vurdere helse- og miljørisiko ved en eventuell godkjenning av maislinje T25 for alle bruksområder, inkludert dyrking. T25 er tidligere vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer i 2007 (VKM 2007 a,b, 2008).

Vurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EUs nettside GMO EFSA-nett knyttet til søknad om fornyet godkjenning, og fra EUs tidligere Vitenskapskomité for planter (SCP 1998, 2001). I tillegg er det benyttet informasjon fra uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. Maislinjen T25 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk (dyrking, fôr og mat), og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. I tråd med VKMs mandat presiseres det at vurderinger av etikk, bærekraft og samfunnsnytte i henhold til kravene i genteknologiloven og dens konsekvensutredningsforskrift, ikke skal utføres av Faggruppe for genmodifiserte organismer. Videre er kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2, 3 og 3B) og veiledende notat 2002/623/EF, samt EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006b) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002) lagt til grunn for vurderingen. Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon, karakterisering, uttrykk og nedarving av genkonstruksjonen, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, vitaminer, fettsyresammensetning, kritiske toksiner, metabolitter, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensialet for ikke tilsiktede effekter på fitness, genoverføring og mulige effekter på agroøkologiske miljø og dyrkingspraksis vurdert.

Den genmodifiserte maislinjen T25 har fått innsatt en genkonstruksjon med en enkeltkopi av *pat*-genet fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicer av typen Finale. Fosfinotricin er et ikke-selektivt kontaktherbicide som hemmer glutaminsyntetase. Enzymet deltar i assimilasjonen av nitrogen og katalyserer omdanning av glutamat og ammonium til aminosyren glutamin. Hemming av glutaminsyntetase fører til akkumulasjon av ammoniakk, og til celledød i planten. T25 plantene vil derfor tolerere høyere doser av sprøytemiddelet glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras. T25 inneholder en delvis deletert, trunkert og ikke funksjonell versjon av  $\beta$ -lactamase (*ampR*) gen, som ikke uttrykkes i maisplantene.

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

Det er funnet statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

*Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til human 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 et eventuelt avvikende vitaminnivå i T25 har liten ernæringsmessig betydning i Norge.*

Glufosinat-ammonium har helseklassifisering for både akutte og kroniske skadevirkninger på pattedyr inkludert mennesker, og er per i dag ikke godkjent for bruk i mais verken i Norge eller EU. Den introduserte egenskapen til planten er derfor ikke realiserbar innenfor dette området. En fullstendig miljørisikovurdering knyttet til dyrking av T25 med bruk av dette herbicidet er derfor ikke foretatt for EØS-landene, inkludert Norge. Dyrkning utenfor EØS, med bruk av glufosinat ammonium, vil kunne medføre helsefare for sprøytemannskap. Helseproblemstillinger knyttet til sprøytemiddelbruk og dyrking utenfor EØS er imidlertid ikke vurdert av faggruppen.

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

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

### **Samlet vurdering**

Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det ut fra foreliggende data, lite trolig at foreskrevne bruk av maislinjen T25 innenfor EØS-området vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais.

### **NØKKELORD**

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maislinje T25, fôrmais, sukkermais, EFSA/GMO/RX-T25, herbicidtoleranse, PAT, glufosinat-ammonium, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF

## INNHOLDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE .....	2
VURDERT AV .....	2
NØKKEWORD .....	4
INNHOLDSFORTEGNELSE .....	5
BAKGRUNN .....	7
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET .....	8
RISIKOVURDERING .....	9
1. Innledning .....	9
1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer .....	9
2. Molekylær karakterisering .....	10
2.1. Transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon .....	10
2.2. Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen i T25 .....	11
2.3. Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener og åpne leserammer (ORF) .....	13
2.4. Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA .....	14
2.5. Delkonklusjon .....	14
3. Komparative analyser .....	15
3.1. Analyser av ernæringsmessige komponenter .....	15
3.2. Agonomiske egenskaper .....	20
3.3. Delkonklusjon .....	21
4. Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet .....	21
4.1. Toksisitet .....	21
4.2. Allergenisitet .....	22
4.3. Delkonklusjon .....	23
5. Miljørisikovurdering .....	23
5.1. Innledning .....	23
5.2. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen .....	24
5.3. Potensiale for genoverføring .....	25
5.4. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser .....	27
5.5. Potensiale for effekter på agroøkologiske forhold, dyrkingspraksis etc. ....	28
5.6. Miljøovervåkingsplan .....	30
6. Vurdering av søkers dokumentasjon .....	31
KONKLUSJON .....	32

REFERANSER ..... 33

## BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Direktoratet for naturforvaltning og Mattilsynet om å foreta en vurdering av helse- og miljørisiko ved en eventuell fornyet godkjenning av maislinje T25 fra Bayer CropScience (EFSA/GMO/RX-T25).

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

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

Flere medlemsland har nedlagt nasjonale forbud mot utsetting av maislinjen T25 i henhold til den såkalte sikkerhetsklausulen i direktiv 2001/18/EF, Art. 23. I den forbindelse har EFSA's GMO-panel levert nye vurderinger av maislinjen (EFSA 2004a; 2006a).

Godkjenningen av T25 gikk ut 18. april 2007, og Bayer CropScience leverte i den forbindelse søknad om fornyet godkjenning under Forordning (EF) No. 1829/2003 om genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer (artiklene 3(1) og 15(1)), og i overensstemmelse med direktiv 2001/18/EF, del C. Søknaden omfatter bruksområdene import, videreprosessering, næringsmidler, fôrvarer og dyrking, og ble fremmet og anbefalt av nederlandske myndigheter 23.4.2007. Dossieret til søknaden (EFSA/GMO/RX-T25) ble lagt ut på EFSA-nett 10. juni 2008, med frist på 90 dager for innspill fra EU og EØS/EFTA-landene.

I Norge ble T25 innmeldt som prosessert fôrvarer under den nasjonale overgangsordningen for eksisterende GM-produkter 15. mars 2006 (jfr. fôrvarerforskriftens § 7a), og var tillatt å omsette på det norske markedet fram til 15. september 2008. Det er foreløpig uklart om overgangsordningen forlenges i påvente av innlemmelse av EUs rettsakter i EØS-avtalen. Notifiseringen gjelder fôrvarer både til landdyr og til oppdrettsfisk.

[http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00034/Tillatte\\_eksisterend\\_34512a.pdf](http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00034/Tillatte_eksisterend_34512a.pdf)

Fôrmaissorten "LLChardon" er den eneste avledete sorten fra T25 som er registrert i nasjonale sortslister i Europa (Agbios 2008). Oppføring av andre hybridsorter av T25 er foreløpig avsluttet i Europa. Utenfor EU/EØS-området er maislinjen T25 godkjent for dyrking i USA, Canada, Brasil, Argentina og Japan (vedlegg). I tillegg er maislinjen godkjent for import og ulik bruk, unntatt dyrking, i 8 land utenfor EU/EØS-området.

I Norge ble maislinjen T25 vurdert av Nasjonalt folkehelseinstitutt i 1996 med hensyn på risiko for allergi, effekter ved direkte håndtering, bruk som næringsmiddel og miljømessige forhold av helsemessig betydning. I forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av T25 som annen mais under direktiv 90/220/EF, vurderte VKM's Faggruppe for genmodifiserte organismer helse- og miljøaspekter knyttet til dyrking og bruk av maislinjen som næringsmiddel og fôrvarer i 2007 (VKM 2007 a,b). I forbindelse med at maislinjen ble søkt godkjent under forordning 1829/2003/EF i 2008 (EFSA/GMO/NL/2007/46) leverte faggruppen en ny risikovurdering av T25 for alle bruksområder (VKM 2008).

## **OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET**

Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning har i brev datert 12.5.2006 (ref. 2006/17817) og 23.4.2008 (ref. 2008/4367 ART-BI-BRH) gitt Vitenskapskomiteen for mattrygghet i oppdrag å foreta løpende risikovurderinger av genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer som faller inn under EUs forordning 1829/2003/EF. VKM er bedt om å vurdere helse- og miljøaspekter ved slike produkter, og på bakgrunn av vurderingene gi innspill til EFSA-net.

Søknad EFSA/GMO/RX-T25, genmodifisert maislinje T25, ble lagt ut på EFSA-net 9. oktober 2008. Faggruppe for genmodifiserte organismer skal, i tråd med oppdragsbrev, utarbeide en helse- og miljørisikovurdering av maislinjen for alle bruksområder, inkludert dyrking. Vurderingen av T25 skal utføres i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift 16. desember 2005 nr. 1495 om konsekvensutredning. Videre skal kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser, herunder prinsippene for miljørisikovurdering i vedleggene II, III og IIIB og veiledende notat 2002/623/EF legges til grunn for vurderingen. Prinsippene er nedfelt i EFSAAs retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter ("Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed") (EFSA 2006b).

I henhold til oppdragsbrev fra DN skal VKM primært fokusere på miljørisiko i EØS-området, og på miljørisiko som er spesifikke for Norge. Ved risikovurdering av herbicidresistente planter skal VKM vurdere miljørisiko som følge av bruken av herbicidet, basert på de endringer i sprøytemiddelbruk som kan forventes hvis planten tas i bruk. Det skal tas utgangspunkt i den regulering av bruk av herbicidet som gjelder på det tidspunkt søknaden vurderes. Videre heter det at dersom det er sannsynlig at reguleringen av bruken av det aktuelle herbicidet vil bli endret (hvis for eksempel mye tyder på at et herbicid vil bli tillatt eller forbudt i nær framtid) drøftes også hvilke konsekvenser dette vil få mht miljørisiko knyttet til herbicidbruk.

DN ber VKM gi en samlet konklusjon om miljørisiko i tråd med kravene i forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, vedlegg 2 C.

### *Produktet som ønskes vurdert:*

Genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (EFSA/GMO/RX-T25)

Unik kode: ACS-ZMØØ3-2

Notifikasjonsnummer i EU: C/F95/12-07

Status i EU: Godkjent for markedsføring under tidligere utsettingsdirektiv 90/220/EF i 1998 og notifisert under Novel Foods-forordningen Nr. 258/97/EF i 1998. Innmeldt som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF (art. 8 og 20) i 2004. Søknad om fornyet godkjenning under forordning 1829/2003/EF.

Frist for innspill til EFSA-net 9.1.2009.



# RISIKOVURDERING

## 1. Innledning

Risikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen T25 er i hovedsak basert på dokumentasjon fra EUs tidligere Vitenskapskomité for planter (SCP 1998, 2001) og informasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAs nettside GMO EFSAnet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i 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.

I tråd med VKMs mandat presiseres det at vurderinger av etikk, bærekraft og samfunnsnytte i henhold til kravene i genteknologiloven og dens konsekvensforskrift ikke skal utføres av Faggruppe for genmodifiserte organismer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter ved dyrking og prosessering utenfor EU/EØS-området.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har vedtatt å benytte EFSAs retningslinjer som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSAs dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006b). 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.

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

### 1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

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

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

## 2. Molekylær karakterisering

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

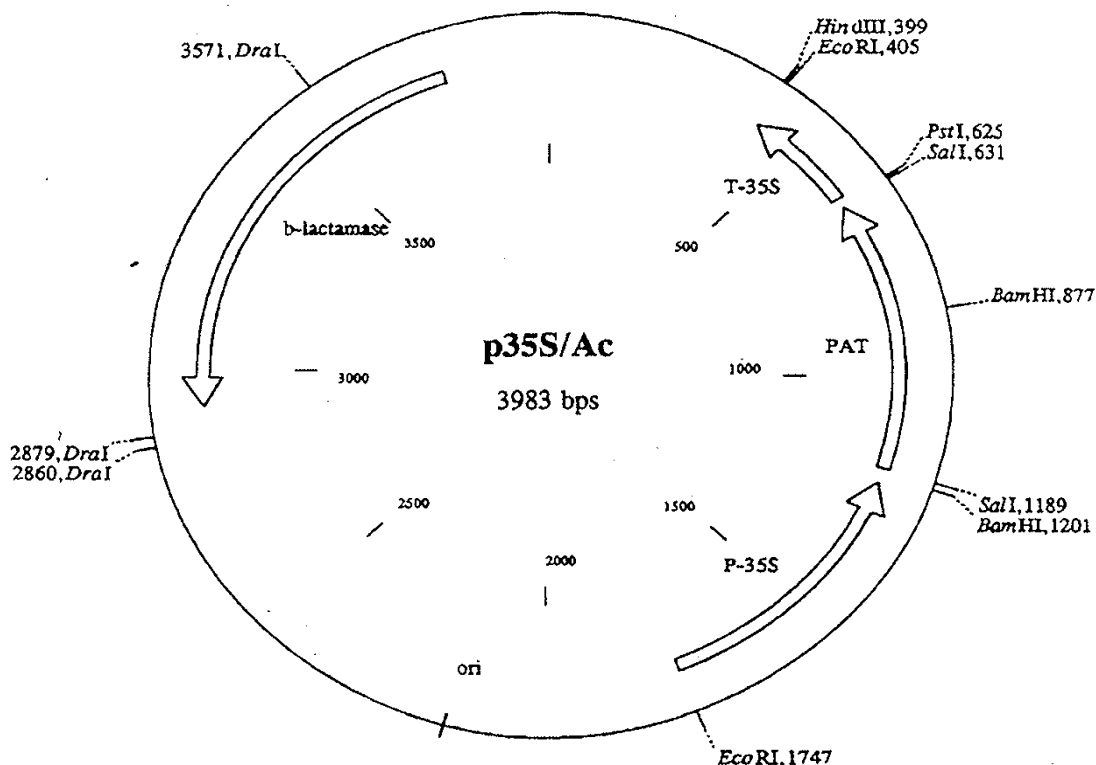
### 2.1. Transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon

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

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

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

Oppdatert Figur av vektor i tilleggsinformasjon.



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

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

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

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

## 2.2. Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen i T25

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

stabilt nedarvet.

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

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

Figur 4

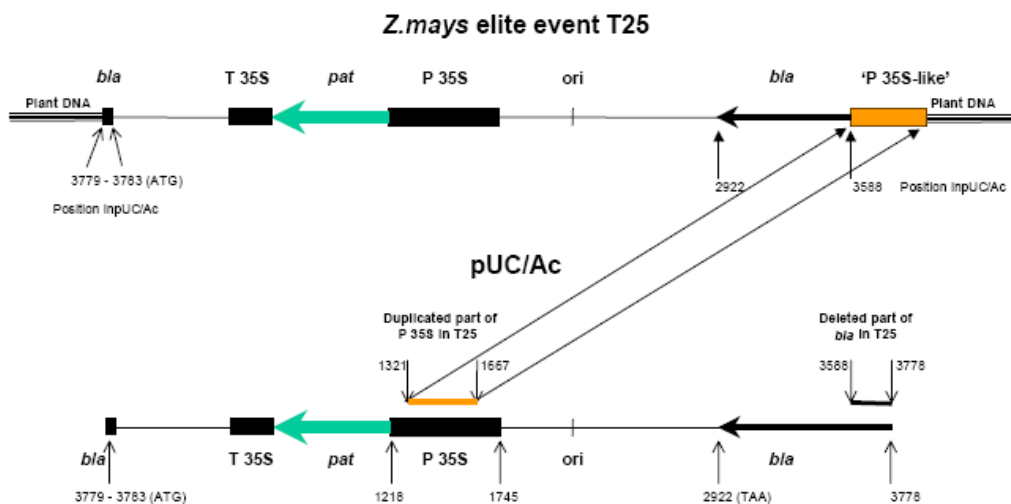


Figure 4. Schematic drawing of T25 and pUC/Ac

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

Figur 2

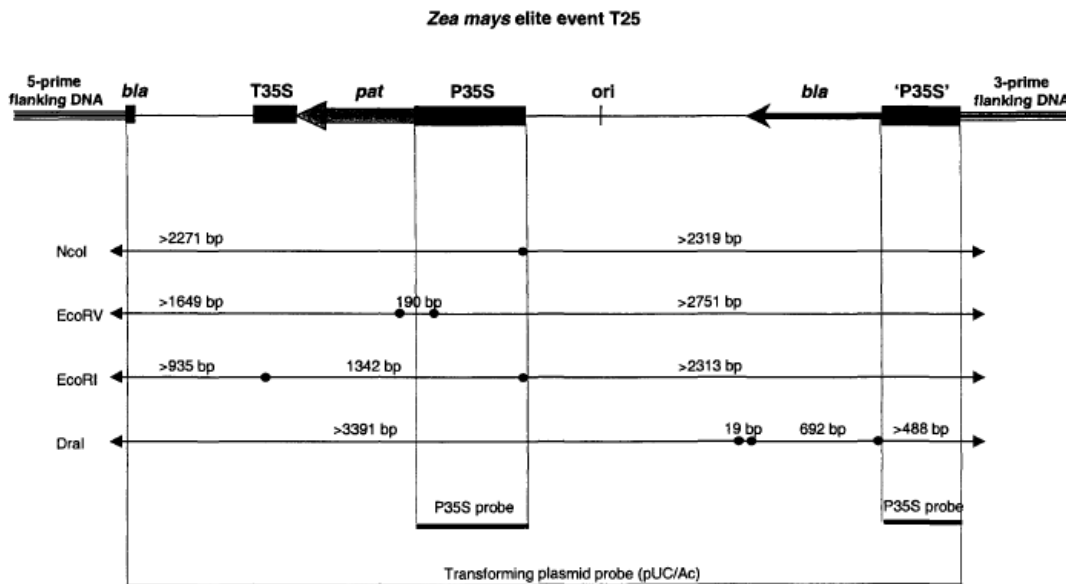


Figure 2: Hybridization strategy

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

I en nylig publisert karakterisering av insertet i T25 (Collonnier *et al.* 2005), beskrives rearrangement og duplisering av deler av insertet. Collonnier *et al.* viser at integreringstedet i T25 er i et område som har høy homologi med Huck retrotransposon familien, som representerer en sannsynlighet for ustabil integrering.

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

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

I dokumentasjonen fra 2007/2008 viser søker til at nivået av uttrykk av PAT-protein ble målt i et veksthusforsøk i Belgia i 2006. Forsøket bestod av T25 og en nær-isogen kontrollinje, totalt 160 planter. De transgene plantene ble behandlet med glufosinat-ammonium rett før prøvetaking. Det ble tatt prøver av blad, stilk og røtter på to ulike vekststadier (V5-6, modning). Prøver fra 10 planter fra hver gruppe ble analysert vha ELISA.

Det ble detektert PAT-protein i alle undersøkte vev og utviklingsstadier. Dette er som forventet siden genet er under kontroll av den konstitutive promotoren 35S. Nivået av PAT-protein i blad og stilk økte over tid, mens nivået i rotprøvene var tilnærmet konstant. Uttrykket av proteinet var høyest i grønt vev i begge vekststadier. Det ble vist en reduksjon av uttrykk av PAT-protein som andel av totalt løselig protein over tid i prøvene fra blad og stilk. Ifølge søker varierte konsentrasjonen i bladvev fra 3,06-1,58 %, stilk 0,58 -0,28 % og rotvev 0,67 – 0,54 %.

I et veksthusforsøk fra 1999 ble fosfinotricin acetyltransferase-aktiviteten undersøkt i prøver av pollen, blad, røtter og stilk ved måling av acetylering av L-<sup>14</sup>C-Glufosinate til <sup>14</sup>C-N-acetyl-glufosinat (HPLC). Prøvene ble tatt av T25-planter under blomstring. I tillegg ble PAT-aktiviteten i frø undersøkt. Den høyeste enzym-aktiviteten ble funnet i stilk og blad, henholdsvis 50,9 mU/mg protein og 41,3 mU/mg protein. Tilsvarende ble det målt 5,3 og 0,682 mU/mg protein i røtter og frø. Det ble ikke påvist PAT-aktivitet i pollen

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

## 2.4. Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA

Søker viser til resultater av Southern analyse og spaltingsdata innen og over generasjoner for å vise genetisk og fenotypisk stabilitet. I tillegg henvises det til resultater fra analyser av proteinuttrykk over flere generasjoner og kontinuerlig overvåking av fenotypisk stabilitet over en rekke generasjoner i forbindelse med kommersiell dyrking av maislinjen. *Pat*-genet i T25 nedarves som ett locus, og uttrykkes stabilt, uavhengig av genotype, generasjon og miljø.

## 2.5. Delkonklusjon

Maislinjen T25 har fått tilført en modifisert utgave av *pat* genet fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494, og et delvis deletert  $\beta$ -lactamase fra pUC vektoren ved genoverføring til protoplaster. Etter ny informasjon fra søker om integreringsplass, flankesekvenser mellom integrert transgen og genomet og Southern, er det fra nedarvingsresultatene grunn til å tro at transgenene sitter i et locus i genomet. I en nylig publisert karakterisering av insertet i T25 (Collonnier *et al.* 2005), beskrives det at integreringsstedet i T25 er i et område som har høy homologi med Huch retrotransposon familien, som representerer en økt sannsynlighet for ustabil integrering. Bayer hevder at sannsynligheten for ekspresjon fra insertet av andre proteiner enn PAT er usannsynlig. Uten vedlagt dokumentasjon kan vi ikke si noe sikkert her angående *pat*, utover at genet uttrykkes og gir et forholdsvis lavt proteinprodukt. Det trunkerte  $\beta$ -lactamase-genet uttrykkes ikke i T25 mens *pat* genet er funksjonelt. T25 muliggjør ugrasbekjemping i mais med glufosinatpreparater, dvs ikke-selektive og ikke systemiske kjemikalier.

### 3. Komparative analyser

#### 3.1. Analyser av ernæringsmessige komponenter

##### 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 enkeltparametre skal være sammenlignbare for genetisk modifisert plante og umodifisert plante. I rapporten er det anbefalt at spredningen i enkeltverdier bør ligge innenfor  $\pm 20\%$ . Faggruppe for genmodifiserte organismer benytter denne anbefalingen som grunnlag for vurdering av forsøksresultatene.

Flertallet av de valgte analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Analyser av hovedkomponenter for T25 fôrmais ble generert fra 15 forskjellige lokaliteter i Europa i 1999 og 2000, mens for T25 sukkermais er analysene fra 14 forskjellige lokaliteter i USA i 2002 og 2003. Søker har foretatt analyser av protein, fett, aske, karbohydrater, total fiber (TDF) og vann. Analyser av ADF (acid detergent fibre) og NDF (neutral detergent fibre) mangler. Det ble påvist statistisk signifikante forskjeller mellom fôrmais T25 og umodifisert mais i 1 til 2 lokaliteter av de 15 lokalitetene for noen av komponentene som er analysert i korn, se tabell 27. Verdiene ligger innenfor publiserte verdiområder for andre maissorter. Når det gjelder T25 sukkermais er det funnet signifikante forskjeller mellom testlinje og kontroll i 1 til 4 av de 14 lokalitetene, se tabell 43. Statistiske analyser over lokaliteter viser, med unntak for NDF, ingen signifikante forskjeller for de analyserte komponentene.

Table 27. Results of the By Site T-tests for Proximate and Fibre Compounds

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Proximate + Total dietary fibre				
Moisture	-	15	-	15
Fat	1	14	1	14
Protein	1	14	1	14
Total dietary fibre	1	14	1	14
Ash	2	13	2	13
Total Carbohydrates	1	14	1	14
Available Carbohydrates	2	13	5	10

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.

A = non-transgenic, control samples,  
B = transgenic, not Liberty treated samples,  
C = transgenic, Liberty treated samples

Table 43. Results of the By Site T-tests for Minerals

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Minerals				
Potassium	3	11	2	12
Phosphorus	4	10	2	12
Magnesium	3	11	5	9
Sodium	-	4	-	4
Sodium #	-	8	-	8
Calcium	3	11	1	13
Iron	3	11	3	11
Manganese	3	11	3	11
Copper	-	14	2	12
Zinc	1	13	5	9

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.

A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples

# 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments

*Fettsyresammensetning i maiskorn*

Analyser av fettsyrer er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. Søker opplyser at det ble analysert for 15 fettsyrer i T25 fôrmais og 27 fettsyrer i T25 sukkermais. I de tilfeller der 2/3 av de analyserte verdiene av fettsyrer var under eller ved deteksjonsgrensen, ble fettsyrene ekskludert fra de statistiske analysene. Dette gjelder henholdsvis 2 fettsyrer i fôrmais og 16 fettsyrer i T25 sukkermais.

Av de fettsyrene som er analyserte statistisk, viser analyser av fettsyrene linolje-, linolen-, olje-, palmitin-, arakidon- og stearinsyre statistisk signifikante forskjeller ( $p < 0.05$ ) mellom fôrmais T25 og kontrollinjen, og mellom sukkermais T25 og kontrollinje. De statistisk signifikante forskjellene er funnet i 1 til 5 lokaliteter av de 14 og 15 lokalitetene, se tabell 33 (fôrmais) og tabell 46 (T25 sukkermais). For de øvrige analyserte fettsyrene ble det ikke påvist signifikante forskjeller mellom fôrmais T25 og kontroll, og sukkermais T25 og kontroll. Mengdene av alle påviste fettsyrer ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

**Table 33. Results of the By Site T-tests for Total Fatty Acids**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total fatty acids				
C14:0 Myristic Acid #	-	15	-	15
C16:0 Palmitic Acid	1	14	1	14
C16:1 Palmitoleic Acid	-	12	3	9
C16:1 Palmitoleic Acid #	-	13	3	10
C17:0 Margaric Acid #	-	13	-	14
C18:0 Stearic Acid	3	12	4	11
C18:1 Oleic Acid	3	12	4	11
C18:2 Linoleic Acid	3	12	3	12
C18:3 Linolenic Acid	2	13	4	11
C20:0 Arachidic Acid	1	14	1	14
C20:1 Gadoleic Acid	2	13	1	14
C22:0 Behenic Acid	-	3	-	3
C22:0 Behenic Acid #	-	15	-	15
C24:0 Lignoceric Acid	-	3	-	3
C24:0 Lignoceric Acid #	-	15	-	15

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples  
# 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments

**Table 46. Results of the By Site T-tests for Total Fatty Acids**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total fatty acids				
C8:0 Caprylic Acid #	-	14	-	13
C10:0 Capric Acid #	-	14	-	13
C12:0 Lauric Acid #	-	11	-	12
C14:0 Myristic Acid #	-	13	-	12
C15:0 Pentadecanoic Acid #	-	14	-	13
C16:0 Palmitic Acid	2	12	4	10
C16:1 Palmitoleic Acid	2	7	3	6
C16:1 Palmitoleic Acid #	2	9	3	8
C17:0 Heptadecanoic Acid	-	1	-	1
C17:0 Heptadecanoic Acid #	-	14	-	13
C18:0 Stearic Acid	2	12	2	12
C18:1 Oleic Acid	4	10	2	12
C18:2 Linoleic Acid	3	11	4	10
C18:3 Linolenic Acid	3	11	6	8
C20:0 Arachidic Acid	1	13	1	13
C20:1 Eicosenoic Acid	-	14	1	13
C22:0 Behenic Acid	2	11	3	10
C22:1 Erucic Acid #	-	11	-	11
C24:0 Lignoceric Acid	1	13	2	12
C22:6 Docosahexaenoic Acid	1	5	2	4

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples  
#) 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments



### Aminosyrer i maiskorn

Innholdet av essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert i henhold til OECDs konsensusdokument. Resultatene både for T25 fôr- og - sukkermais viser at det ikke er statistisk signifikante forskjeller mellom fôr-, sukkermais og tilhørende kontrollinjer i flertallet av lokalitetene, se tabell 31 (fôrmais) og tabell 45 (sukkermais). Analyser av frie aminosyrer viser ingen signifikante forskjeller mellom T25 fôr-, - sukkermais og tilhørende kontrollinjer. Verdiene for alle aminosyrene ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen.

Table 31. Results of the By Site T-tests for Total Amino Acids

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total amino acids				
Total Alanine	3	12	1	14
Total Arginine	1	14	1	14
Total Aspartic Acid + Asparagine	3	12	2	13
Total Cystine	5	10	5	10
Total Glutamic Acid + Glutamine	3	12	1	14
Total Glycine	1	14	2	13
Total Histidine	2	13	2	13
Total Isoleucine	3	12	1	14
Total Leucine	1	14	1	14
Total Lysine	3	12	2	13
Total Methionine	1	14	1	14
Total Phenylalanine	4	11	2	13
Total Proline	4	11	3	12
Total Serine	2	13	2	13
Total Threonine	2	13	3	12
Total Tryptophan	1	14	2	13
Total Tyrosine	1	14	2	13
Total Valine	3	12	1	14

Table 45. Results of the By Site T-tests for Total Amino Acids

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total amino acids				
Alanine	5	9	1	13
Arginine	1	13	1	13
Aspartic Acid	4	10	2	12
Cystine	3	11	2	12
Glutamic Acid	3	11	2	12
Glycine	3	11	2	12
Histidine	3	11	4	10
Isoleucine	2	12	4	10
Leucine	2	12	6	8
Lysine	3	11	1	13
Methionine	1	13	1	13
Proline	4	10	5	9
Phenylalanine	2	12	5	9
Serine	3	11	2	12
Threonine	2	12	4	10
Tryptophan	2	12	3	11
Tyrosine	1	13	3	11
Valine	3	11	4	10

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples

### Vitaminer

I henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør følgende vitaminer analyseres; B1, B2, B6, vitamin E (aktivitet) ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - og  $\delta$ -tokoferol samt  $\alpha$ -tokotrienol), folat/folinsyre, niacin, vitamin A og vitamin C. I følge dokumentasjonen fra søker er det ikke analysert for innhold av vitamin C, B6 (T25 sukkermais), folat (T25 sukkermais) og vitamin A (fôrmais). I tillegg er det målt for  $\beta$ -karoten (prekursor for vitamin A), pantotensyre og kolin.

Innholdet av vitamin A var lavere enn påvisningsgrensen i sukkermais. Når det gjelder fôrmais ble det ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom T25 og kontroll for de målte vitaminene i flertallet av lokalitetene, se tabell 22 og 29. Analyser over alle lokalitetene viser for færre enn 5 lokaliteter signifikante forskjeller mellom T25 sukkermais og kontroll, se tabell 44. For vitamin B2 ble det funnet forskjeller på 25,2 % mellom testlinje og kontroll på én av lokalitetene. For de øvrige lokalitetene var forskjellen mindre enn 20 %. For kolin er forskjellene over alle lokaliteter mindre enn

20 %. Vitamin C og folat er ansett som viktige vitaminer i sukkermais og står oppført i OECDs konsensusdokument.

**Table 22. Mean and Standard Deviation (SD) for Vitamin B6 in LL Maize T25 and Non-transgenic Maize Grain, p-Value from t-Test and Vitamin B6 Range of Commercial Maize Varieties**

	Non-Transgenic (A)		Transgenic (B)		t-Test A vs B p-value	Reference Range <sup>a</sup>
	Mean	SD	Mean	SD		
Vitamin B6 mg/kg dm	5.53	0.448	5.70	0.523	0.519	4.6 – 9.6

<sup>a</sup> Reference range obtained from OECD, 2002

**Table 29. Results of the By Site T-tests for Vitamins**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Vitamin B1	1	14	3	12
Vitamin B2	3	12	2	13
Niacin	3	12	4	11
Pantothenic acid	4	11	1	14
Folic acid	4	11	-	15
alpha tocopherol	-	14	1	13
beta tocopherol	-	11	-	11
gamma tocopherol	-	14	1	13
delta tocopherol	2	12	2	12
alpha tocotrienol	-	14	1	13
Vitamin E	-	15	2	13

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples, B = transgenic, not Liberty treated samples, C = transgenic, Liberty treated samples

**Table 44. Results of the By Site T-tests for Vitamins**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Vitamin B1	2	12	3	11
Vitamin B2	2	12	4	10
Niacin	3	11	3	11
Pantothenic Acid	4	10	4	10
Choline	1	13	2	12
Beta Carotene	-	4	1	3
Beta Carotene #	-	14	1	13
Cryptoxanthin #	-	13	-	13

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples  
# 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments

### Mineraler

Med unntak for selen, er OECDs konsensusdokument for mais fulgt med hensyn på mineraler. I tillegg har søker målt innholdet av klorid i fôrmais. Natriuminnholdet var lavere enn påvisningsgrensen. Det er ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom T25 fôrmais og kontroll for de målte mineralene, se tabell 28. Det er påvist statistiske forskjeller mellom T25 sukkermais og kontroll innenfor lokaliteter og mellom lokaliteter for noen av mineralene, se tabell 43. Statistiske analyser over lokaliteter viser ingen signifikante forskjeller mellom test- og kontrollinjen med hensyn på innhold av fosfat, kalium, magnesium og sink.

**Table 28. Results of the By Site T-tests for Minerals**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Minerals				
Calcium	3	12	4	11
Phosphorus	-	15	1	14
Potassium	1	14	3	12
Magnesium	-	15	1	14
Iron	1	14	2	13
Manganese	-	15	2	13
Copper	5	10	6	9
Zinc	-	15	1	14
Chloride	1	9	1	9
Chloride #	6	9	6	9

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples, B = transgenic, not Liberty treated samples, C = transgenic, Liberty treated samples  
# 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments

**Table 43. Results of the By Site T-tests for Minerals**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Minerals				
Potassium	3	11	2	12
Phosphorus	4	10	2	12
Magnesium	3	11	5	9
Sodium	-	4	-	4
Sodium #	-	8	-	8
Calcium	3	11	1	13
Iron	3	11	3	11
Manganese	3	11	3	11
Copper	-	14	2	12
Zinc	1	13	5	9

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples  
# 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments

### Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer er ikke målt i henhold til OECDs konsensusdokument. Når det gjelder fôrmais er det kun analysert for innhold av fytinsyre, se tabell 30. Det ble ikke påvist statistiske signifikante forskjeller over alle lokaliteter. I T25 sukkermais er det målt for fytinsyre og trypsinhemmer. Mengdene av både fytinsyre og trypsinhemmer var lavere enn påvisningsgrensen.

**Table 30. Results of the By Site T-tests for Phytic Acid**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Anti-nutrient				
Phytic Acid	3	12	3	12

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.  
A = non-transgenic, control samples  
B = transgenic, not Liberty treated samples  
C = transgenic, Liberty treated samples

### Sukkerarter og stivelse

I T25 sukkermais og kontroll er det målt for stivelse, fruktose, galaktose, glukose, laktose, maltose, staktyose og sukrose. Mengdene av galaktose, laktose og staktyose var lavere enn påvisningsgrensene. Sukrose og fruktose er påvist på noen lokaliteter, men ikke over alle lokalitetene. På enkelte lokaliteter ble det for alle de andre parametrene funnet forskjeller som var større enn 20 %. For stivelse og sukkerartene er det ekvivalens for de fleste lokalitetene, se tabell 47. Statistisk analyse over alle lokalitetene viser signifikante forskjeller for fruktose, glukose, maltose og sukrose ( $p > 0.05$ ), se tabell 36.

**Table 36. Starch and Sugars in Grains of Glufosinate-Tolerant Sweet Maize T25 and the Non-transgenic Counterpart Compared to Commercial Sweet Maize Varieties (Reference ranges)**

Parameter	% dm				A/B <sub>b</sub>	A/C <sub>c</sub>
	Non-Transgenic (Mean ± SD) (A)	Transgenic Not sprayed (Mean ± SD) (B)	Transgenic Sprayed (Mean ± SD) (C)	Reference range <sup>a</sup>		
Starch	32.07 ± 13.62	31.75 ± 13.19	31.65 ± 14.62	48.6	Yes	Yes
Fructose	5.51 ± 4.45	5.75 ± 5.84	5.70 ± 4.97	0.9 - 2.1	No	Yes
Galactose	< 0.100	< 0.100	< 0.100	ND	Yes	Yes
Glucose	21.86 ± 12.09	21.13 ± 10.81	21.40 ± 11.07	1.4 - 3.5	Yes	Yes
Sucrose	4.58 ± 2.25	3.45 ± 2.17	2.94 ± 1.41	4.5 - 5.5 <sup>d</sup>	Yes	Yes
Lactose	< 0.100	< 0.100	< 0.100	ND	Yes	Yes
Maltose	4.04 ± 3.05	3.41 ± 2.74	3.54 ± 2.70	1.1	No +	No +
Raffinose	< 0.100	< 0.100	< 0.100	0.1 - 0.8	Yes	Yes
Stachyose	< 0.100	< 0.100	< 0.100	ND	Yes	Yes

ND No data

a Reference ranges from table 3 of appendix A; conversion from mg/100g dm to %dm by  $f=0.001$

b Summary of the equivalence evaluation non-transgenic vs. Transgenic not Liberty<sup>®</sup> treated over-all-sites

c Summary of the equivalence evaluation non-transgenic vs. Transgenic Liberty<sup>®</sup> treated over-all-sites

d Reference range for standard sweet maize is selected, since transformation event T25 has been bred into a standard sweet maize variety (see section 1.3)

**Table 47. Results of the By Site T-tests for Starch and Sugars**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Sugars and Starch				
Fructose	2	11	4	9
Glucose	3	11	1	13
Sucrose	-	4	2	2
Sucrose #	-	11	2	10
Maltose	3	11	3	11
Starch	1	13	2	12
Fructose	2	11	4	9
Glucose	3	11	1	13

\*) Number of sites with significant ( $p < 0.05$ ) and not significant ( $p > 0.05$ ) treatment differences.

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

# 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of detection for the respective two treatments

## 3.2. Agronomiske egenskaper

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

I dokumentasjonen fra 2008 er det presentert resultater fra fire feltforsøk med LLMaize T25 i sørlige og nordlige deler av Frankrike vekstsesongen 2000. Forsøkene var designet som fullstendig randomiserte blokker med 4 gjentak. I disse forsøkene ble kontrollinjer behandlet med et konvensjonelt sprøyteregime, og sammenlignet med T25 behandlet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glufosinat-ammonium. Det ble benyttet 4 ulike ikke-transgene kontrollinjer, tilpasset de ulike dyrkingsbetingelse i nordlige og sørlige deler av Frankrike. Det ble foretatt registreringer av 6

ulike kvantitative karakterer, dvs. blomstring (antall dager etter såing), plantehøyde, plantetetthet, avling, kolbelengde og – diameter. I tillegg ble det gjort observasjoner av andre morfologiske karakterer, samt resistens mot sjukdommer og skadedyr. Variansanalysen viser signifikante forskjeller ( $p < 0.01$ ) mellom testlinje og komparator med hensyn på blomstring, og genotype x sted-samspill for denne karakteren. På to av lokalitetene ble det funnet signifikant tidligere blomstring hos kontrollinjene sammenlignet med T25 (opp til 5 dagers forskjell). Det ble også registrert forskjeller i avling mellom testlinje og komparator på to av feltene, men med motsatt fortegn. For de øvrige karakterene ble det ikke funnet signifikante forskjeller mellom T25 og de konvensjonelle kontrollinjene.

Avledete hybridsorter av T25 har inngått i offisiell sortsprøving i en rekke europeiske land. I perioden 1999 til 2002 ble maislinjen testet i verdiprøving i Frankrike, Spania, Tyskland, Nederland og Ungarn. I følge søker ble det ikke påvist forskjeller i agronomiske karakterer mellom hybridsortene av T25 og ikke-transgene kontrollsorter (data ikke tilgjengelig).

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

### 3.3. Delkonklusjon

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler for mais. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Det er funnet statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at eventuelt avvikende vitaminnivå i T25 har liten ernæringsmessig betydning.

Med unntak av forskjeller i blomstringstidspunkt, viser undersøkelser av agronomiske karakterer ingen signifikante forskjeller mellom T25 og kontrollinjer.

## 4. Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet

### 4.1. Toksisitet

#### *PAT-protein*

Fôringsforsøkene med renfremstilt protein er gjort i henhold til OECDs retningslinjer "OECD guidelines for testing of chemicals no. 407, Repeated dose 28-days oral toxicity studies in rodents" 1995 og i henhold til retningslinjer for god laboratoriepraksis (GLP) (OECD, sveitsiske-retningslinjer

og Japans MAFF-retningslinjer). Studien skiller seg fra OECDs retningslinjer ved at undersøkelsen strekker seg bare over 14 dager. Det er ikke funnet noen testrelaterte endringer hos rottene ved fôring med henholdsvis 7619 og 7965 mg/kg kroppsvekt/dag for hann og hunnrøtter.

Bayer har utført akutt-toksisk studie på mus med intravenøs eksponering av PAT-proteinet. Forsøket er utført i henhold til god laboratoriepraksis (GLP) (Japans MAFF-retningslinjer, OECD, EU-direktiv, EPA-FIFRA). Seks grupper á 5 hunnmus i hver gruppe ble eksponert for henholdsvis PAT-protein, aprotinin (negativ kontroll) og melittin (positiv kontroll). Mengden var 1 og 10 mg protein/kg kroppsvekt. Alle dyrene ble daglig observert for kliniske tegn på forgiftning over en periode på 15 dager. Ved avslutning av forsøket ble alle dyrene avlivet, og bukhole, toraks, samt en rekke organer og vev ble undersøkt makroskopisk. Det ble ikke påvist økt mortalitet eller toksiske effekter på dyrene som ble eksponert for PAT og aprotinin.

#### *Fôringsforsøk på broiler*

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 280 dyr, fordelt i to grupper. Dyrene ble fôret med henholdsvis mais fra T25 og en umodifisert kontrollinje. I disse forsøkene ble utgjorde andelen mais i fôret i tidlig vekstfase (0-18 dager) 56,9 %, i mellomvekstfasen (19-32 dager) 61 % og i avslutningsfasen (33-42 dager) 66,1 %. Fôringsforsøket ble utført i 1996, dvs. før EUs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter. Det ble ikke påvist vesentlige endringer ved fôring med maiskorn fra T25 og tradisjonell kontroll. Det ble ikke utført forsøk med referansesorter.

#### *Fôringsforsøk på kyr*

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 12-ukers fôringsforsøk på Holstein kyr, 60 dyr, fordelt på 4 grupper. Kyrne ble fôret med maisensilasje fra T25, umodifisert nær-isogenetisk kontrollinje og to umodifiserte referanselinjer (Fabius og Antares). Hensikten med forsøket var å studere om genmodifiseringen kan påvirke næringsverdi, fôrintak, melkeproduksjon, innhold av ernæringsmessige komponenter (bl.a. mineraler og aminosyrer) i ensilasje, samt å bestemme om transgen DNA og PAT-protein overføres til melk. Det ble konkludert med at det ikke kunne påvises endringer i ernæringsmessige komponenter, med unntak av at tørrstoffinnholdet i ensilasje fra transgen plante var signifikant lavere enn for de tre umodifiserte maisplantene. I melk ble det analysert for *pat*-gen, *pat*-tDNA, PAT-protein og endogent *alkoholdehydrogenase*-gen fra mais. Det ble ikke påvist verken *pat*-gen, *pat*-tDNA eller *alkoholdehydrogenase*-gen fra mais over påvisningsgrensen på 2,5 ng genomisk DNA/ml melk. PAT-protein ble ikke påvist over påvisningsgrensen på 3 ng PAT protein/ml melk. Det ble konkludert med at det ikke var vesentlige ernæringsmessige forskjeller mellom transgen mais og de tre umodifiserte maisene, og at verken *pat*-tDNA eller PAT-protein overføres til melk.

#### *Fôringsforsøk på rotter*

Bayer CropScience har ikke utført 13 ukers toksisitetstest på gnagere.

## **4.2. Allergenitet**

### *PAT-protein*

Generelt er proteiner som er matallergener varme- og syrestabile, selv om det er en del unntak. De er stabile både overfor mage- og tarmsafter, samt at de ofte er hovedprotein-komponenter i matvaren. Typiske mengder er fra 1 til 80 % av proteininnholdet. Mengden av PAT-proteinet i maiskorn er ca. 0,02 % av totalt protein. Det er testet i simulert mage (SGF)- og tarmsaft (SIF). Nedbrytning av PAT i SGF (pH 2) er hurtig. PAT-proteinet degraderer fullstendig innen 30 sekunder. I SIF (pH 7,5) ble PAT fragmentert i løpet av sekunder. Fragmentene var fullstendig degradert innen 5 minutter. Påvisningen av PAT-protein og fragmenter fra proteinet er utført med Western-blot ved bruk av antistoff mot proteinet. Det antas derfor at proteinet også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal. Det er utført søk for aminosyresekvenshomologi for PAT-proteinet til aminosyresekvenser i databaser som inneholder aminosyresekvenser til kjente allergener og toksiner. Det er ikke funnet homologi til slike proteiner.

Det er foretatt undersøkelse av glykosylering av PAT-proteinet. PAT-proteinet er renfremstilt fra blad fra den genmodifiserte bomullsplanten. Analyse av eventuelle bundne suktermolekyler på PAT proteinet ble foretatt med GlycoProfile<sup>TM</sup>III fluorescent detection kit. Det ble ikke påvist suktermolekyler på PAT proteinet.

Basert på de testene som er omtalt, dvs. at det i proteinet ikke er påvist aminosyresekvenser som er lik allergene proteiners epitoper, at proteinet brytes raskt ned av mage-tarmsafter, og at mengde av totalt proteininnhold er ca. 0,02 %, anser faggruppen det som lite trolig at PAT-proteinet medfører et signifikant større potensiale for utvikling av større matallergi hos mennesker enn hva som er tilfelle for umodifisert mais.

### 4.3. Delkonklusjon

Det er det utført 14 dagers oral toksisitetsstudie og akutt-toksisk intravenøs eksponeringsstudie på mus med renfremstilt PAT-protein. Lengden på toksisitetsstudiet av PAT-proteinet var 14 dager, ikke 28 som anbefalt fra OECD. Det er også utført fôringsforsøk med broilere (maiskorn) og storfe (ensilert mais). Det er ikke påvist helseskader verken på mus, broilere eller kyr. Søker har ikke foretatt 13 ukers fôringsforsøk på rotter. Ut fra foreliggende data er det ikke noe som tyder på økt helserisiko bruk til mat og fôr.

## 5. Miljørisikovurdering

### 5.1. Innledning

#### *Maisdyrking i Norge*

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

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

#### *Glufosinat-ammonium*

Glufosinat-ammonium (GA) er et bredspektret, kontaktvirkende bladherbicid, med virkning både på ett- og tofrøbladete ugras. Virkestoffet er lite giftig for fugler, bier, meitemark og andre jordorganismer, men er vist å være giftig for pattedyr. Glufosinat-ammonium har helseklassifisering for både akutte og kroniske skadevirkninger (fareklasse T – giftig). Virkestoffet klassifiseres som farlig ved innånding, hudkontakt og svelging, og kan gi alvorlig helsefare ved lengre tids eksponering. Skadevirkninger på pattedyr og mennesker inkluderer mulige skader på hjerne, forplantningsevne og

foster (Watanabe & Sano 1998; Matsumura *et al.* 2001; Schulte-Hermann *et al.* 2006; Hung 2007). I følge EFSA vil bruk av glufosinat-ammonium føre til eksponeringer som overstiger akseptabel eksponeringsgrense (AOEL) for sprøytemannskap.

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

I Norge ble godkjenningen GA trukket tilbake av Mattilsynet i januar 2008 (A. Kraggerud, MT, pers.kom.). Etter gjeldende avviklingsregler er det aktuelle preparatet Finale tillatt å bruke mot ugras under frukttrær, bærbusker, prydbusker, i jordbær, poteter, grønnsaker, stauder og sommerblomster, i frøeng og til brakking mv (<http://www.plantevernguident.no>) ut 2010. Herbicidet er ikke tillatt brukt verken i fôr eller sukkermais. I Norge er herbicidene pyridat (kontaktvirkende bladherbicid), klopuralid (systemisk herbicid) og tifensulfuron-metyl godkjent for bruk mot ugras i maiskulturer (<http://www.plantevernguident.no>; M. Skuterud, Mattilsynet, pers. komm). Omsetningen av GA i Norge de siste årene i har vært om lag 2000 kg virksomt stoff (Mattilsynet 2008).

Da glufosinat-ammonium per i dag ikke er godkjent for bruk i mais, verken i Norge eller EU, er miljørisiko knyttet til dyrking av T25 med bruk av dette herbicidet vurdert i henhold til oppdrag fra DN. Ved en eventuell godkjenning av genmodifiserte planter for dyrking i Norge vil de miljømessige aspektene knyttet til plantevernmidler bli fanget opp av den eksisterende godkjenningsordningen. All ny bruk av plantevernmidler som kreves for de aktuelle genmodifiserte kulturene vil måtte gjennomgå en miljørisikovurdering. Også eventuelle endringer i dosering, bruksmåte og bruksområde av allerede godkjente plantevernmidler som følge av bruk av genmodifiserte planter må vurderes av VKMs Faggruppe for plantevernmidler og godkjennes av Mattilsynet.

## 5.2. 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. Fôrmais, brukt som surfôr, dominerer maisdyrkingen i Norge og kolbene høstes før frømodning.

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

Enkeltplanter av mais finnes av og til forvillet på avfallsplasser, vegkanter og annen brakkmark, men arten etablerer ikke populasjoner utenfor dyrkingsområder (Lid & 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 (OECD 2003). Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med (OECD 2003).

Med unntak av toleranse overfor glufosinat-ammonium er det ikke påvist signifikante forskjeller mellom maislinjen T25 og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn med hensyn på karakterer knyttet til reproduksjon og vegetativ vekst i feltforsøk i USA og Europa. Herbicidresistens kan bare betraktes å ha selektive fordeler hvor og når glufosatholdige herbicider anvendes, dvs. hovedsakelig på dyrket mark. Spredning av mais til andre habitater i Europa er hovedsakelig begrenset



av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sjukdom og liten toleranse for lave temperaturer. Siden det ikke er påvist forskjeller mellom den transgene maislinjen og konvensjonelle sorter for disse karakterene er det ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen hos T25 og avkomstlinjer medfører økt risiko for utvikling av ugraspopulasjoner av mais i dyrkingsmiljø eller invasjon av naturlige habitater i forhold til konvensjonelle maissorter.

### 5.3. Potensiale for genoverføring

En forutsetning for genspredning er tilgjengelige veier for overføring av genetisk materiale, enten via horisontal genoverføring av DNA, eller vertikal genflyt i form av frøspredning og krysspollinering. Eksponering av mikroorganismer for rekombinant DNA skjer under nedbryting av plantemateriale på dyrket mark og/eller pollen i åkrer og omkringliggende arealer. Rekombinant DNA er også en komponent i en rekke mat- og fôrprodukter som er avledet av plantemateriale fra den transgene sorten. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA.

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

#### 5.3.1. Horisontal genoverføring

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

Ut fra dagens vitenskapelig innsikt 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 T25 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere ved detekterbare frekvenser i laboratoriestudier. Det er 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 & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM 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)

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

### 5.3.2 Vertikal genoverføring

Det finnes en omfattende litteratur på pollenmigring og utkryssing i mais, både mellom konvensjonelle sorter, og mellom transgene og konvensjonelle sorter. Betydelige metodiske forskjeller mellom studiene og påvirkning av ulike miljøfaktorer gjør imidlertid sammenligning av forskningsresultater vanskelig. I tillegg til direkte målinger av pollenkonsentrasjon i ulike avstander fra pollenkilden, er det benyttet ulike kvalitative og kvantitative metoder til å estimere faktisk utkryssing (fenotypiske markører, proteinanalyse, molekylære markører, kvantitativ DNA-analyse) (Devos *et al.* 2005). På bakgrunn av empiriske data har det de seinere årene vært utviklet matematiske modeller for simulering av potensialet for utkryssing under ulike betingelser.

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

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

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

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

I en nylig publisert studie har Sanvido *et al.* (2007) vurdert en rekke undersøkelser av utkryssing i mais, og foreslått relevante kriterier for evaluering av slike studier med hensyn på definere vitenskapelig baserte isolasjonsavstander. Kriteriene for evaluering omfatter både biologiske og fysiske parametere, samt relevante dyrkingsbetingelser. Med utgangspunkt i EUs gjeldende

terskelverdi for utilsiktet og teknisk uunngåelig innblanding på 0,9 % i mat og fôr, har gruppen foreslått isolasjonsavstander på 20 og 50 m for henholdsvis fôr- og sukkermais.

I utkast til norsk regelverk for sameksistens er det foreslått et krav om minimum 200 meter avstandsisolering mellom dyrkingsareal med henholdsvis transgen og konvensjonell/økologisk mais. Faggruppe for genmodifiserte organismer har tidligere uttalt at foreslått dyrkingsavstand på 200 meter gir en tilstrekkelig sikkerhetsmargin, og anser at det er svært liten sannsynlighet for at den prosentvise innblandingen av transgener vil overstige 1 % med dette tiltaket (VKM 2006). Generelt anser faggruppen at det under slike forutsetninger er mer sannsynlig at den prosentvise innblandingen vil være under 0,3 % enn i intervallet 0,3 til 1,0 %. Det understrekes imidlertid at dette avhenger av forhold som dyrkingsfeltenes relative størrelse og utforming, samt eventuelle buffersoner.

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

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

#### **5.4. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser**

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

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

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

## **5.5. Potensiale for effekter på agroøkologiske forhold, dyrkingspraksis etc.**

### **5.5.1. Dyrkingspraksis**

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

Bruk av transgene planter med sprøytemiddeltoleranse kan føre til endringer i bruksmønsteret av plantevernmidler i de områder der dyrkingen foregår. Introduksjon av herbicidtolerante kulturplanter og bruk av bredspektrede herbicider kan åpne for en mer fleksibel ugrasbekjempelse der sprøytetidspunkt kan velges mer uavhengig av vekstenes utviklingstrinn. Dette gir mulighet for en mer målrettet bruk med seinere sprøyting, færre behandlinger og redusert jordarbeiding sammenlignet med konvensjonell bruk av selektive herbicider. Slike endringer i sprøytereimer kan medføre effekter både på totalforbruk av pesticider (endringer i mengde virksomt stoff), og overgang til plantevernmidler med andre toksikologiske og miljømessige egenskaper (f.eks. giftighet, persistens og mobilitet).

I følge Bayer vil bruk av herbicidtolerante sorter med denne eventen medføre redusert bruk av persistente jordherbicider, og overgang til bladherbicider med kortere nedbrytningstid i jord, mindre lekkasje til grunnvann, og lav toksisitet for ikke-målorganismer. I dokumentasjon refereres det til undersøkelser av Phipps & Parks (2002), som har sammenlignet bruk av herbicider i standard sprøyteprogram i henholdsvis Storbritannia og EU for øvrig, med dyrking av herbicidresistente maissorter (glyphosat og glufosinat). Resultatene av disse undersøkelsene viste en reduksjon i bruk av aktivt stoff på totredjedeler i dyrkingsfelt med herbicidresistente sorter sammenlignet med konvensjonell dyrking. Sammenligningen er blant annet gjort med atrazin, et persistent jordherbicid som har vært mye brukt i mais i UK, men som ble totalforbudt i EU i 2004 (Kommisjonsbeslutning 2004/248/EF). Undersøkelser av Brookes & Barfoot (2005) viser også små, men signifikante reduksjoner i bruk av herbicider i mais i USA og Canada. En ISAAA-rapport fra 2006 (Brookes & Barfoot 2006) hevder at endret dyrkingspraksis ved introduksjon av glufosinatresistente maissorter har ført til færre sprøytinger og mindre jordarbeiding, med tilhørende redusert bruk av landbruksmaskiner, redusert utslipp av CO<sub>2</sub> og bedret økonomi for dyrkerne. Andre publiserte studier dokumenterer imidlertid økt bruk av sprøytemidler ved bruk av herbicidresistente sorter (Benbrook 2001, 2003). Det er imidlertid store variasjoner mellom kulturer og regioner, noe som gjør at det er vanskelig å trekke klare konklusjoner. Etter det faggruppen kjenner til er det ikke foretatt sammenligninger av dyrkingsregimer med GA-tolerante maislinjer og konvensjonell produksjon med relevante herbicider for norske dyrkingsforhold.

### **5.5.2. Biodiversitet**

Introduksjon av herbicidtolerante kulturplanter og ensidig bruk av bredspektrede herbicider vil kunne påvirke biodiversiteten og sammensetningen av plantesamfunn både på jordbruksarealer og tilgrensende biotoper.

I Europa, og spesielt Norden, er det gjennomført få storskala-forsøk hvor man har undersøkt effekter av herbicidresistente sorter på biologisk mangfold under ordinære dyrkingsbetingelser. De fleste studiene som er publiserte er basert på kortvarige småskala-forsøk på få lokaliteter. Det har heller ikke vært kommersiell dyrking av transgene planter med herbicidresistens som kan gi indikasjoner om mulige langsiktige økologiske konsekvenser av endret dyrkingsregime. En utredning fra Jordbruksverket og Naturvårdsverket på oppdrag fra det svenske Jordbruksdepartementet (Franzén *et al.* 2007) konkluderer også med det er svært begrenset overføringsverdi til nordiske dyrkingsbetingelser av de studiene som er publiserte så langt.

Den mest omfattende studien som er publisert over effekter av herbicidtolerante planter på biodiversiteten ble gjennomført i Storbritannia i perioden 2000-2003. I denne undersøkelsen (Farm Scale Evaluations (FSE)) ble ulike biodiversitetsparametere studert i dyrkingsfelt og omkringliggende arealer med henholdsvis transgene og konvensjonelt dyrkede sorter av fôrmais, fôrmete, sukkerbete og oljeraps (vårraps) (Champion *et al.* 2003; Firkbank *et al.* 2003). I tillegg til betesorter med glyfosattoleranse, ble det benyttet sorter av mais og oljeraps med toleranse mot herbicider med virkestoff glufosinat-ammonium. For hver kultur ble det etablert om lag 60 ulike forsøksfelt over et spredt geografisk område. Forsøksfeltene ble undersøkt for sammensetning, total biomasse, frøspill og frøbank av ugrasarter. Videre ble diversiteten av evertebrater, samt samspill mellom arter på høyere trofi-nivå studert.

Ved bruk av herbicidprogrammer med glufosinat-ammonium og glyfosat ble det påvist redusert plantetetthet av tofrøbladete ugras på arealer med transgen oljeraps og sukkerbete ved slutten av vekstsesongen (Heard *et al.* 2003). På disse arealene ble biomassen og frøspill hos ugrasartene redusert med henholdsvis 1/3 og 1/6 sammenlignet med konvensjonell dyrking. I forsøksfeltene som inkluderte transgen mais var tettheten av ugras hos de herbicidtolerante sortene høyere gjennom hele sesongen. Mot slutten av vekstsesongen ble det registrert 82 % mer biomasse av ugras på arealer med transgen mais. I både raps, bete og mais ble det med unntak av forbigående effekter i forbindelse med sprøyting, ikke registrert effekter av herbicidbehandling på den botaniske diversiteten på dyrkingsarealene. Det ble heller ikke rapportert om effekter av ulike dyrkingssystemer på vegetasjonen i randsonene til dyrkingsfeltene (Roy *et al.* 2003).

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

På bakgrunn av data fra FSE-studien har Heard *et al.* (2005) simulert effekter av herbicidtolerante sorter på populasjoner av ettårige, tofrøbladete ugrasarter. Modellstudien inkluderte transgen bete og vårraps i vekstskifte med høstkorn i 7 fireårige omløp (28 år). Undersøkelsen predikerer en større grad av reduksjon av ugraspopulasjoner og lavere tetthet av tofrøbladete ugras i jordas frøbank i vekstskifter som inkluderer herbicidresistente sorter sammenlignet med konvensjonell dyrkingspraksis (faktor på 0,70-0,80). I tillegg til å medføre effekter på persistensen av plantepopulasjoner, kan dette føre til nedgang i forekomsten av nøkkelarter av evertebrater som benytter plantene som matkilde.

FSE-studien har vært mye kommentert, og det har vært reist flere innvendinger blant annet om valg av herbicider i de konvensjonelle kontrollgruppene og mangel på alternative dyrkingsteknikker, sprøyteteknikker og – tidspunkt (eg Amman 2005; Sanvido *et al.* 2006). I undersøkelsen ble GA-tolerant mais sammenlignet med konvensjonelle sorter som i 75 % av forsøksfeltene ble behandlet med atrazin. Valg av dette herbicidet som kontroll er en av de viktigste årsakene til resultatene som ble funnet i mais (Heard *et al.* 2003). Atrazin er et persistent jordherbicide som ble totalforbudt i EU i 2004. Det hevdes imidlertid i en seinere studie at den komparative fordelene på biodiversitet vil reduseres, men ikke elimineres (Perry *et al.* 2004).

### 5.5.3 Resistensutvikling

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

## 5.6. Miljøovervåkingsplan

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

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

### 5.6.1. Samspill mellom miljørisikovurdering og overvåkingsplan

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

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

### 5.6.2 Generell overvåking av effekter av maislinjen T25

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

I følge søkers overvåkingsplan vil den primære kilden for informasjon vedrørende uforutsette effekter vil være planteprodusenter, importører og næringsmiddel- og fôrindustrien. I forbindelse med søknad om fornyet godkjenning i EU vil Bayer CropScience informere berørte parter, inkludert bønder og

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

### **5.6.3. Rapportering**

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

## **6. Vurdering av søkers dokumentasjon**

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument for mais anbefaler analysert. Faggruppen etterspør spesielt data fra analyser av vitamin C og folinsyre. Videre ber faggruppen søker kommentere nivået av vitamin A i maislinjen T25 (se innspill EFSA-net).

### **FG3s innspill til EFSA-net 10. september 2008 til søknad EFSA/GMO/NL/2007/46**

The GMO panel of The Norwegian Scientific Committee for Food Safety (FG3) is of the opinion that key nutrients and the various components listed in the OECD consensus document should be analysed and that their levels should be determined accordingly. If the applicant does not provide the information according to the specifications provided by the OECD, this should be further justified and explained. In relation to the EFSA/GMO/NL/2007/46 notification the Norwegian GMO panel asks for the reason why data on vitamin C and folic acid are still lacking. For most consumers benefiting from a balanced diet this is probably of minor importance, for vulnerable individuals however (e.g. babies or individuals in developing countries), with a diet consisting predominantly of maize, this may be more relevant. Moreover, Bayer is asked to comment on the levels of vitamin A, i.e. the conversion from  $\beta$ -carotene.

## KONKLUSJON

Den genmodifiserte maislinjen T25 uttrykker et *pat*-gen, som gjør at disse maisplantene kan tolerere høyere doser av sprøytemiddelet glufosinat-ammonium sammenlignet med konkurrerende ugras. Glufosinat-ammonium har helseklassifisering for både akutte og kroniske skadevirkninger på pattedyr inkludert mennesker, og er per i dag ikke godkjent for bruk i mais, verken i Norge eller EU. Den introduserte egenskapen til planten er derfor ikke realiserbar innenfor EØS-området. En fullstendig miljørisikovurdering knyttet til dyrking av T25 med bruk av dette herbicidet er derfor ikke foretatt for EØS-landene, inkludert Norge. Dyrkning av T25 utenfor EØS, med bruk av glufosinat ammonium, vil kunne medføre helsefare for sprøytemannskap. Helseproblemstillinger knyttet til sprøytemiddelbruk og dyrking utenfor EØS er imidlertid ikke vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer.

Faggruppen påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensudokument for mais anbefaler analysert. Faggruppen understreker at konsensudokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Det er funnet statistisk signifikante forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at eventuelt avvikende vitaminnivå i T25 har liten ernæringsmessig betydning i Norge.

Med unntak av forskjeller i blomstringstidspunkt, viser undersøkelser av agronomiske karakterer ingen signifikante forskjeller mellom T25 og kontrollinjer.

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

### Samlet vurdering

Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det, ut fra foreliggende data, lite trolig at foreskrevet bruk av maislinjen T25 innenfor EØS-området vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais.



## REFERANSER

- Agbios (2008). Agbios GM Database. Information on GM Approved Products.  
<http://www.agbios.com/dbase.php>
- Amman, K. (2005). Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*, **23**, 388-394.
- Bakken, A.K., Nesheim, L., Harbo O, Johansen A & Wikmark T (2005). Potensial for dyrking av fôrmais i Norge. *Grønn kunnskap*, **9**, 1-6.
- Benbrook, C.M. (2001). Do GM crops mean less pesticide use? *Pesticide Outlook*, **204**-2007.
- Benbrook, C.M. (2003). Impacts of Genetically Engineered Crops on Pesticide Use in the United States: The First Eight Years. *BioTech InfoNet*, Technical Paper No 6, Nov 2003.
- Bensasson, D., Boore, J.L. & Nielsen, K.M. (2004). Genes without frontiers. *Heredity*, **92**, 483-489.
- Brookes, G., Barfoot, P., Mele, E., Messeguer, J., Benetrix, D., Foueillassar, X., Fabie, A. & Poeydomenge, C. (2004). *Genetically Modified Maize: Pollen movement and crop coexistence*. Rapport fra PG Economics. 20 s.
- Brookes, G. & Barfoot, P. (2005). GM crops: the global economic and environmental impact- the first nine years 1996-2004. *AgBioForum*, **8**, 187-196.
- Brooks, D.R., Bohan, D.A., Champion, G.T., Haugton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Woiwood, I.P., Birchall, C., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Bell, D., Browne, E.L., Dewar, A.J.G., Fairfax, C.M., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Hulmes, S.E., Mason, N.S., Norton, L.R., Nuttall, P., Randle, Z., Rossall, M.J., Sands, R.J.N., Singer, E.J. & Walker, M.J. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I. Soil-surface-active invertebrates. *Phil. Trans. Royal Soc. Lond. Series B- Biolog. Sci.*, **358**, 1847-1862.
- Champion, G.T., May, M.J., Brooks, D.R., Clark, S.J., Daniels, R.E., Firbank, L.G., Haugton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., Perry, J.N., Randle, Z., Rossall, M.J., Rothery, P., Skellern, M.P., Scott, R.J., Squire, G.R. & Thomas, M.R. (2003). Crop management and agronomic context of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **358**, 1801-1818.
- Collonnier, C., Schattner, A., Berthier, G., Boyer, F., Coue-Philippe, G., Diolez, A., Duplan, M.N., Fernandez, S. & Kebdani, N. (2005). Characterization and event specific-detection by quantitative Real-Time PCR of T25 Maize insert. *JAOAC Int.*, **88**, 536-546.
- de Vries, J. & Wackernagel, W. (2002). Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **99**, 2094-2099.
- Devos, Y., Reheul, D. & De Schrijver, A. (2005). The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. *Environmental Biosafety Research*, **4**, 71-87.

- Eastham, K. & Sweet, J. (2002). Genetically modified organisms (GMO): The significance of gene flow through pollen transfer. Environmental issue report. No 28. European Environment Agency (EEA), Copenhagen.  
[http://reports.eea.eu.int/environmental\\_issue\\_report\\_2002\\_28/en](http://reports.eea.eu.int/environmental_issue_report_2002_28/en)
- Eckes, P. (1994). *Transcription of the bacterial Ampicillin resistance gene in Glyphosate tolerant maize lines T14 and T25*. Report/Study AgrEvo No Ec94.01. 5p.
- Eckes, P., Vijtewaal, B. & Donn, G. (1989). Synthetic gene confers resistance to the broad spectrum herbicide L-phosphinothricin in plants. *J. Cellular Biochem. Suppl.* 13D:334.
- EFSA (2004a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Austrian invoke of Article 23 of Directive 2001/18/EC. *The EFSA Journal*, **78**, 1-13.  
[http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo\\_opinions/507/opinion\\_gmo\\_safeguard\\_clauses\\_austria\\_en1.pdf](http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gmo_opinions/507/opinion_gmo_safeguard_clauses_austria_en1.pdf)
- EFSA (2004b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal*, **48**, 1-18. [http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo\\_opinions/384.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html)
- EFSA (2005). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glufosinate. *Summary of the EFSA Scientific Report*, **27**, 1-81.
- EFSA (2006a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to genetically modified crops (Bt176 maize, T25 maize, T25 maize, Topas 19/2 oilseed rape and Ms1xRf1 oilseed rape) subject to safeguard clauses invoked according to Article 16 of Directive 90/220/EEC. *The EFSA Journal*, **338**, 1-5.  
[http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/gmo\\_opinions/1439.Par.0002.File.dat/gmo-op-ej338-safeguard-clauses\\_en1.pdf](http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/gmo/gmo_opinions/1439.Par.0002.File.dat/gmo-op-ej338-safeguard-clauses_en1.pdf)
- EFSA (2006b). *Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed*. 100 s.  
[http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo\\_guidance/660.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html)
- Emberlin, J, Adams-Groom, B. & Tidmarsh, J. (1999). *The dispersal of maize (Zea mais) pollen*. A report commissioned by the Soil Association: A National Pollen Research Unit, University College Workcester, UK.
- Firbank, L. G., Heard, M. S., Woiwod, I. P., Hawes, C., Haughton, A. J., Champion, G. T., Scott, R. J., Hill, M. O., Dewar, A. M., Squire, G. R., May, M. J., Brooks, D. R., Bohan, D. A., Daniels, R. E., Osborne, J. L., Roy, D. B., Black, H. I. J., Rothery, P. & Perry, J. N. (2003). An introduction to the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 2-16.
- Fraley, R.T., Rogers, S.G., Horsch, R.B., Sanders, P.R., Flick, J.S., Adams, S.P., Bittner, M.L., Brand, L.A., Fink, C.L., Fry, J.S., Galluppi, G.R., Goldberg, S.B., Hoffmann, N.L. & Woo, S.C. (1983). Expression of bacterial genes in plant cells. *PNAS*: 4803-4807.
- Franzén, M., Gustafsson, K., Hallqvist, H., Niemi, L., Wallander, J, Thorin, C. & Örn, P. (2007). *The impact of herbicide tolerant crops on some environmental quality objectives. Report from the Swedish Board of Agriculture and the Swedish Environmental Protection Agency*. Jordbruksverket Report 2007:21.

- Franck, A., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K. & Hirth, L. (1980). Nucleotide sequence of Cauliflower mosaic virus DNA.. *Cell*, **21**, 285-294.
- Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Birch Cortet, J., Andersen, M.N. & Krogh, P.H. (2007). Microbial and microfaunal community structure in cropping systems with genetically modified plants. *Pedobiologia*, **51**, 195-206.
- Hallauer, A.R. (2000). Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Halsey, M.E., Remund, K.M., Davis, C.A., Qualls, M., Eppard, P.J. & Berberich, S. (2005). Isolation of Maize from Pollen-Mediated gene Flow by Time and Distance. *Crop Science*, **45**, 2172-2185.
- Hara, O., Murakami, T., Imai, S., Anzai, H., Itoh, R., Kumada, Y., Takano, E., Satoh, E., Satoh, A., Nagaoka, K. & Thompson, C. (1991). The bialaphos biosynthetic genes of *Streptomyces viridochromogenes*: cloning, heterospecific expression, and comparison with the genes of *Streptomyces hygroscopicus*. *Journal of General Microbiology*, **137**, 351-359.
- Haughton, A.J., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M.S., Brooks, D.R., Bohan, D.A., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Woiod, I.P., Birchall, C., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Browne, E.L., Dewar, A.J.G., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Mason, N.S., Sands, R.J.N. & Walker, M.J. (2003). Invertebrate response to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops II. Within-field epigeal and areal arthropods. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1899-1913
- Hawes, C., Haughton, A.J., Osborne, J.L., Roy, D.B. *et al.* (2003). Responses of plants and invertebrate tropic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1863-1877.
- Heard, M.S., Hawes, C., Champion, G.T., Clark, S.J., Firbank, L.G., Haughton, A.J., Parish, A.M., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Skellern, M.P., Squire, G.R. & Hill, M.O. (2003). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1819-1832.
- Heard, M.S., Rothery, P., Perry, J.N. & Firbank, L.G. (2005). Predicting longer-term changes in weed populations under GMHT crop management. *Weed Research*, **45**, 331-338.
- Herrera-Estrella, L., Depicker, A., VanMontagu, M. & Schell, J. (1983). Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. *Nature*, **303**, 209-213.
- Holland, J.M. (2004). The environmental consequences of adopting conservation tillage in Europe: reviewing the evidence. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, **103**, 1-25.
- Hung, D. (2007). Diffused brain injury in glufosinate herbicide poisoning. *Clinical Toxicology*, **45**, 605-648.
- Ingram, J. (2000). *Report on the separation distances required to ensure cross-pollination is below specific limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape*. MAFF Project No RG0123

- Kohli, A., Leech, M., Vain, P., Lauri, D.A. & Christou, P. (1998). Transgene organization in rice engineered through direct DNA transfer supports a two-phase integration mechanism mediated by the establishment of integration hot spots. *PNAS*, **95**, 7203-7208.
- Krogh, P.H., Griffiths, B., Demsar, D., Bohanec, M., Debeljak, M., Andersen, M.A., Sausse, C., Birch, A.N.E., Caul, S., Holmstrup, M., Heckmann, L.H. & Cortet, J. (2007). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and *Bt* maize cropping systems. *Pedobiologia*, **51**, 219-227.
- Lid, J. & Lid, D.T. (2005). Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. 1230s.
- Mattilsynet (2008). Omsetningsstatistikk for plantevernmidler 2003-2007. Mattilsynet Ås, Seksjon nasjonale godkjenninger. 11 s. <http://www.mattilsynet.no/planter/plantevernmidler/statistikk>
- Matsumura, N., Takeuchi, C., Hishikawa, K., Fujii, T. & Nakaki, T. (2001). Glufosinate ammonium induces convulsion through N-methyl-D-aspartate receptors in mice. *Neuroscience Letters*, **304**, 123-125.
- Mórocz, S., Donn, G., Németh, J. & Dudits, D. (1990). An improved system to obtain fertile regenerants via maize protoplasts isolated from a highly embryogenic suspension culture. *Theoretical Applied Genetics*, **80**, 721-726.
- Netherwood, T., Martín-Orúe, S.M., O'Donnell, A.G., Gockling, S., Graham, J., Mathers, J.C. & Gilbert, H.J. (2004). Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nature Biotechnology*, **22**, 204-209.
- Nielsen, K.M., van Elsas, J.D. & Smalla, K. (2000). Transformation of *Acinetobacter* sp. 13(pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Applied Environmental Microbiology*, **66**, 1237-42.
- Nielsen, K.M. (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*, **1**, 96-149.
- Odell, J.T., Nagy, F. & Chua, N.H. (1985). Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*, **313**, 810-812.
- 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.
- Perry, J.N., Firbank, L.G., Champion, G.T., Clark, S.J., Heard, M.S., May, M.J., Hawes, C., Squire, G.R., Rothery, P., Wolwod, I.P. & Pidgeon, J.D. (2004). Ban on triazin herbicides likely to reduce but not negate relative benefits of GMHT maize cropping. *Nature*, **428**, 313-316.
- Phipps, R.H. & Park, J.R. (2002). Environmental benefits of genetically modified crops: Global and European perspectives on their ability to reduce pesticide use. *Journal of Animal and Feed Science*, **11**, 1-18.
- Pietrzak, M., Shillito, D.S., Hohn, T. & Potrykus, I. (1986). Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acid Research*, **14**, 5857-5868.

- Rognli, O.A. (1994). Økologisk risiko ved utsetting av genmodifiserte kulturplanter. *Faginfo*, **2** (21), 81-197.
- Roy, D.B., Bohan, D.A., Haughton, A.J., Hill, M.O., Osborne, J.L., Clark, S.J., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Brooks, D.R., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M.S. & Firbank, L.G. (2003). Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subjected to contastion herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1879-1898.
- Sanvido, O., Stark, M. & Bigler, F. (2006). Ecological impacts of genetically modified crops. Experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. *ART-Schriftenreihe*, **1**, 1-84.
- Sanvido, O., Widmer, F., Winzeler, M., Streit, B., Szerencsits, E. & Biger, F. (2007). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. *TransgenicResearch Online* 12. juni 07.  
<http://www.springerlink.com/content/n561562061873351/>
- SCP (1998). *Opinion of the Scientific Committee on Plants Regarding "Submission for Placing on the Market of Glufosinate Tolerant Corns ( Zea Mays) Transformation Event T25" by the Agrevo Company*. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out04\\_en.html](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out04_en.html)
- SCP (2001). *Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the submission for placing on the market of glufosinate tolerant maize (Zea mays) transformation event T25 by the AgrEvo Company, now Aventis Crop Science (Notification C/F/95/12/07). SCP/GMO/299-Final*.
- Schubbert, G.W., 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.
- Schulte-Hermann, R., Wogan, G.N., Berry, C., Brown, N.A., Czeizel, A., Giavini, E., Holmes, L.B., Kroes, R., Nau, H., *et al.* (2006). Analysis of reproductive toxicity and classification of glufosinate-ammonium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **44**, S1-S76.
- Schütt, G., Stachaw, U. & Werner, A. (2004). Agronomic and environmental aspects of the cultivation of transgenic herbicide resistant plants. ISSN 0722-186x. 115 s.
- Strauch, E., Wohlleben, W. & Pühler, A. (1993). Europäische patentschrift *In: Pflanzen wirksames resistenzgen gegen Phosphinothricin und seine verwendung*. 30 pages M-209751-01-1.
- Sweet, J, Simpson, E., Law, J, Lutman, P., Berry, K., Payne, R, *et al.* (2004). *Botanical and Rotational Implications of Genetically Modified Herbicide Tolerance in Winter Oilseed rape and Sugar Beet (BRIGHT Project)*. Project report No. 353. Home Grown Cereals Authority, London.
- 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.
- van Wert, S. (1994). Petition for determination of nonregulated status: Glufosinat resistant corn transformation event T14 and T25. 23 December 1994.
- VKM (2005). *Report from an Ad Hoc Group appointed by the Norwegian Scientific Panel on Genetically Modified Organisms and Panel on Biological Hazards – An assessment on potentially long-term health effects caused by antibiotic resistance marker genes in*

- genetically modified organisms based on antibiotic usage and resistance patterns in Norway*. Opinion 05/302-1-final. Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, Norway. 62 p.
- VKM (2006). *Vurdering av foreslåtte virkemidler for sameksistens mellom genmodifiserte vekster og konvensjonelt/økologisk landbruk, og rangering av spredningsrisiko av transgener fra relevante genmodifiserte planter som kan dyrkes i Norge. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 21.12.06*. (06/305). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2007a). *Vurdering av Avenis CropScience genmodifiserte mais T25 (C/F/95/12/07). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer*. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2007b). *Miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (C/F/95/12-07). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 14.11.07*. (07/321). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2008). *Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais T25 fra Bayer CropScience (EFSA/GMO/2007/46). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 16.10.08*. (08/329). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- Watanabe, T. & Sano, T. (1998). Neurological effects of glufosinate poisoning with a brief review. *Human & Experimental Toxicology*, **17**, 35-39.
- Wohlleben, W., Arnold, W., Broer, I., Hikkemann, D., Strauch, E. & Puhler, A. (1988). Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*, **70**, 25-73.

## TILLEGG

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

