



Vitenskapskomiteen for mattrygghet
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

Foreløpig helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais DAS-40278-9 fra Dow AgroSciences LLC (EFSA/GMO/NL/2010/89)

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

Innspill til EFSA's GMO Extranet

Dato: 4.10.2011
Dok. nr.: 11- 307- endelig
ISBN: 978-82-8259-032-7

VKM Report 2011: 16



Bidragstere

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

Takk til:

Faggruppe for genmodifiserte organismer ønsker spesielt å takke arbeidsgruppen for GMO-fôr for deres verdifulle bidrag med denne risikovurderingen.

Medlemmer av arbeidsgruppe for GMO-fôr:

Aksel Bernhoft (leder, Faggruppe for fôr til terrestriske og akvatiske dyr), Monica Sanden (*ad hoc*-ekspert), Åshild Andreassen og Rose Vikse (Faggruppe for GMO).

Vurdert av

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Audun H. Nerland (leder), Åshild Andreassen, Per Brandtzæg, Askild Holck, Olavi Juntilla, Heidi Sjursen Konestabo, Richard Meadow, Kaare M. Nielsen, Hilde-Gunn Hoen-Sorteberg, Rose Vikse

Koordinatorer fra sekretariatet:

Arne Mikalsen, Merethe Aasmo Finne og Tron Gifstad (Faggruppe for fôr)

Sammendrag

Helse- og miljørisikovurderingen av den herbicidtolerante maislinjen DAS-40278-9 (EFSA/GMO/NL/2010/89) fra Dow AgroSciences LLC er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM). VKM er bedt av Mattilsynet om å vurdere helse- og landbruksrelatert miljørisiko ved en eventuell godkjenning av maislinje DAS-40278-9 for alle bruksområder, unntatt dyrking.

Risikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen er basert på uavhengige vitenskapelige publikasjoner, og dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside EFSA GMO Extranet. DAS-40278-9 er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven, samt kravene i EU-forordning (EF) Nr. 1829/2003. Videre er prinsippene i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler (EFSA 2006, 2010) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002) lagt til grunn for vurderingen.

Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformasjonsprosess, vektor, transgene konstrukt, 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, samt mulig horisontal og vertikal genoverføring vurdert.

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

Maislinjen DAS-40278-9 uttrykker enzymet aryloksyalkanoat-dioksygenase (AAD-1), som et resultat av introduksjon av *aad-1*-genet fra jordbakterien *Sphingobium herbicidovorans*. AAD-1 omdanner 2,4-diklorfenoksy-eddiksyre (2,4-D) til 2,4-diklorfenol (DCP), som gir plantene økt toleranse mot herbicider med virkestoff 2,4D. AAD-1-enzymet omdanner også visse herbicider i aryloksyfenoksypropionat (AOPP)-gruppen. 2,4-D er et selektivt bladherbicid med systemisk virkning, og hører til herbicidgruppen fenoksytyr. Herbicidet er et syntetisk auxin, som benyttes til kontroll av tofrøbladete ugras. 2,4-D er godkjent i EU, men har ikke vært tillatt i Norge siden 1997. Det er heller ikke godkjente AOPP-preparater på det norske markedet (Plantevernguiden 2011).

Molekylær karakterisering

Faggruppen har ikke identifisert noe risiko knyttet til den molekylærbiologiske karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i DAS-40278-9. Faggruppen finner informasjonen tilstrekkelig for en vurdering av maislinjen.

Komparative analyser

Analysen av ernæringsmessige komponenter er i hovedsak utført i tråd med OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det er påvist signifikante forskjeller mellom maisen DAS-40278-9 og kontroll i enkeltparametere. Verdiene for de analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, samt innenfor toleranseintervallene for de umodifiserte referansesortene som er inkludert i søkers dokumentasjon.

Feltforsøk over en vekstsesong i USA viser ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maislinjen DAS-40278-9 (usprøytet og sprøytet med ulike kombinasjoner av tiltenkte herbicider) og umodifisert kontroll med hensyn på morfologiske og agronomiske karakterer.

Toksisitet og allergenisitet

AAD-1-proteinet som uttrykkes som følge av genmodifiseringen, har ingen likheter med kjente toksiner og allergener, eller egenskaper som tilsier at det vil virke som et toksin eller allergen.

Innholdet av proteinet er ca 0,07 % av proteininnholdet i korn, og utgjør således en svært liten del av det totale proteininnholdet. Akutte fôringsstudier (oral sondefôring) på mus med bakterieframstilt AAD-1-protein, viste ingen negative helseeffekter. Videre viser ernæringsstudier med broilere at maislinjen DAS-40278-9 er ernæringsmessig lik umodifisert mais.

Basert på en enkelt broilerstudie finner faggruppen og *ad hoc*-gruppen det lite sannsynlig at eksponering av AAD-1-protein i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig.

Faggruppen påpeker imidlertid at søker burde ha utført en sub-kronisk 90-dagers toksisitetsstudie på rotter. Faggruppen ser det som en mangel i søkers dokumentasjon at en slik toksisitetsstudie ikke er utført.

Landbruksrelatert miljørisiko

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen DAS-40278-9 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Norge er i utkanten av dyrkingsområdet for mais, dyrkingsomfanget er svært begrenset og det er ingen stedege eller introduserte viltvoksende arter som mais kan hybridisere med.

Nøkkelord

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maislinje DAS-40278-9, (EFSA/GMO/NL/2010/89), AAD-1 protein, herbicidtoleranse, 2,4-D, Weedar-64, Quizalofop, Assure II, helsemessig trygghet, helse, landbruksrelatert miljørisiko, forordning 1829/2003/EF

Forkortelser og ordforklaringer

<i>Aad-1</i>	Gen fra jordbakterien <i>Spingobium herbicidovorans</i> , uttrykker enzymet aryloksyalkanoat-dioksygenase (AAD-1).
ADF	Acid detergent fiber, fiberfraksjon av ufordøyelig plantemateriale i fôr, vanligvis cellulosefiber dekket med lignin og silikat. Plantematerialet fordøyes med en syre-detergentløsning (ADF). Ufordøyd masse betegnes som ADF. Fôr med lavt ADF-innhold er mer fordøyelig og har større energiinnhold.
Allel	En mulig gensekvens, som foreligger i et lokus. Historisk sett gav dette uttrykk i ulike fenotyper, da det var vanligste måten å se forskjellige genuttrykk på. I et lokus i en diploid organisme, vil det være to alleler (ett fra hver forelder). Disse kan være like eller forskjellige, og avhengig av hvor forskjellene er og hvilke nukleotider de omfatter, kan de gi like eller noe ulike genprodukter. I en populasjon kan det forekomme mange ulike allelvarianter.
Backcross (BC)	Tilbakekryssing. Kryssing mellom en hybridlinje (avkom fra to genetisk ulike foreldre) og en av foreldrelinjene, alternativt en genetisk ekvivalent organisme. Strategi i planteforedling for å overføre primært kvalitative karakterer, for eksempel sjukdomsresistens, til elitelinjer av både kryssbefruktede og selvpollinerte arter. Gjentatte tilbakekryssinger eliminerer det genetiske bidraget, som uønskede alleler, fra den andre donorplanten.
	BC ₁ , BC ₂ etc: betegnelse på 1. og 2. tilbakekryssingsgenerasjon, etc.
BLASTn	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av nukleotidsekvenser.
BLASTP	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av aminosyresekvenser i proteiner.
BLASTx	Algoritme som benyttes for oversetting fra kodende nukleotidsekvenser til aminosyresekvenser.
bp	Basepar
Codex	FAO/WHO-organ som etablerer globale handelsstandarder for mat.
CTP	Kloroplasttransittpeptid
DN	Direktoratet for naturforvaltning
DNA	Deoxyribonukleinsyre (DNA)
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FAO	Food and Agriculture Organization, FN's organisasjon for ernæring og landbruk
FIFRA	US EPA Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. USAs føderale lov om insektdrepende midler, soppdrepende midler og midler mot skadedyr.
Fitness	Et individs relative evne til å føre sine gener/alleler videre til kommende generasjoner.
GLP	Good Laboratory Practices, retningslinjer for godt laboratoriearbeid.
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
Herbicide	Ugrasmiddel
Locus	Spesifikk posisjon på kromosomet der et gen er lokalisert.
MALDITOF	Massespektrometrimetode for å måle molekylvekt til peptider.
MT	Mattilsynet
NDF	Neutral detergent fiber, dvs. fiberfraksjon som inneholder hemicellulose og ADF.
NOAEL	No observed adverse effect level – dosenivå hvor ingen skadelige effekter observeres.
NOEL	No observed effect level - nulleffektnivå
Northern blot	Teknikk for overføring av RNA til en membran for videre studier av overførte RNA-sekvenser.
Nær-isogen linje	Linjer eller sorter som er genetisk identiske, med unntak av ett locus eller kromosomsegment.
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
ORF	Open Reading Frame (åpen leseramme)

PCR	Polymerase chain reaction. Polymerase kjedereaksjon. Metode for å syntetisere mange kopier av en DNA-sekvens vha. primere.
RNA	Ribonukleinsyre
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat (SDS)-polyakrylamidelektroforese. Elektroforetisk metode for separasjon av proteiner.
Southern blot	Teknikk for overføring av DNA til en membran for videre studier av overførte DNA-sekvenser.
T-DNA	DNA fra Ti-plasmidet fra jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmidet (Transfer-DNA) overføres fra bakterien, og settes inn i plantecellenes kjernegenom. T-DNAet som overføres avgrenses av V (venstre) og H (høyre) flankesequenser, og begrenser derfor den delen av Ti-plasmidet som overføres og gjør at resten av vektoren ikke blir satt inn i plantekromosomene.
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USAs miljøvernmyndigheter.
Utviklingsstadier hos mais:	
	<u>Vegetative stadier</u>
	VE: oppspiring
	V1: 1. blad
	V2: 2. blad
	V(n): n'te blad
	VT: synlige hannblomsterstand (tassel)
	<u>Reproduktive stadier</u>
	R1: synlige hunnblomster
	R2: 'blister'
	R3: melkmodning
	R4: deigmodning
	R5: dent
	R6: fysiologisk moden
Western-blot	Metode for overføring av proteiner til en membran som binder protein.
Whiskers	
transformering	Whiskers= værhår, mikrofiber. Metode for overføring av DNA til en celle. Mikrofibrene som benyttes til overføring av DNA er 10-80µm lange og 0,6 µm tykke (Petolino & Arnold 2009.)
WHO	World Health Organisation. Verdens helseorganisasjon, organ under FN.

Innholdsfortegnelse

Bidragstyttere	2
Sammendrag	3
Nøkkelord	4
Forkortelser og ordforklaringer	5
Innholdsfortegnelse	7
Bakgrunn	8
Oppdrag fra Mattilsynet	8
Risikovurdering	9
1 Innledning	9
1.1 Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer.....	9
2 Molekylær karakterisering	10
2.1 Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon.....	10
2.2 Karakterisering av geninnsetting/genkonstruksjon.....	10
2.3 Informasjon vedrørende uttrykk av innsatte gener og åpne leserammer (ORF).....	12
2.4 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA.....	14
2.5 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	15
3 Komparative analyser	17
3.1 Valg av komparator og forsøksdesign.....	17
3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter.....	18
3.3 Agronomiske karakterer.....	26
3.4 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	29
4 Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet	29
4.1 Toksisitet.....	29
4.2 Allergenisitet.....	31
4.3 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	32
5 Miljøriskovurdering	33
5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen.....	33
5.2 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	35
6 Vurdering av søkers dokumentasjon	36
7 Innspill til EFSA GMO Extranet søknad EFSA/GMO/NL/2010/89	36
Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag	36
Referanser	38

Bakgrunn

Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Mattilsynet om å foreta en utredning av helse- og landbruksrelatert miljørisiko ved en eventuell godkjenning av den genmodifiserte maislinjen DAS-40278-9 fra Dow AgroSciences (Dow AgroSciences Europe) (EFSA/GMO/NL/2010/89). Maislinjen er søkt omsatt i EU/EØS-området under Forordning (EF) No. 1829/2003 om genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer (artiklene 3(1) og 15(1)). Søknaden omfatter bruksområdene import, prosessering, næringsmidler og fôrvarer, men inkluderer ikke dyrking.

Søknaden ble fremmet og anbefalt av nederlandske myndigheter i november 2010. Dokumentasjonen knyttet til søknaden ble lagt ut på EFSAs GMO Extranet 11. mars 2011, med frist på 90-dager for innspill fra EU- og EØS/EFTA-landene. Norge har ikke tidligere uttalt seg om DAS-40278-9.

DAS-40278-9 er foreløpig ikke godkjent for kommersiell dyrking eller omsetning som mat og/eller fôr i noen land (CERA 2011). I følge søker er maislinjen søkt godkjent for kommersiell dyrking, og bruk som mat og fôr i USA, Australia, Canada, Mexico, Taiwan, Sør-Korea og Japan (EFSA/GMO/NL/2010/89).

Oppdrag fra Mattilsynet

Mattilsynet har i brev datert 15.10.2010 (ref. 2010/195445) gitt Vitenskapskomiteen for mattrygghet i oppdrag å foreta løpende vitenskapelige vurderinger av helserisiko av genmodifiserte organismer til bruk som mat og fôr, samt avledete, prosesserte ikke-spiredyktige næringsmidler og fôrvarer som søkes godkjent under EUs forordning 1829/2003/EF. VKM er videre bedt om å vurdere landbruksrelatert miljørisiko for genmodifiserte planter som søkes godkjent under forordning 1829/2003/EF. Avhengig av hvilket bruksområde de genmodifiserte plantene søkes godkjent for, gjelder oppdraget miljørisiko knyttet til import, transport, videreforedling/prosessering og dyrking.

For nevnte søknader skal VKM, uten særskilt oppdrag, gi innspill til EFSA GMO EXTRANet når sakene er på offentlig høring (første innspillrunde). Kopi av innspill sendes Mattilsynet. Dersom det ikke gis innspill til søknadene orienterer også VKM Mattilsynet om dette. VKM skal følge opp EFSAs behandling av innspillene og vurdere EFSAs endelige risikovurdering (EFSAs opinion). VKM skal sende sin vurdering av EFSAs opinion til Mattilsynet med kopi til Direktoratet for naturforvaltning.

Søknad EFSA/GMO/NL/2010/89, genmodifisert maislinje DAS-40278-9, ble lagt ut på EFSAs GMO Extranet 11. mars 2011. Faggruppe for genmodifiserte organismer skal, i tråd med oppdragsbrev, utarbeide en foreløpig helse- og miljørisikovurdering av maisen til import og industriell prosessering, samt til bruk som næringsmiddel og fôrvarer. Søknaden omfatter ikke dyrking. Vurderingen skal utføres i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med prinsippene som er nedfelt i EFSAs 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 2006, 2010).

Produktet som ønskes vurdert:

Genmodifisert maislinje DAS-40278-9 fra Dow AgroSciences (EFSA/GMO/NL/2010/89)

Unik kode: DAS-40278-9

Status i EU: Søknad under forordning 1829/2003/EF.

Frist for innspill til EFSAs GMO Extranet: 11. juni 2011

Ønsket svarfrist til Mattilsynet: 8. juni 2011.

Risikovurdering

1 Innledning

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen DAS-40278-9 er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAs nettside EFSA GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen.

Maislinjen DAS-40278-9 er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven, samt kravene i EU-forordning (EF) Nr. 1829/2003.

Faggruppen 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 modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006). Ved vurdering av vesentlig likhet har faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes.

I tråd med VKMs mandat presiseres det at vurderinger av bærekraftig utvikling, samfunnsnytte og etikk, i henhold til genteknologiloven og dens konsekvensutredningsforskrift, 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.

Risikovurderingen av maislinjen DAS-40278-9 er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer, mens arbeidsgruppe for GMO-fôr har vurdert søkers dokumentasjon knyttet til toksisitet og allergisitet, samt komparative analyser av ernæringsmessige komponenter.

1.1 Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

Maislinjen DAS-40278-9 uttrykker enzymet aryloksyalkanoat-dioksygenase (AAD-1), som et resultat av introduksjon av *aad-1*-genet fra jordbakterien *Sphingobium herbicidovorans*. AAD-1 omdanner 2,4-diklorfenoksy-eddiksyre (2,4-D) til 2,4-diklorfenol (DCP), som gir plantene toleranse med herbicider med virkestoff 2,4D. AAD-1-enzymet omdanner også visse herbicider i aryloksyfenoksypropionat (AOPP)-gruppen. 2,4-D er et selektivt bladherbicid med systemisk virkning, og hører til herbicidgruppen fenoksyryrer. Herbicidet er et syntetisk auxin, med virkning som indoleddiksyre (IAA), og benyttes til kontroll av ettårige og flerårige tofrøbladete ugras i blant annet korn, mais og gras. 2,4-D er godkjent i EU, men har ikke vært tillatt i Norge siden 1997. Da mistet preparatet Weedar 64 sin godkjenning basert på substitusjonsprinsippet og ble erstattet av preparater med gunstigere helse- og miljøegenskaper (Spikkerud, Mattilsynet, pers. med.). Det er heller ikke godkjente AOPP-preparater på det norske markedet (Plantevernguiden 2011).

2 Molekylær karakterisering

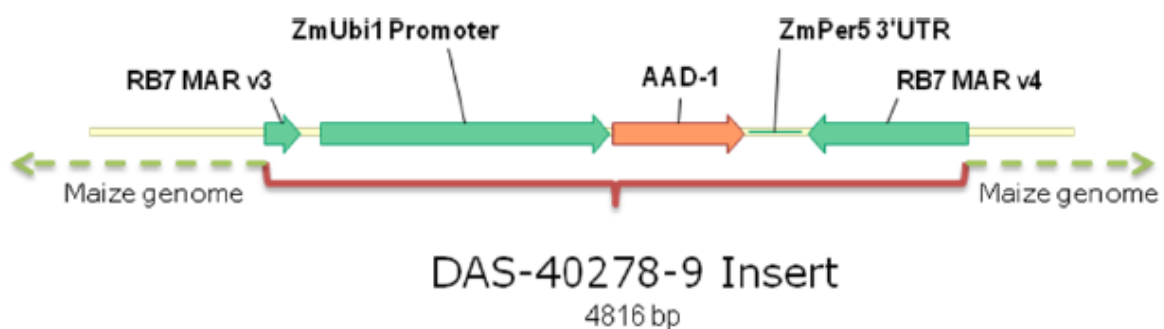
2.1 Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

I henhold til søkers dokumentasjon er event DAS-40278-9 produsert ved genetisk transformasjon av kallusceller fra den umodifisert maishybriden Hi-II. Hybriden er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom de to innavlede maislinjene A188 og B73. Transformasjonen ble foretatt ved hjelp av direkte innsetting (Whiskers transformering) av et DNA-fragment fra plasmidet pDAS1740 (Petolino & Arnold 2009). Det rekombinante DNA-fragmentet på 6236 bp, som ble brukt til transformering av maisgenomet, inneholder en *aad-1* ekspresjonskassett, med følgende elementer: RB7 MAR v3 fra tobakk, ZmUbi1Intron-promoter og polyubiquitin-genets første intron, *aad-1*-gen, mais ZmPer5 3' ikke-translatert område fra mais peroksidasegenet, RB7 MAR v4. ZmPer5 avslutter (terminerer) transkripsjonen. MAR (Matrix attachment regions) fra tobakksplanten *Nicotiana tabacum* er antatt å føre til stabil integrering av DNA, økt ekspresjon og redusert hendelse for geninaktivering.

DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgener.

2.2 Karakterisering av geninnsetting/genkonstruksjon

Plasmidet pDAS1740 ble kuttet med restriksjonsenzymet *FspI*. pDAS1740 *FspI*-fragmentet er på 6236 bp og inneholder ikke "back-bone" plasmidsekvenser som ORI, *AmpR*-genet m.m. Southern blot-, PCR- og sekvensanalyse av DNA, isolert fra blad, viser at totalt er 4816 bp av dette DNA-fragmentet satt inn i maisen. Det er derfor kuttet bort 1420 bp(6236-4816) av pDAS1740 *FspI*-DNA-fragmentet. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av det trunkerte rekombinant DNA-fragmentet i genomet. Gener og DNA-elementer i DNA-fragmentet er vist i figur 1 og tabell 1.



Figur 1. Gener og regulatoriske elementer satt inn i DAS-40278-9.

Molekylærbiologiske analyser viser at det trunkerte rekombinante fragmentet i planten inneholder *aad-1*-genet og deler av genelementer som er på det tilsvarende rekombinante DNA-fragmentet i vektoren pDAS1740. RB7 MAR v3 og v4 er blitt trunkert ved innsettingen, henholdsvis ca.8/10 og 1/10 er fjernet. Det er også påvist 21 bp som ble satt inn i 5'-enden, en 2 bp deleksjon i genomisk DNA

er påvist, og 1 bp er satt inn i 3'-enden, samt at det har skjedd en nukleotidendring (T til C) i DNA-fragmentet (Mo et al. 2010). Denne endringen (T til C) er i det ikke-kodende området i 3'UTR terminotereren, og endringen har ikke resultert i endringer i enzymets funksjon. I maisgenomet er det ikke påvist vektorsekvenser som ligger mellom området 6236 bp til 8512 bp til plasmidet pDAS1740. *AmpR*-genet ligger i dette området (tabell 1).

Flankerende sekvenser, ca. 1900 bp oppstrøms (5'-enden til genet) og nedstrøms (3'-enden til genet) er sekvensert. Sekvensanalyser av flankesekvensene til det rekombinante DNA-fragmentet på 4816 bp viser at flankesekvensene er genomisk DNA fra mais. Sekvensanalysene viser at det rekombinante fragmentet ikke har ødelagt et maisgen. Flankesekvensene viser størst homologi til Grande retrotransposon-familien. Disse retrotransponene er store, gypsy-lignende transposoner som flytter seg via et RNA intermediat, og det finnes i ca. 11000 kopier av retrotransposoner i maisgenomet (Garcia-Martinez & Martinez-Izquierdo 2003).

Tabell 1. Beskrivelse av innsatte gener og regulatoriske elementer i DAS-40278-9.

Location on pDAS1740	Genetic Element	Size (base pairs)	Description
1-164	Intervening sequence	164 bp	Sequence used for DNA cloning
165-1330	RB7 MAR v3	1166 bp	Matrix attachment region (MAR) from <i>Nicotiana tabacum</i> (Hall et al., 1991)
1331-1459	Intervening sequence	129 bp	Sequence used for DNA cloning
1460-3450	ZmUbi1 promoter	1991 bp	Ubiquitin promoter from <i>Zea mays</i> (Christensen et al., 1992)
3451-3472	Intervening sequence	22 bp	Sequences used for DNA cloning
3473-4363	aad-1	891 bp	Synthetic, plant-optimized version of an aryloxyalkanoate dioxygenase gene from <i>Sphingobium herbicidovorans</i> (Wright et al., 2009)
4364-4397	Intervening sequence	34 bp	Sequence used for DNA cloning
4398-4762	ZmPer5 3' UTR	365 bp	3' untranslated region from <i>Zea mays</i> peroxidase gene (Ainley et al., 2002)
4763-4801	Intervening sequence	39 bp	Sequence used for DNA cloning
4802-5967	RB7 MAR v4	1166 bp	Matrix attachment region (MAR) from <i>Nicotiana tabacum</i> (Hall et al., 1991)
5968-6236	Intervening sequence	269 bp	Sequence used for DNA cloning
6237-7196	Plasmid backbone sequences	960	Plasmid backbone sequences from pUC19 (Yanisch-Perron et al., 1985)
7197-8054	Apr gene	858	Ampicillin resistance gene from pUC19 (Yanisch-Perron et al., 1985)
8055-8512	Plasmid backbone sequences	458	Plasmid backbone sequences from pUC19 (Yanisch-Perron et al., 1985)

2.3 Informasjon vedrørende uttrykk av innsatte gener og åpne leserammer (ORF)

I dokumentasjonen fra søker presenteres resultater fra proteinekspresjonsstudier med maislinjen DAS-40278-9. Feltforsøkene, som ligger til grunn for studiene, ble gjennomført på åtte lokaliteter i USA vekstsesongen 2009. Forsøkene ble lagt ut som fullstendig randomiserte blokkdesign med fire gjentak, og inkluderte foruten testlinjen DAS-40278-9, en umodifisert kontroll med tilsvarende genetisk bakgrunn og seks umodifiserte kommersielt tilgjengelige kontrollinjer. For informasjon om forsøksdesign og forsøksopplegg for øvrig se kap. 3.1.

Det ble tatt prøver av blad (V2-V4, V9 og R1), røtter (R1), pollen, fôrfraksjon (R4), hel plante (R6) og frø (R6) fra forsøksruter med DAS-40278-9 (usprøytet og sprøytet med henholdsvis 2,4-D, Quizalofop eller 2,4-D+ Quizalofop). Ekspresjonen av AAD-1-proteinet ble målt ved hjelp av enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

I henhold til søkers dokumentasjon ble det detektert AAD-1-protein i alle undersøkte vev. Gjennomsnittlige nivåer av AAD-1 varierte mellom 2,08 ng/mg t.v. i hel plante (utviklingsstadium R6 -fysiologisk moden) til 102 ng/mg i pollen (tabell 2). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i proteinekspresjon relatert til ulikheter i sprøyteregeime.

Tabell 2. Gjennomsnittlige konsentrasjoner av proteinet AAD-1 uttrykt i ulike plantevev, på ulike utviklingsstadier og ved ulike sprøytemiddelregimer for DAS-40278-9 (µg/g t.v.).

Maize Tissue	Treatment	AAD-1 ng/mg Tissue Dry Weight		
		Mean	Std. Dev.	Range
V2-V4 Leaf	AAD-1 Unsprayed	18.32	7.23	6.72-30.45
	AAD-1 + Quizalofop	18.16	7.88	7.39-34.4
	AAD-1 + 2,4-D	18.67	8.21	6.84-36.55
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	18.79	9.14	8.36-35.75
V9 Leaf	AAD-1 Unsprayed	7.23	1.51	ND-10.86
	AAD-1 + Quizalofop	7.07	2.83	1.7-13.68
	AAD-1 + 2,4-D	7.59	2.32	4.94-14.01
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	7.73	2.98	2.17-17.06
R1 Leaf	AAD-1 Unsprayed	8.51	2.36	3.89-16.66
	AAD-1 + Quizalofop	7.36	1.98	3.02-13.81
	AAD-1 + 2,4-D	7.90	1.98	4.57-13.36
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	8.13	2.27	4.21-12.88
Pollen	AAD-1 Unsprayed	91.68	21.74	31.76-128.19
	AAD-1 + Quizalofop	101.62	22.25	37.02-127.7
	AAD-1 + 2,4-D	93.33	21.91	42.42-122.99
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	100.14	17.61	35.46-126.28
R1 Root	AAD-1 Unsprayed	4.69	2.36	ND-9.64
	AAD-1 + Quizalofop	4.78	1.91	(0.39) ^a -8.85
	AAD-1 + 2,4-D	4.38	1.55	0.66-8
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	4.42	1.66	0.94-8.33
R4 Forage	AAD-1 Unsprayed	8.08	1.65	4.63-11.87
	AAD-1 + Quizalofop	8.03	1.76	4-12.12
	AAD-1 + 2,4-D	8.74	1.98	ND-13.73
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	8.55	2.06	3.77-12.3
R6 Whole plant	AAD-1 Unsprayed	2.08	1.15	(0.28)-5.13
	AAD-1 + Quizalofop	2.87	1.23	(0.28)-7.13
	AAD-1 + 2,4-D	3.07	1.46	ND-10.73
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	2.74	1.38	(0.27)-7.01
Grain	AAD-1 Unsprayed	3.95	1.03	1.76-6.31
	AAD-1 + Quizalofop	4.11	0.55	2.32-6.15
	AAD-1 + 2,4-D	4.16	1.22	1.97-8.18
	AAD-1 + Quizalofop and 2,4-D	3.85	0.95	1.64-6.46

^a ND = not detected; below the LOD of the method.

^b Values in parentheses are between the method LOD and LOQ.

Åpne leserammer

I henhold til dokumentasjonen fra søker er det gjort studier for å påvise åpne leserammer i 5'- og 3' flankerende ende til det rekombinante DNA-fragmentet. Det er søkt på seks potensielt åpne leserammer både i 5'- og 3' retning. I henhold til søker er det undersøkt for 1868 bp i 3'-enden og 1852 bp i 5'-enden. Det er påvist 10 nye åpne leserammer i de flankerende endene til fragmentet ved søk i BLASTn databasen (tabell 3). Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver av de 12 leserammen er utført v.h.a. BLASTp og FARRP-allergen Database v10(2010). Av disse var 7 lange nok til å søke i FARRP for 35 % identitet til kjente allergener, og søk i BLASTp for kjente toksiner (tabell 3).

Det ble ikke påvist biologisk relevante strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at det er lite sannsynlig at dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert, vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske eller allergene effekter, eller har andre uheldige helsemessige konsekvenser.

Tabell 3 Sammenndrag av bioinformasjonssøk

Flanking sequences (both against DNA and protein databases)								
General Database	Date	Algorithms	Ref. to place in dossier	EST Database	Date	Algorithms	Ref. to place in dossier	
Nucleotide: GenBank non-redundant nucleotide collection	April 30, 2010	BLASTn	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010a)	GenBank Non-mouse No-human ESTs	April 30, 2010	BLASTn	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010a)	
Protein: GenBank non-redundant protein sequences	April 30, 2010	BLASTx	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010a)					
ORF analyses <input checked="" type="checkbox"/> insert-plant (a)/ <input type="checkbox"/> insert-insert (b)/ <input type="checkbox"/> whole insert (c)								
Allergen database	Date	Algorithms	Ref. to place in dossier	General (and toxin) Database	Date	Algorithms	Ref. to place in dossier	
(a) FARRP v10	January, 2010	FASTA and 8-mer match	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010c)	GenBank non-redundant protein sequences	April 23, 2010	BLASTp	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010c)	
Newly expressed proteins								
Allergen database	Date	Algorithms	Ref. to place in dossier	General (and toxin) Database	Date	Algorithms	Ref. to place in dossier	
AAD-1	FARRP v10	January, 2010	FASTA and 8-mer match	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010d)	GenBank non-redundant protein sequences	March 18, 2010	BLASTp	EFSA-GMO-NL-2010-89; Part I of the Technical dossier (Song, 2010b)

2.4 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

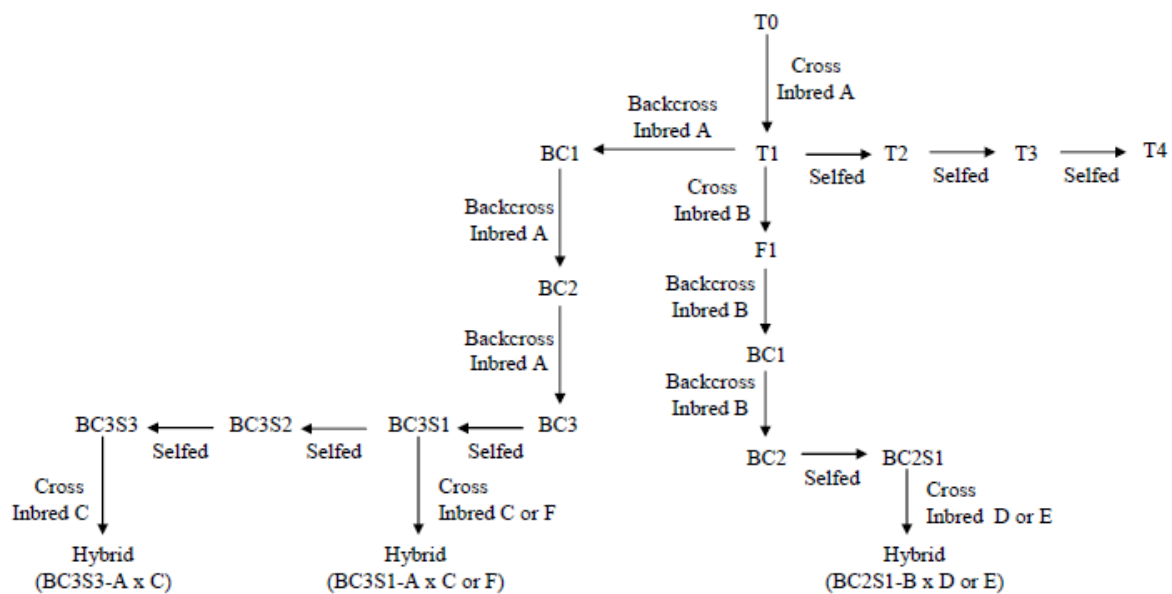
Dow AgroSciences viser til at genetisk stabilitet er undersøkt ved Southern analyser og protein deteksjon av avkom fra en enkelt tilbakekryssingsgenerasjon med event DAS-40278-9 (linje BC3S1) (figur 2). Blad fra 85 frøplanter fra BC3S1 ble testet for forekomst av AAD-1-protein. Av disse var 65 genotyper positive for AAD-1, mens 20 genotyper ikke uttrykte proteinet. Resultatene ble bekreftet ved Southern blot-analyser. Dette gir en forventet nedarvingsfrekvens på 3:1 for BC3S1-generasjonen for den introduserte egenskapen. Chi-kvadrattesten indikerer ingen signifikante avvik fra forventet nedarvingsfrekvens ($p=0,75$).

Søker har også inkludert resultater fra spaltingsanalyser fra 6 ulike foredlingsgenerasjoner av DAS-402789 (T1, T2, BC1, BC2, BC3; BC3S1) (figur 2) for å verifisere at det rekombinante DNA-fragmentet nedarves stabilt over generasjoner. Hver av generasjonene ble sprøytet med herbicidet quizalofop (560 g ai/ha) for å identifisere genotyper som var følsomme/tolerante for herbicidet. Det er benyttet en chi-kvadrattest for å undersøke om den introduserte egenskapen følger mønsteret for mendelsk nedarving av et enkelt, dominant lokus (forventet hemizygot nedarving). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom forventet og observert segregasjonsfrekvenser for den introduserte egenskapen (tabell 4), og det konkluderes med at det rekombinante DNA-innskuddet er stabilt integrert i genomet og nedarves stabilt over generasjoner.

Tabell 4. Spaltingsfrekvenser for herbicidtoleranse i 6 foredlingsgenerasjoner av DAS-40278-9.

Generation	Expected Segregation	Number Resistant*	Number Susceptible*	Chi- Square P-Value
T1	1:1	34	28	0.4461
T2	3:1	61	27	0.2184
BC1	1:1	23	21	0.7630
BC2	1:1	80	91	0.4002
BC3	1:1	181	177	0.8326
BC3S1	3:1	761	269	0.4079

*Data expressed as [number of plants expected to be tolerant to quizalofop]:[number of plants expected to be susceptible to quizalofop] – unpublished data from backcrossing programme .



Inbred A = DAS elite inbred XHH13 Inbred B = DAS elite inbred SLB01 Inbred C, D, E, F = DAS elite inbreds used to make hybrids	BC1 = first backcross with elite parental inbred BC2 = second backcross with elite parental inbred BC3 = third backcross with elite parental inbred
T0 = original transformant T1 = first generation, derived from cross of T0 with elite inbred T2 (T1S1) = derived from self-pollination of T1 T3 (T1S2) = derived from self-pollination of T2 T4 (T1S3) = derived from self-pollination of T3	BC2S1 = derived from self-pollination of BC2 BC3S1 = derived from self-pollination of BC3 BC3S2 = derived from self-pollination of BC3S1 BC3S3 = derived from self-pollination of BC3S2 Hybrid = cross between two elite inbreds

Analysis	Part I Section	Inbred Lineage	DAS-40278-9 Maize Generation	Control
Molecular Analysis	D.2a	A	T3, T4, BC3S1, BC3S2, BC3S3	Inbred A
Protein Expression	D.3	A	BC3S3-A x C Hybrid	A x C Hybrid
Segregation Analysis	D.5	A	T1, T2 BC1, BC2, BC3, BC3S1	--
Composition	D.7.3	A	BC3S3-A x C Hybrid	A x C Hybrid
Agronomics	D.7.4	A	BC3S3-A x C Hybrid	A x C Hybrid
Protein Characterization	D.7.8 and D.7.9	A	BC3S1-A x C Hybrid	Inbred A

Figur 2. Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje DAS-40278-9. Generasjoner som har inngått i analyse av genetisk stabilitet er uthevet.

2.5 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Den transgene maislinjen DAS-40278-9 har fått tilført genet *aad-1*. I henhold til søkers informasjon vedrørende integreringsplass og flankesekvenser til det integrerte transgenet, samt analyser vha Southern blot er det grunn til å tro at transgenet sitter i et lokus i genomet. Det konkluderes med at nedarvingen av *aad-1*-genet i DAS-40278-9 følger mønsteret for mendelsk nedarving av ett dominant locus (hemizygot nedarving), og at fusjonsproteiner ikke uttrykkes i DAS-40278-9.

Faggruppen har ikke identifisert noe risiko knyttet til den molekylærbiologiske karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i DAS-40278-9. Faggruppen finner informasjonen tilstrekkelig for en risikovurdering av maislinjen.

3 Komparative analyser

3.1 Valg av komparator og forsøksdesign

I henhold til søkers dokumentasjon er maislinjen DAS-40278-9 testet i feltforsøk i sentrale dyrkingsområder for mais i USA vekstsesongen 2009 (Phillips & Lepping 2010, upublisert). Feltforsøkene ble utført på til sammen åtte lokaliteter i statene Iowa, Indiana, Nebraska og Pennsylvania. I tillegg ble det etablert to forsøksfelt i Ontario, Canada, men forsøkene ble ikke høstet grunnet tidlig nattefrost.

En konvensjonell maislinje (ZQ08LQ656385), med tilsvarende genetisk bakgrunn som testlinjen men som ikke uttrykker AAD-1-protein, ble benyttet som umodifisert kontroll i forsøkene. I tillegg var det inkludert seks umodifiserte, kommersielle maislinjer. Disse referansesortene var av samme tidlighetsklasse som kontroll- og testlinjen. Kryssingsskjema for produksjon av hybrid BC3S1-A x C med event DAS-40278-9, som er benyttet som testlinje i de komparative analysene, er vist i figur 2.

Testlinje, komparator og referansesorter ble plantet i fullstendig randomiserte blokkdesign med fire gjentak per behandling innen hver lokalitet. Hver forsøksrute besto av to rekker (25 ft), omgitt av to grenserekker av ikke-transgene hybridorter med samme tidlighet.

Forsøksruter med testlinjen DAS-40278-9 ble enten ikke sprøytet, eller sprøytet med 2,4-D (preparat Weedar 64), Quizalofop (preparat Assure II) eller 2,4 D + Quizalofop. Det ble benyttet maksimale tillatte nivåer av det enkelte preparat, dvs. ca. 1066-1180 g 2,4-D/ha og ca 88,8-93,9 g quizalofop/ha. Weedar 64 ble benyttet tre ganger i løpet av vekstsesongen (før oppspiring, vekststadium V3-5 og V8-9), mens det ble sprøytet med preparatet Assure II en gang i løpet av sesongen (vekststadium 5-7). Sprøyteregimet for øvrig inkluderte insekticider, fungicider, samt andre herbicider. Søker viser ellers til at dyrkingsregimet var i henhold til vanlig praksis i den enkelte region der forsøkene var lokaliserte

Det ble tatt ut fire prøver per forsøksledd for analyser av ernæringsmessig viktige komponenter både hos testlinje, kontrollinjen og referansesortene.

Statistiske analyser

Søker viser til at det er utført variansanalyse over og innen lokaliteter for de enkelte ernæringskomponentene og agronomiske karakterene. Det ble benyttet en blandet variansanalysemodell (SAS Version 9.1; SAS institute 2004 (9), med forsøksledd (genotype x behandling) som fast effekt, og sted, blokk innen lokalitet og samspill sted x forsøksledd som tilfeldige effekter. Effekt av behandling/forsøksledd ble estimert vha en F-test og parete t-tester ble kjørt mellom ubehandlede ledd, AAD-1 sprøytet med quizalofop (AAD-1 + quizalofop), AAD-1 sprøytet med 2,4-D (AAD-1 + 2,4-D), og AAD-1 sprøytet med både quizalofop og 2,4-D (AAD-1 + quizalofop + 2,4-D).

På grunn av det store antall kontraster ved slike multiple tester, vil sannsynligheten for å detektere falske signifikante effekter være høy ($1-0,95^{\text{antall sammenligninger}}$). 4 parvise sammenligninger per parameter (64 ernæringsmessige komponenter, 28 agronomiske karakterer) resulterer i 256 og 112 sammenligninger for henholdsvis ernæringsmessige og agronomiske parametre. Sannsynligheten for å påvise en eller flere falske positive effekter vil derfor være >99,99 % for ernæringskarakterer og >99 % for agronomiske karakterer. Dersom signifikansnivået for hver enkelt test ikke justeres vil sannsynligheten for type I feil (feilaktig forkastning av nullhypotesen) bli stor. I disse studiene har søker valgt å benytte "False discovery rate" (FDR) (referanse) for å korrigere p-verdiene fra den multiple testingen og dermed redusere problemet med falske positive effekter. Detekterte forskjeller ble vurdert signifikant hvis den FDR-justerte p-verdien var under 0,05.

Faggruppen stiller imidlertid spørsmål med hvorfor søker har kjørt en mengde t-tester istedet for ANOVA, mixed ANOVA eller MANOVA. Dette til tross for at forsøksdesignet er satt opp til å passe for mixed ANOVA.

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.

3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter

Hovedkomponenter i maisfrø og fôr

Flertallet av de valgte analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). I maisfrø ble følgende parametere analysert; protein, fett, aske, vann, karbohydrater, ADF, NDF, TDF (total fordøyelig fiber), aminosyrer, fettsyrer, fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, selen, sink, vitaminene B1, B2, B3, B6, C, E, folinsyre og β -karoten, de sekundære metabolittene ferulsyre og p-kumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre, inositol, trypsinhemmer og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

Fôrfraksjon

På grunn av at bruksområdet for søknaden kun omfatter import og prosessering og ikke dyrking, har Dow AgroSciences valgt å ikke inkludere analysene av fôrfraksjonen i Part I Technical dossier. Det henvises i stedet til et vedlegg til søknaden (Phillips & Lepping 2010) (tabell 5). Det ble ikke påvist statistisk signifikante forskjeller mellom kontroll og testlinjene ved analyse over steder for aske, fett, vann, ADF og NDF. Når det gjelder protein viser variansanalysen over lokaliteter og behandlinger signifikante forskjeller mellom umodifisert kontroll og testlinjen (tabell 5). Resultater fra de parede t-testene (justerte p-verdier) viser kun signifikante forskjeller mellom kontroll og DAS-40278-9 sprøytet med begge herbicidene ($p < 0,05$) for denne parameteren.

Verdiene ligger innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

Tabell 5. Resultater fra variansanalyse over steder av fôrfraksjon fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (g/100 g tørrvekt(tv))	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)				
	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9, usprøytet	DAS-40278-9, Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D	DAS-40278-9 Quizal. + 2,4-D
Vann (% råvekt) (p=0,746)	70 ± 1,1 [62,3-74,1]	70,3 ± 1,1 [63,3-76,6]	69,9 ± 1,1 [61,4 - 74]	70,1 ± 1,1 [61,8 – 75,7]	69,9 ± 1,1 [62,7 – 75,1]
Aske (p=0,417)	3,78 ± 0,21 [2,61 – 5,32]	3,98 ± 0,21 [2,65 – 6,2]	4,01 ± 0,21 [3 – 5,48]	3,99 ± 0,21 [2,7 – 6,79]	3,96 ± 0,21 [2,87 – 5,15]
Fett (p=0,999)	2,05 ± 0,13 [1,24 – 3,08]	2,06 ± 0,13 [0,64 – 5,25]	2,05 ± 0,13 [0,661 – 3,58]	2,07 ± 0,13 [1,29 – 2,87]	2,05 ± 0,13 [0,9 – 2,88]
Protein (p=0,037)	7,43 ± 0,4 [4,99 – 9,34]	7,93 ± 0,4 [5,88 – 9,97] (0,021, 0,094)	7,75 ± 0,4 [4,92 - 10,1]	7,96 ± 0,4 [5,98 - 9,93] (0,014, 0,076)	8,05 ± 0,4 [4,69 - 10,7] (0,005, 0,041)
Karbohydrater (p=0,055)	86,7 ± 0,4 [84,5 - 89,9]	86 ± 0,4 [82,7 - 88,4] (0,018, 0,087)	86,2 ± 0,4 [83,6 - 89,5]	86 ± 0,4 [84 - 88,8] (0,015, 0,076)	85,9 ± 0,4 [82,1 - 89,8] (0,009, 0,054)
ADF (p=0,547)	26,5 ± 0,8 [16,8 – 33,9]	26 ± 0,8 [21 - 34]	26,1 ± 0,8 [19,3 - 33,7]	25,8 ± 0,8 [18,2 - 33,1]	25,3 ± 0,8 [18,9 - 30,7]
NDF (p=0,766)	46,5 ± 1,1 [37,1 - 55,8]	46 ± 1,1 [35,8 - 54,5]	45,2 ± 1,1 [36 - 56,7]	46,1 ± 1,1 [36,4 - 58,4]	45,9 ± 1,1 [36,4 - 60,2]
Kalsium mg/100 g tv (p=0,177)	192 ± 8 [105 - 305]	206 ± 8 [158 - 267]	209 ± 8 [147 - 283]	210 ± 8 [142 - 338] (0,039, 0,152)	198 ± 8 [132 - 275]
Fosfor mg/100 g tv (p=0,052)	200 ± 7 [157 - 243]	210 ± 7 [168 - 273]	215 ± 7 [176 - 270] (0,008, 0,052)	215 ± 7 [170 - 264] (0,009, 0,053)	210 ± 7 [150 - 251]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

Hovedkomponenter i maisfrø

I henhold til søkers dokumentasjon er følgende komponenter analysert: aske, fett, protein, vann, karbohydrater, ADF, NDF, TDF og stivelse (tabell 6). Med unntak for innhold av karbohydrater og protein viste de statistiske analysene ingen signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll for de analyserte komponentene. Det ble imidlertid funnet signifikante forskjeller mellom kontroll og testlinje (over behandlinger) med hensyn på protein. Resultater fra de parede t-testene (FDR-justerte p-verdier) viste også signifikante forskjeller mellom kontroll og henholdsvis usprøytet testlinje, testlinje sprøytet med quizalofop, og 2,4 D. Tilsvarende ble det funnet signifikante forskjeller mellom test og kontroll for innhold av karbohydrater over behandlinger, og mellom kontroll og testlinje sprøytet med henholdsvis quizalofop og 2,4 D.

Verdiene for disse komponentene ligger innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI CCD, 2006) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

Tabell 6. Resultater fra variansanalyse over steder for hovedkomponenter i maisfrø fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (g/100 g tørrvekt)	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)					
	F-test ¹	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9 usprøytet	DAS-40278-9 Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D	DAS-40278-9 Quiza. + 2,4-D
Vann (% råvekt) (p=0,312)		26,3 ± 1,3 [19,1 - 33,1]	25,7 ± 1,3 [19,3 - 31,8]	25,7 ± 1,3 [18,8 - 29,8]	25,6 ± 1,3 [18,9 - 33,2]	25,7 ± 1,3 [18,7 - 32,1]
Aske (p=0,759)		1,47 ± 0,1 [1,22 - 3,11]	1,53 ± 0,1 [1,11 - 2,64]	1,51 ± 0,1 [1,23 - 2,81]	1,5 ± 0,1 [0,816 - 3,09]	1,57 ± 0,1 [1,08 - 3,6]
Totalt fett (p=0,89)		4,04 ± 0,07 [3,58 - 4,48]	3,99 ± 0,07 [3,55 - 4,47]	4,04 ± 0,07 [3,53 - 4,61]	4,02 ± 0,07 [3,27 - 4,58]	4,03 ± 0,07 [3,22 - 4,78]
Protein (p=0,006)		10,9 ± 0,4 [7,87 - 12,7]	11,6 ± 0,4 [9,14 - 13,5] (0,005, 0,041)	11,7 ± 0,4 [8,06 - 13,8] (<0,001, 0,21)	11,7 ± 0,4 [8,8 - 13,5] (0,001, 0,21)	11,5 ± 0,4 [8,2 - 13,6] (0,008, 0,052)
Karbohydrater (p=0,01)		83,6 ± 0,4 [81,7 - 86,7]	82,9 ± 0,4 [80,2 - 85,9] (0,008, 0,052)	82,8 ± 0,4 [80,2 - 86,8] (0,001, 0,021)	82,8 ± 0,4 [80,6 - 86] (0,003, 0,032)	82,9 ± 0,4 [79,3 - 86,8] (0,007, 0,052)
ADF (p=0,378)		3,93 ± 0,18 [2,4 - 6,08]	3,83 ± 0,18 [2,42 - 5,63]	3,63 ± 0,18 [2,78 - 4,77]	3,9 ± 0,18 [2,88 - 4,96]	3,78 ± 0,18 [2,91 - 4,86]
NDF (p=0,693)		10,8 ± 0,3 [7,78 - 13,1]	10,7 ± 0,3 [8,41 - 15]	10,5 ± 0,3 [8,37 - 13,7]	10,4 ± 0,3 [8,3 - 12,7]	10,5 ± 0,3 [8,52 - 13,5]
TDF (p=0,545)		15,6 ± 0,5 [12,4 - 19,3]	16,1 ± 0,5 [12,8 - 22,3]	15,4 ± 0,5 [12,7 - 18,9]	15,4 ± 0,5 [13,3 - 19,7]	15,7 ± 0,5 [12,2 - 20,5]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

Fettsyresammensetning i mais

Fettsyresammensetningen for maisfrø er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det ble analysert for innhold av 22 ulike fettsyrer. I henhold til søker er innholdet av 13 av fettsyrene ved eller lavere enn de respektive påvisningsgrensene. Resultatene av variansanalysene viste signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll (over behandlinger) for stearinsyre (tabell 7). Videre viste t-testene signifikante forskjeller for denne variabelen for testlinjen behandlet med henholdsvis quizalofop og 2,4 D (FDR-justerte p-verdier) (tabell 7). Forskjellene som er målt er imidlertid mindre enn 20 %. Verdiene ligger innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2006) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

Tabell 7. Resultater fra variansanalyse over steder for fettsyrer i maisfrø fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (% av tørrvekt)	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)					
	F-test ¹	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9 usprøytet	DAS-40278-9 Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D	DAS-40278-9 Quizalofop+ 2,4-D
16:0 Palmitinsyre (p=0,661)		10,8 ± 0,1 [10,1 - 11,5]	10,7 ± 0,11 [10,3 - 11,5]	10,8 ± 0,1 [10,2 - 11,6]	10,8 ± 0,1 [10,3 - 11,9]	10,8 ± 0,1 [10,3 - 12]
16:1 Palmitolsyre		ND [ND - 0,183]	ND [ND - 0,240]	ND [ND - 0,263]	ND [ND - 0,235]	ND [ND - 0,171]
18:0 Stearinsyre (p=0,015)		2,064 ± 0,036 [1,89 - 2,283]	2,121 ± 0,036 [1,829 - 2,254] (0,015, 0,077)	2,136 ± 0,036 [1,749 - 2,387] (0,003, 0,033)	2,137 ± 0,036 [1,866 - 2,375] (0,003, 0,032)	2,123 ± 0,036 [1,868 - 2,284] (0,013, 0,071)
18:1 Oljesyre (p=0,931)		31,8 ± 0,3 [29,5 - 33,5]	31,7 ± 0,3 [28,5 - 35]	32 ± 0,3 [31 - 34,1]	31,9 ± 0,3 [29,4 - 34,4]	31,8 ± 0,3 [29,3 - 33,9]
18:2 Linolsyre (p=0,754)		53,55 ± 0,25 [52,1 - 56,17]	53,61 ± 0,25 [50,84 - 56,83]	53,26 ± 0,25 [51,37 - 54,24]	53,28 ± 0,25 [51,52 - 55,05]	53,43 ± 0,25 [51,63 - 55,03]
18:3 Linolensyre (p=0,901)		1,071 ± 0,021 [0,929 - 1,166]	1,076 ± 0,021 [0,952 - 1,186]	1,079 ± 0,021 [0,976 - 1,165]	1,075 ± 0,021 [0,894 - 1,187]	1,072 ± 0,021 [0,947 - 1,172]
20:0 Arakidinsyre (p=0,092)		0,407 ± 0,009 [0,336 - 0,484]	0,417 ± 0,009 [0,373 - 0,529]	0,416 ± 0,009 [0,341 - 0,472]	0,422 ± 0,009 [0,374 - 0,533] (0,007, 0,05)	0,417 ± 0,009 [0,364 - 0,486]
20:1 Gadolinsyre (p=0,779)		0,251 ± 0,0029 [0,2266 - 0,275]	0,2493 ± 0,0029 [0,228 - 0,286]	0,2488 ± 0,0028 [0,2278 - 0,288]	0,2501 ± 0,0028 [0,2213 - 0,2731]	0,2475 ± 0,0029 [0,2254 - 0,2676]
22:0 Behensyre		ND [ND - 0,199]	ND [ND - 0,191]	ND [ND - 0,192]	ND [ND - 0,210]	ND [ND - 0,201]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

Aminosyrer i maisfrø

I henhold til dokumentasjonen er innholdet av både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer analysert (tabell 8). Analysene er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Kombinerte analyser over lokaliteter viser ingen signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll for arginin, cystein, glycin, lysin og metionin. For de øvrige aminosyrene er det funnet signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll (over behandlinger) (tabell 8). For resultater av parede t-tester, se tabell 8. Verdiene ligger innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

Tabell 8. Resultater fra variansanalyse over steder for aminosyrer i maisfrø fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (% av tørrvekt)	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)				
	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9 usprøytet	DAS-40278-9 Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D	DAS-40278-9 Quizalofop+ 2,4-D
Alanin (p=0,01)	0,884 ± 0,036 [0,605 - 1,11]	0,949 ± 0,036 [0,757 - 1,14] (0,006, 0,047)	0,966 ± 0,036 [0,699 - 1,17] (<0,001, 0,018)	0,93 ± 0,036 [0,648 - 1,15] (0,041, 0,155)	0,925 ± 0,036 [0,608 - 1,15]
Arginin (p=0,623)	0,513 ± 0,013 [0,42 - 0,595]	0,528 ± 0,013 [0,443 - 0,658]	0,526 ± 0,013 [0,416 - 0,607]	0,522 ± 0,013 [0,389 - 0,646]	0,515 ± 0,013 [0,375 - 0,602]
Asparbinsyre (p=0,046)	0,76 ± 0,028 [0,564 - 0,908]	0,797 ± 0,028 [0,646 - 1,01] (0,043, 0,159)	0,816 ± 0,028 [0,608 - 1,01] (0,003, 0,033)	0,791 ± 0,028 [0,571 - 0,939]	0,783 ± 0,028 [0,531 - 0,945]
Cystein (p=0,139)	0,205 ± 0,005 [0,173 - 0,27]	0,217 ± 0,005 [0,18 - 0,277]	0,211 ± 0,005 [0,176 - 0,256]	0,211 ± 0,005 [0,179 - 0,251]	0,206 ± 0,005 [0,169 - 0,256]
Glutaminsyre (p=0,007)	2,11 ± 0,08 [1,44 - 2,63]	2,29 ± 0,08 [1,86 - 2,73] (0,003, 0,034)	2,32 ± 0,08 [1,7 - 2,71] (<0,001, 0,018)	2,23 ± 0,08 [1,59 - 2,8] (0,033, 0,136)	2,22 ± 0,08 [1,49 - 2,75]
Glycin (p=0,27)	0,406 ± 0,009 [0,329 - 0,456]	0,417 ± 0,009 [0,356 - 0,496]	0,417 ± 0,009 [0,345 - 0,478]	0,412 ± 0,009 [0,325 - 0,472]	0,405 ± 0,009 [0,316 - 0,453]
Histidin (p=0,024)	0,268 ± 0,01 [0,161 - 0,344]	0,289 ± 0,01 [0,231 - 0,362] (0,003, 0,032)	0,286 ± 0,01 [0,197 - 0,342] (0,008, 0,052)	0,28 ± 0,01 [0,207 - 0,344]	0,277 ± 0,01 [0,176 - 0,332]
Isoleucin (p=0,035)	0,421 ± 0,018 [0,295 - 0,524]	0,449 ± 0,018 [0,361 - 0,534] (0,015, 0,076)	0,456 ± 0,018 [0,325 - 0,547] (0,003, 0,032)	0,444 ± 0,018 [0,298 - 0,553] (0,042, 0,158)	0,441 ± 0,018 [0,277 - 0,551]
Leucin (p=0,006)	1,45 ± 0,06 [0,936 - 1,87]	1,58 ± 0,07 [1,27 - 1,94] (0,004, 0,035)	1,61 ± 0,06 [1,14 - 1,95] (<0,001, 0,018)	1,54 ± 0,06 [1,05 - 1,98] (0,03, 0,127)	1,54 ± 0,07 [0,986 - 1,96] (0,032, 0,131)
Lysin (p=0,333)	0,264 ± 0,012 [0,168 - 0,335]	0,279 ± 0,012 [0,169 - 0,378]	0,276 ± 0,012 [0,193 - 0,355]	0,27 ± 0,012 [0,178 - 0,338]	0,267 ± 0,012 [0,126 - 0,343]
Metionin (p=0,071)	0,2 ± 0,004 [0,139 - 0,235]	0,21 ± 0,004 [0,154 - 0,238]	0,207 ± 0,004 [0,175 - 0,227]	0,205 ± 0,004 [0,153 - 0,24]	0,201 ± 0,004 [0,163 - 0,236]
Fenylalanin (p=0,01)	0,594 ± 0,026 [0,406 - 0,75]	0,641 ± 0,026 [0,511 - 0,779] (0,006, 0,047)	0,654 ± 0,026 [0,468 - 0,794] (<0,001, 0,018)	0,632 ± 0,026 [0,439 - 0,788] (0,021, 0,097)	0,626 ± 0,026 [0,409 - 0,796]
Prolin (p=0,002)	0,975 ± 0,039 [0,672 - 1,16]	1,06 ± 0,04 [0,791 - 1,27] (<0,001, 0,018)	1,068 ± 0,039 [0,771 - 1,24] (<0,001, 0,011)	1,029 ± 0,039 [0,695 - 1,3] (0,02, 0,094)	1,024 ± 0,04 [0,635 - 1,26] (0,036, 0,144)
Serin	0,528 ± 0,018	0,563 ± 0,018	0,571 ± 0,018	0,548 ± 0,018	0,549 ± 0,018

(p=0,015)	[0,39 - 0,645]	[0,463 - 0,677] (0,009, 0,052)	[0,439 - 0,678] (0,001, 0,021)	[0,397 - 0,665]	[0,391 - 0,669]
Treonin (p=0,018)	0,403 ± 0,012 [0,307 - 0,469]	0,424 ± 0,012 [0,354 - 0,502] (0,011, 0,061)	0,429 ± 0,012 [0,334 - 0,51] (0,001, 0,021)	0,418 ± 0,012 [0,315 - 0,492]	0,414 ± 0,012 [0,305 - 0,486]
Tryptofan (p=0,075)	0,087 ± 0,002 [0,0738 - 0,099]	0,089 ± 0,002 [0,0782 - 0,106] (0,046, 0,168)	0,088 ± 0,002 [0,076 - 0,096]	0,09 ± 0,002 [0,0773 - 0,111] (0,006, 0,047)	0,089 ± 0,002 [0,0757 - 0,0965]
Tyrosin (p=0,07)	0,463 ± 0,016 [0,364 - 0,602]	0,488 ± 0,016 [0,404 - 0,626]	0,505 ± 0,016 [0,395 - 0,624] (0,005, 0,043)	0,483 ± 0,016 [0,373 - 0,616]	0,493 ± 0,016 [0,36 - 0,6] (0,044, 0,16)
Valin (p=0,031)	0,538 ± 0,019 [0,417 - 0,654]	0,566 ± 0,019 [0,469 - 0,675] (0,016, 0,078)	0,574 ± 0,019 [0,427 - 0,677] (0,003, 0,032)	0,562 ± 0,019 [0,402 - 0,649] (0,037, 0,146)	0,555 ± 0,019 [0,372 - 0,665]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

Vitaminer

I henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør følgende vitaminer analyseres: A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin. Vitamin A er målt som β -karoten. Kombinerte analyser over lokaliteter viser ingen statistisk signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll flertallet av vitaminene. Det ble imidlertid funnet signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll (over behandlinger) med hensyn på innhold av β -karoten ($p < 0,001$). Resultater fra parede t-tester viser signifikante forskjeller mellom kontroll og henholdsvis usprøytet testlinje, og testlinje sprøytet med quiz., 2,4-D eller begge herbicidene (justerte p-verdier). Verdiene for begge parametrene ligger imidlertid innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

Tabell 9. Resultater fra variansanalyse over steder for vitaminer i maisfrø fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (mg/kg tørrvekt)	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)					
	F-test ¹	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9 usprøytet	DAS-40278-9 Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D sprøytet	DAS-40278-9 2,4-D + Quizalofop
Betakaroten (Vitamin A) (p<0,001)		2,5 ± 0,23 [0,94 – 3,21]	2,85 ± 0,23 [1,1 – 3,78] (0,001, 0,021)	2,98 ± 0,22 [1,79 – 3,94] (<0,001, 0,004)	2,94 ± 0,22 [1,33 – 4,03] (<0,001, 0,005)	2,85 ± 0,23 [1,27 – 4,11] (0,001, 0,021)
Vitamin B1 (p=0,717)		3,5 ± 0,11 [2,37 – 4,31]	3,55 ± 0,11 [2,29 – 4,52]	3,56 ± 0,11 [2,6 – 4,26]	3,4 ± 0,11 [1,06 – 4,04]	3,54 ± 0,11 [2,11 – 4,14]
Vitamin B2 (p=0,431)		2,17 ± 0,18 [1,36 – 3,82]	2,11 ± 0,18 [1,32 – 3,32]	2,14 ± 0,18 [1,35 – 4,16]	2,31 ± 0,18 [1,33 – 4,94]	2,19 ± 0,18 [1,36 – 3,27]
Vitamin B6 (p=0,941)		5,83 ± 0,19 [4,22 – 6,72]	5,73 ± 0,19 [4,39 – 8,34]	5,75 ± 0,19 [4,69 – 7,13]	5,74 ± 0,19 [4,78 – 7,71]	5,73 ± 0,19 [4,56 – 6,86]
Vitamin C (p=0,703)		18,2 ± 1,3 [ND-26,6]	18,2 ± 1,4 [ND – 28,2]	17,6 ± 1,3 [ND – 25,2]	18,7 ± 1,3 [ND – 28,3]	17,5 ± 1,3 [ND – 31,8]
Vitamin E		ND [ND-11,1]	ND [ND – 14,8]	ND [ND – 20,5]	ND [ND – 11,8]	ND [ND – 8,82]
Folinsyre (p=0,351)		0,32 ± 0,022 [0,24 – 0,43]	0,504 ± 0,02 [0,341 - 0,628]	0,518 ± 0,02 [0,406 – 0,662]	0,527 ± 0,02 [0,378 - 0,656]	0,533 ± 0,02 [0,402 - 0,647]
Niacin (p=0,097)		25,6 ± 0,8 [20,4 – 32,1]	23,7 ± 0,8 [19 - 31] (0,008, 0,052)	24,5 ± 0,8 [19,2 – 31,4]	24,2 ± 0,8 [19,2 – 31,4] (0,048, 0,17)	24,4 ± 0,8 [20,1 – 31,6]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

Mineraler

Innholdet av mineraler er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Innholdet av natrium var lavere enn påvisningsgrensen både i umodifisert og modifisert mais. Det ble videre påvist signifikante forskjeller mellom testlinjene og kontroll (over behandlinger) med hensyn på innhold av kalsium (p<0,001) (tabell 10). Resultater fra t-testene viste signifikante forskjeller mellom kontroll og den transgene linjen under alle fire sprøyteregimer (FDR-justerte p-verdier). De statistiske forskjellene som er påvist er imidlertid lavere enn 20 %, og samtlige verdier ligger innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007).

Tabell 10. Resultater fra variansanalyse over steder for mineraler i maisfrø fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (mg/100 g tørrvekt)	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)				
	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9 usprøytet	DAS-40278-9 Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D	DAS-40278-9 Quizalofop + 2,4-D
Fosfat (p=0,261)	297 ± 6 [254 - 341]	304 ± 6 [266 - 365]	300 ± 6 [270 - 336]	303 ± 6 [263 - 393]	304 ± 6 [270 - 342]
Jern (p=0,589)	2,4 ± 0,18 [1,63 - 3,33]	2,48 ± 0,18 [1,86 - 3,92]	2,54 ± 0,18 [1,7 - 4,07]	2,66 ± 0,18 [1,72 - 6,23]	2,56 ± 0,18 [1,78 - 5,46]
Kalium (p=0,786)	358 ± 11 [302 - 429]	356 ± 11 [269 - 433]	358 ± 11 [308 - 438]	361 ± 11 [298 - 440]	362 ± 11 [304 - 453]
Kalsium (p=<0,001)	4,33 ± 0,19 [3,26 - 5,63] (0,004, 0,039)	4,8 ± 0,19 [3,5 - 5,91] (0,004-0,037)	4,81 ± 0,19 [3,37 - 5,83] (<0,001, 0,005)	5,04 ± 0,19 [3,61 - 7,09] (<0,001, 0,004)	5,08 ± 0,19 [3,89 - 8,51]
Kobber (p=0,874)	0,164 ± 0,011 [0,115 - 0,291]	0,17 ± 0,011 [0,101 - 0,363]	0,164 ± 0,011 [0,122 - 0,287]	0,163 ± 0,011 [0,119 - 0,264]	0,167 ± 0,011 [0,117 - 0,279]
Magnesium (p=0,908)	132 ± 2 [105 - 145]	132 ± 2 [113 - 156]	131 ± 2 [118 - 146]	132 ± 2 [116 - 157]	132 ± 2 [113 - 146]
Mangan (p=0,807)	0,54 ± 0,027 [0,457 - 0,663]	0,548 ± 0,027 [0,37 - 0,826]	0,549 ± 0,027 [0,407 - 0,769]	0,557 ± 0,027 [0,432 - 0,8]	0,545 ± 0,027 [0,413 - 0,845]
Sink (p=0,205)	2,2 ± 0,08 [1,86 - 2,61]	2,25 ± 0,08 [1,89 - 2,97]	2,28 ± 0,08 [1,89 - 2,9] (0,028, 0,123)	2,23 ± 0,08 [1,92 - 2,77]	2,26 ± 0,08 [1,87 - 2,92]
Selen (µg/kg tørrvekt) (p=0,115)	294 ± 99 [ND - 1020]	328 ± 99 [ND - 740]	409 ± 99 [ND - 1530] (0,03, 0,127)	311 ± 99 [ND - 810]	389 ± 99 [ND - 1230]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

Sekundære metabolitter, antinæringsstoffer og oligosakkarider

Sekundære metabolitter og antinæringskomponenter er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Søker har analysert for inositol, ferulsyre, furfural, p-kumarsyre, fytinsyre, raffinose og trypsinhemmer. Innhold av furfural var lavere enn påvisningsgrensen. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom testlinje og kontroll for noen av de målte komponentene. Verdiene ligger også innenfor toleranseintervallene for de seks referansesortene som inngikk i studien og typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007).

Tabell 11. Resultater fra variansanalyse over steder for oligosakkarider, sekundære metabolitter og antinæringsstoffer i maisfrø fra umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet eller sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA 2009.

Komponenter analysert (% tørrvekt)	Gjennomsnitt ± S.E. [Variasjonsområde] (p-verdi, justert p-verdi t-test)				
	Nær-isogen kontroll	DAS-40278-9 usprøytet	DAS-40278-9 Quizalofop	DAS-40278-9 2,4-D	DAS-40278-9 Quizalofop + 2,4-D
Ferulsyre (p=0,404)	0,229 ± 0,006 [0,177 - 0,296]	0,225 ± 0,006 [0,175 - 0,267]	0,227 ± 0,006 [0,174 - 0,304]	0,222 ± 0,006 [0,178 - 0,274]	0,222 ± 0,006 [0,174 - 0,258]
Fytinsyre (p=0,485)	0,798 ± 0,027 [0,318 - 1,02]	0,815 ± 0,027 [0,512 - 1,31]	0,812 ± 0,027 [0,61 - 0,978]	0,789 ± 0,027 [0,407 - 0,97]	0,765 ± 0,027 [0,408 - 1,02]
Inositol (p=0,3)	0,226 ± 0,007 [0,169 - 0,28]	0,227 ± 0,007 [0,175 - 0,306]	0,225 ± 0,007 [0,162 - 0,282]	0,231 ± 0,007 [0,17 - 0,292]	0,239 ± 0,007 [0,182 - 0,304]
p-Kumarsyre (p=0,838)	0,024 ± 0,001 [0,019 - 0,0359]	0,025 ± 0,001 [0,0169 - 0,039]	0,025 ± 0,001 [0,0182 - 0,0386]	0,024 ± 0,001 [0,0167 - 0,0361]	0,025 ± 0,001 [0,0178 - 0,0374]
Raffinose (p=0,212)	0,102 ± 0,008 [ND - 0,144]	0,11 ± 0,008 [ND - 0,182]	0,106 ± 0,008 [ND - 0,171]	0,116 ± 0,008 [ND - 0,172]	0,108 ± 0,008 [ND - 0,177]
Trypsinhemmer (TIU/mg) (p=0,433)	6,84 ± 0,58 [3,44 - 17,8]	5,73 ± 0,59 [4,08 - 7,95]	5,83 ± 0,59 [4,09 - 14,2]	6,65 ± 0,58 [3,36 - 18]	6,48 ± 0,58 [3,79 - 18,8]

¹ Total effekt av behandling estimert vha F-test (Pr>F)

3.3 Agronomiske karakterer

I henhold til søkers dokumentasjon er det foretatt registreringer av totalt 28 ulike morfologiske og agronomiske karakterer, inkludert parametre som vitalitet hos frøplanten, plantetetthet (V1, V4, høst), plantehøyde, kolbehøyde, legde (stengel og rot), tidlighet (blomstring, pollenspredning), morfologi hos pollenkorn, antall dager til modning, samt frøavling (tabell 12). I tillegg oppgir søker at det er gjort visuelle observasjoner av sjukdoms- og insektsresistens.

Kombinerte analyser over lokaliteter viste ingen signifikante effekter for noen av de registrerte parametrene (tabell 12). Når det gjelder rotlegde ble det i de parede t-testene funnet signifikante forskjeller mellom usprøytet DAS-40278-9 og kontroll (p=0,037). Den FDR-justerte p-verdien (se kap. 3.1) viser imidlertid ingen signifikante forskjeller mellom linjene (tabell 12). Tilsvarende ble det funnet signifikante forskjeller mellom kontroll og 2,4-D-behandlet testlinje mhp plantetetthet tidlig i vekstsesongen (V1, V4), pollenfarge og tilstand til plantebestandet etter 2. og 3. sprøyting. De justerte p-verdiene for disse parametrene indikerte imidlertid ingen reelle forskjeller. Resultater fra parede t-tester viste tilsvarende forskjeller mellom kontroll og den transgene linjen behandlet med 2,4-D og Quizalofop med hensyn på avling, pollenfarge og tilstand til plantebestandet etter 3. og 5. sprøyting. Som for de øvrige parametrene ble det ikke påvist signifikante forskjeller etter justering av p-verdien.

Tabell 12. Resultater fra variansanalyse over steder for fenotypiske og agronomiske karakterer for umodifisert kontroll og testlinjen DAS-40278-9 (ubehandlet og sprøytet med henholdsvis Quizalofop, 2,4-D eller Quizalofop + 2,4-D). Fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2009.

Agronomic Component (Units) ^a	Overall Trt Effect (Pr > F) ^b	Isoline Mean ± S.E. [Min - Max]	AAD-1 unsprayed Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	AAD-1 + Quiz. Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	AAD-1 + 2,4D Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	AAD-1 + Both Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	Reference [Min - Max]
Early population V1 (no. of plants)	0.164	51.6 ± 2.0 [31 - 58]	49.6 ± 2.0 [36 - 57] (0.073, 0.460)	50 ± 2.0 [39 - 61] (0.136, 0.460)	48.9 ± 2.0 [27 - 57] (0.016, 0.305)	50.1 ± 2.0 [33 - 58] (0.172, 0.506)	[27 - 60]
Early population V4 (no. of plants)	0.095	52.4 ± 1.9 [28 - 59]	50.8 ± 1.9 [36 - 58] (0.124, 0.460)	51.2 ± 1.9 [39 - 59] (0.245, 0.542)	49.5 ± 1.9 [27 - 56] (0.007, 0.305)	51.2 ± 1.9 [32 - 59] (0.245, 0.542)	[27 - 60]
Seedling Vigor (visual estimate) ^d	0.404	9.78 ± 0.22 [8 - 10]	9.62 ± 0.22 [7 - 10] (0.145, 0.460)	9.72 ± 0.22 [7 - 10] (0.555, 0.736)	9.59 ± 0.22 [8 - 10] (0.084, 0.460)	9.66 ± 0.22 [8 - 10] (0.242, 0.542)	[7 - 10]
Final population (no. of plants)	0.363	48.1 ± 1.6 [28 - 57]	47 ± 1.6 [32 - 56] (0.281, 0.582)	46.4 ± 1.6 [39 - 54] (0.099, 0.460)	46.2 ± 1.6 [27 - 54] (0.064, 0.455)	47.1 ± 1.6 [32 - 56] (0.329, 0.635)	[27 - 60]
Crop Injury – 1st app (visual estimate) ^d	0.424	10 ± 0.19 [10 - 10]	9.78 ± 0.19 [8 - 10] (0.141, 0.460)	9.88 ± 0.19 [9 - 10] (0.395, 0.663)	9.75 ± 0.19 [8 - 10] (0.095, 0.460)	9.78 ± 0.19 [8 - 10] (0.141, 0.460)	[9 - 10]
Crop Injury – 2nd app. (visual estimate) ^d	0.179	10 ± 0.12 [10 - 10]	9.8 ± 0.12 [8 - 10] (0.075, 0.460)	9.88 ± 0.12 [9 - 10] (0.260, 0.554)	9.75 ± 0.12 [9 - 10] (0.029, 0.409)	9.78 ± 0.12 [8 - 10] (0.054, 0.455)	[8 - 10]
Crop Injury – 3rd app. (visual estimate) ^d	0.090	10 ± 0.12 [10 - 10]	9.86 ± 0.12 [9 - 10] (0.204, 0.542)	9.88 ± 0.12 [9 - 10] (0.247, 0.542)	9.75 ± 0.12 [9 - 10] (0.025, 0.402)	9.72 ± 0.12 [8 - 10] (0.013, 0.305)	[8 - 10]
Crop Injury – 4th app. (visual estimate) ^d	0.387	9.84 ± 0.15 [8 - 10]	9.89 ± 0.15 [9 - 10] (0.764, 0.845)	9.72 ± 0.15 [9 - 10] (0.368, 0.654)	9.66 ± 0.15 [8 - 10] (0.181, 0.519)	9.69 ± 0.15 [8 - 10] (0.262, 0.554)	[8 - 10]
Crop Injury – 5th app. (visual estimate) ^d	0.092	9.88 ± 0.31 [9 - 10]	9.39 ± 0.32 [9 - 10] (0.133, 0.460)	9.5 ± 0.31 [9 - 10] (0.204, 0.542)	9.25 ± 0.31 [8 - 10] (0.065, 0.455)	8.88 ± 0.31 [8 - 10] (0.016, 0.305)	[8 - 10]
Time to Silking (heat units) ^e	0.684	1262 ± 19 [1204 - 1373]	1270 ± 19 [1204 - 1424] (0.165, 0.500)	1264 ± 19 [1182 - 1392] (0.685, 0.824)	1267 ± 19 [1204 - 1440] (0.366, 0.654)	1265 ± 19 [1204 - 1424] (0.509, 0.704)	[1204 - 1440]
Time to Pollen Shed (heat units) ^e	0.902	1321 ± 19 [1267 - 1424]	1326 ± 19 [1267 - 1460] (0.351, 0.647)	1323 ± 19 [1255 - 1440] (0.657, 0.800)	1324 ± 19 [1255 - 1460] (0.586, 0.745)	1322 ± 19 [1267 - 1460] (0.834, 0.890)	[1255 - 1482]
Pollen Shape – 0 minutes (%) ^f	0.526	10.6 ± 4.2 [0 - 40]	11.6 ± 4.2 [0 - 50] (0.740, 0.841)	8.56 ± 4.2 [0 - 20] (0.501, 0.704)	13.9 ± 4.2 [0 - 70] (0.288, 0.586)	11.6 ± 4.2 [0 - 40] (0.744, 0.841)	[0 - 80]
Pollen Shape – 30 minutes (%) ^f	0.795	43.8 ± 6.7 [5 - 80]	44.4 ± 6.7 [5 - 80] (0.876, 0.909)	46.3 ± 6.7 [15 - 75] (0.543, 0.733)	47.6 ± 6.7 [8 - 90] (0.352, 0.647)	47.9 ± 6.7 [10 - 80] (0.319, 0.626)	[7 - 90]
Pollen Shape – 60 minutes (%) ^f	0.124	74.5 ± 5.1 [40 - 100]	77.3 ± 5.1 [60 - 100] (0.148, 0.460)	77.3 ± 5.1 [50 - 100] (0.135, 0.460)	78.1 ± 5.1 [60 - 100] (0.060, 0.455)	79.5 ± 5.1 [50 - 100] (0.011, 0.305)	[40 - 100]
Pollen Shape – 120 minutes (%) ^f	0.092	98 ± 1.0 [90 - 100]	98.3 ± 1.0 [90 - 100] (0.541, 0.733)	97.3 ± 1.0 [90 - 100] (0.121, 0.460)	98.1 ± 1.0 [90 - 100] (0.763, 0.845)	98.5 ± 1.0 [90 - 100] (0.233, 0.542)	[90 - 100]
Pollen Color – 0 minutes (%) ^g	0.467	7.41 ± 3.89 [0 - 30]	8.42 ± 3.89 [0 - 40] (0.720, 0.841)	6.94 ± 3.89 [0 - 30] (0.867, 0.908)	11.7 ± 3.89 [0 - 60] (0.138, 0.460)	7.72 ± 3.89 [0 - 30] (0.911, 0.936)	[0 - 80]

Tabell 12 forts.

Agronomic Component (Units) ^a	Overall Trt Effect (Pr > F) ^b	Isoline Mean ± S.E. [Min - Max]	AAD-1 unsprayed Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	AAD-1 + Quiz. Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	AAD-1 + 2,4D Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	AAD-1 + Both Mean ± S.E. [Min - Max] (P-value, Adj.P) ^c	Reference [Min - Max]
Pollen Color – 30 minutes (%) ^e	0.121	33 ± 8.6 [0 - 70]	34.1 ± 8.6 [0 - 70] (0.735, 0.841)	37.9 ± 8.6 [0 - 75] (0.143, 0.460)	40.2 ± 8.6 [0 - 90] (0.036, 0.416)	39.7 ± 8.6 [0 - 80] (0.049, 0.455)	[0 - 90]
Pollen Color – 60 minutes (%) ^e	0.330	67.2 ± 8.1 [20 - 95]	67.6 ± 8.1 [20 - 95] (0.812, 0.875)	66.6 ± 8.1 [20 - 95] (0.705, 0.840)	68.4 ± 8.1 [20 - 100] (0.451, 0.702)	69.8 ± 8.1 [20 - 100] (0.116, 0.460)	[20 - 100]
Pollen Color – 120 minutes (%) ^e	0.243	92.9 ± 4.4 [60 - 100]	93.4 ± 4.4 [60 - 100] (0.440, 0.695)	92.4 ± 4.4 [60 - 100] (0.509, 0.704)	93.3 ± 4.4 [60 - 100] (0.509, 0.704)	92 ± 4.4 [60 - 100] (0.238, 0.542)	[60 - 100]
Stalk Lodging (%)	0.668	0.375 ± 0.28 [0 - 5]	0.224 ± 0.28 [0 - 5] (0.649, 0.790)	0.281 ± 0.28 [0 - 5] (0.777, 0.845)	0.688 ± 0.28 [0 - 5] (0.348, 0.647)	0.375 ± 0.28 [0 - 5] (1.0, 1.0)	[0 - 10]
Root Lodging (%)	0.270	0.188 ± 0.43 [0 - 5]	1.05 ± 0.43 [0 - 10] (0.037, 0.416)	0.656 ± 0.43 [0 - 10] (0.240, 0.542)	0.375 ± 0.43 [0 - 5] (0.635, 0.790)	0.5 ± 0.43 [0 - 5] (0.430, 0.688)	[0 - 40]
Stay Green (visual estimate) ^h	0.795	4.25 ± 0.63 [1 - 7]	4.16 ± 0.63 [1 - 7] (0.625, 0.799)	4.38 ± 0.63 [1 - 7] (0.507, 0.704)	4.28 ± 0.63 [1 - 7] (0.868, 0.908)	4.19 ± 0.63 [1 - 7] (0.739, 0.841)	[2 - 8]
Disease Incidence (visual estimate) ⁱ	0.677	6.44 ± 0.42 [4 - 8]	6.57 ± 0.42 [4 - 8] (0.467, 0.704)	6.66 ± 0.42 [4 - 9] (0.238, 0.542)	6.59 ± 0.42 [4 - 8] (0.396, 0.663)	6.44 ± 0.42 [4 - 8] (1.0, 1.0)	[4 - 9]
Insect Damage (visual estimate) ^j	0.690	6.63 ± 0.67 [1 - 8]	6.66 ± 0.67 [1 - 8] (0.772, 0.845)	6.78 ± 0.67 [2 - 9] (0.243, 0.542)	6.78 ± 0.67 [3 - 8] (0.243, 0.542)	6.72 ± 0.67 [1 - 8] (0.480, 0.704)	[1 - 8]
Days to Maturity (heat units) ^e	0.806	2273 ± 33 [2143 - 2414]	2275 ± 33 [2143 - 2414] (0.403, 0.663)	2273 ± 33 [2143 - 2414] (0.957, 0.975)	2275 ± 33 [2143 - 2414] (0.495, 0.704)	2275 ± 33 [2143 - 2414] (0.425, 0.688)	[2143 - 2414]
Plant height (cm)	0.525	280 ± 17 [165 - 380]	279 ± 17 [180 - 380] (0.498, 0.704)	279 ± 17 [173 - 380] (0.568, 0.736)	279 ± 17 [178 - 380] (0.385, 0.663)	277 ± 17 [175 - 385] (0.089, 0.460)	[140 - 380]
Ear height (cm)	0.486	113 ± 9.6 [17 - 175]	115 ± 9.6 [60 - 185] (0.377, 0.660)	115 ± 9.6 [67 - 175] (0.316, 0.626)	115 ± 9.6 [59 - 190] (0.572, 0.736)	112 ± 9.6 [62 - 185] (0.571, 0.736)	[51 - 185]
Yield (grams)	0.130	927 ± 34 [681 - 1288]	866 ± 34 [495 - 1117] (0.104, 0.460)	854 ± 34 [626 - 1100] (0.052, 0.455)	863 ± 34 [587 - 1086] (0.084, 0.460)	832 ± 34 [581 - 1000] (0.013, 0.305)	[577 - 1300]

P-values in bold were considered significant (p<0.05).

^a Unit of measure was not converted prior to analysis.

^b Overall treatment effect estimated using an F-test.

^c Comparison of the transgenic treatments to the control using t-tests (P-value); P-values adjusted (Adj. P) using a False Discovery Rate (FDR) procedure.

^d Visual estimate on 1-10 scale; 10 = growth equivalent to non-transformed control.

^e The number of heat units that have accumulated from the time of planting.

^f 0-100% scale; with % pollen grains with collapsed walls.

^g 0-100% scale; with % pollen grains with intense yellow color.

^h Visual estimate on 1-9 scale with 1 no visible green tissue.

ⁱ Visual estimate on 1-9 scale with 1 being poor disease resistance.

^j Visual estimate on 1-9 scale with 1 being poor insect resistance.

3.4 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Analysen av ernæringsmessige komponenter er i hovedsak utført i tråd med OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002).

Det er påvist signifikante forskjeller mellom maisen DAS-40278-9 og kontroll i enkeltparametere. Verdiene for de analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, samt innenfor toleranseintervallene for de umodifiserte referansesortene som er inkludert i søkers dokumentasjon.

Feltforsøk over en vekstsesong i USA viser ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maislinjen DAS-40278-9 (usprøytet og sprøytet med ulike kombinasjoner av tiltenkte herbicider) og umodifisert kontroll med hensyn på morfologiske og agronomiske karakterer.

4 Dokumentasjon av toksisitet og allergenitet

4.1 Toksisitet

4.1.1 Akutt oral fôringsstudie på mus

Dow AgroSciences har utført en akutt-toksisk studie på mus (studie 071128) med oral eksponering med sonde av AAD-1-protein produsert av bakterien *Pseudomonas fluorescens*. Forsøket er utført i henhold til god laboratoriepraksis (GLP) (EU-direktiv 88/320/EC) og akutt oral toksisitetsretningslinjene fra U.S. EPA og OECD (U.S. EPA Health Effects Test Guidelines. OPPTS 870.1100, EPA712-C-190, Acute Oral Toxicity (2002), OECD Guideline for Testing of Chemicals; Guideline No. 423: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method; December 17, 2001), JMAFF Japan MAFF Acute Oral Toxicity Study 2002; EC EEC Methods Number B.1 tris Acute oral Toxicity, 2004. Fem hunn- og hannmus fra stamme Crl:CD-1 ble eksponert for 2000 mg AAD-1-protein/kg kroppsvekt (kv).

Samtlige forsøksdyr ble observert for kliniske tegn på forgiftning over en periode på 15 dager. Observasjonene ble foretatt en gang daglig. Dyrene ble veid før eksponering, ved eksponering samt ved dag 2, 8 og 15.

Følgende parametre ble vurdert: "Unormal oppførsel ved håndtering", pels, skinn, holdning (posture), spyttavsondring, respirasjon, unormale bevegelser, unormalt ganglag ("gait abnormalities"), tåreflyt, palpebal mass/swellings, avføring, urin, samt pupillestørrelse. Ved avslutning av forsøket ble alle dyrene avlivet, og det ble utført grov nekropsi. Det ble ikke påvist økt mortalitet eller toksiske effekter på dyrene som ble eksponert for AAD-1. Det er imidlertid ikke regnet statistikk på kroppsvekt hos hann- og hunnmus. I henhold til dokumentasjonen ble det påvist forskjeller i kroppsvekt hos enkelte hann- og hunnmus.

4.1.2 29-dagers fôringsforsøk på mus

Det er foretatt et 29-dagers fôringsforsøk på mus med fôr som inneholdt bakteriefremstilt AAD-1-protein, produsert av bakterien *Pseudomonas fluorescens* og bovin serumalbumin (BSA). Forsøket er utført i henhold til god laboratoriepraksis (GLP) (EU-direktiv 2004/10/EC), OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring, Number 1, ENV/MC/CHEM(98)17, US EPA-FIFRA GLPs Title 40 CFR, Part 160, JMAFF GLP standards Notification No. 8628 december 2000). Oral toksisitetstrenings-linjene for 28 dagers fôringsforsøk på mus fra U.S. EPA OPPTS 870.3050, EPA 712-C-00-366 (2000); OECD Guideline for Testing of Chemicals; Guideline No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity-Study in Rodents; October 03, 2008); EC EEC Part B.7 Repeated Dose(28 days) Toxicity (Oral) Directive 96/54/EC, 1996.

Fem hunn- og hannmus fra stamme Crl:CD-1 ble eksponert for bakteriefremstilt AAD-1-protein i fôret. Gjennomsnittlig mengde AAD-1 protein tilsatt fôret tilsvarer en gjennomsnittlig dose hos mus på henholdsvis 0; 0,452; 4,523 og 45,23 mg/kg kroppsvekt(kv)/dag. Den tidsvektete gjennomsnittlige dosen for hannmus var 0; 0,461; 4,65 og 45,3 mg/kg kv/dag. Tilsvarende dose for hunnmus var 0; 0,48; 4,84 og 45,4 mg/kg kv/dag. Kontrollgruppene (fem hunn- og hannmus i hver gruppe), ble fôret med fôr som inneholdt BSA. Gjennomsnittlig mengde BSA i fôret tilsvarer en gjennomsnittlig dose på 45,23 mg BSA/kg kv/dag, og tidsvektete dose på henholdsvis 47,1 – og 48,0 mg/kg kv/dag for hann- og hunnmus.

Høyest gjennomsnittlig daglig inntak av mais hos mennesker er beregnet til 4,97 g mais/kg kv/dag (GEMS/Food Consumption cluster H, 2008). Gjennomsnittlig konsentrasjon av AAD-1 protein i maiskorn fra DAS-40278-9 oppgis til 9,1 µg /g tørrvekt. Den største AAD-1 dosen (45 mg/kg kv/dag) som mus ble fôret med tilsvarer derfor ca. 1000 ganger inntaket av AAD-1 protein for mennesker ved et inntak på 4,97 g DAS-40278-9/kg kv/dag.

Søker har foretatt undersøkelser av relevante organer, hematologiske parametere, fôrkonsum, klinisk-kjemiske parametere samt grov - og mikroskopisk patologiundersøkelser. Det ble ikke påvist dose-respons forhold for disse parametrene.

Ut fra dosene som ble benyttet i fôringsforsøkene har Dow AgroSciences beregnet NOEL for AAD-1 til 45,23 mg/kg kroppsvekt/dag basert på 29-dagers fôringsforsøk på mus.

Kommentarer fra arbeidsgruppe mat & fôr:

Faggruppen påpeker at ut fra OECDs retningslinje nr. 407 bør den høyeste dose velges slik at musene får en toksisk effekt, men uten at denne dosen påfører dyrene lidelse eller død. Dersom det ikke er forventet noen effekt av stoffet, bør en dose på 1000 mg/kg kv/dag velges. Arbeidsgruppen mener at den høyeste dosen på 45 mg/kg kv/dag er utilstrekkelig for å vise effekter på dyrene. NOEL burde vurderes ut fra en større dose enn 45 mg/kg kv/dag. Arbeidsgruppen påpeker at i en 90-dagersstudie blir forsøksdyrene eksponert over et så langt tidsrom at eventuelle uheldige helseeffekter ville blitt oppdaget. Gruppen mener derfor at søker burde foretatt en 90 dagers subkronisk toksisitetstudie.

4.1.2 42-dagers fôringsforsøk på broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringsforsøk (GML Study No. 208-007-21) med hann- og hunnbroilere (Ross/Ross 708) (n = 120/gruppe, 50 % hann- and 50 % hunnfugler). Fôringsforsøket ble utført av Genesis Midwest Laboratories (GML)(WI). Studien ble utført i henhold til prinsippene for U.S. EPA FIFRA (40 CFR part 160) Good Laboratory Practice Standards.

Forsøket omfattet 600 dyr, fordelt på fem behandlingsgrupper à 120 dyr. Forsøksdyrene ble fôret med fôr som inneholdt henholdsvis 50 % mais som startfôr (dag 0 t.o.m dag 15), 55 % mais som vekstfôr (dag 16 t.o.m 29) og 60 % mais som sluttfôr (dag 30 t.o.m dag 42). Maisene i fôret bestod av

henholdsvis DAS-40278-9, en umodifisert kontrollsort (nær-isogen maislinje 2M746) og tre kommersielle, umodifiserte referansesorter. Fôret ble undersøkt for en rekke ernæringsmessige komponenter, mykotoksiner, og antinæringsstoffer. Det ble foretatt målinger av nivået av AAD-1-protein. Ved starten av fôringsforsøket ble mengde AAD-1 protein målt til 2,12 µg/g i startfôret, 2,77 µg/g i vekstfasefôret og 2,70 µg/g i sluttfasefôret. Ved slutten av fôringsforsøket ble mengde AAD-1 protein målt til 0,52 µg/g i startfôret; 1,11 µg/g i vekstfasefôret og 0,71 µg/g sluttfasefôret. Det ble ikke påvist AAD-1 protein i kontrollfôr og fôr fra referansesortene.

Følgende parametere ble undersøkt: mortalitet, vektøkning, fôrutnyttelse, vekt av skrott, bryst, lår, vinger, og abdominalt fett, samt vann-, protein- og fettinnhold i bryst og lår (% av kroppsvekt til levende broilere). Ved slutten av hver fôringsfase ble dyrene veid, fôrinntaket målt, og forholdet mellom fôrinntak og vektøkning beregnet. Det ble tatt ut 240 dyr, 24 hann og 24 hunn fra hver gruppe til nekropsi-undersøkelser. I henhold til søkers dokumentasjon ble de statistiske analysene utført som et split-plot design med 12 gjentak (6 rep for hann- og 6 rep for hunndyr) som hovedplot. Fôringsregimene og samspill gjentak x behandling ble betraktet som sub-plot (med henholdsvis 4 & 44 df).

Søker hevder at det ikke ble påvist relevante biologiske endringer i de målte parametrene ved fôring med DAS-40278-9-mais, sammenlignet med kontroll og referansesorter. Det ble påvist effekt av fôr/kjønn ($p \leq 0,001$). Det ble videre påvist samspill mellom kjønn og fôr for enkelte av de målte parametrene. Eksempelvis vokste hanner raskere enn hunner, og sluttvekten hos hannene var gjennomsnittlig ca. 10 % høyere enn hos hunnene. Økningen var uavhengig av testfôret, men avhengig av fôrinntaket.

4.2 Allergisitet

Undersøkelser av allergent potensiale av AAD-1-protein er utført i henhold til anbefalinger fra Codex (2009). Søker har undersøkt mulige allergener fra donor-organismen, homologi for AAD-1 protein til kjente allergene proteiner og *in vitro*-nedbrytning i simulert mage- og tarmsafer. Sammenligning av et proteins aminosyresekvens med aminosyresekvensen til et kjent allergent protein er en nyttig indikator på allergent potensiale. Aminosyresekvensen til de fleste viktige allergener, deriblant matallergener, er kjent. De viktige IgE-bindingsepitopene, dvs. aminosyresekvenser på 8-12 aminosyrer (noen ganger færre) der IgE binder seg, er kartlagt for mange allergener. Eksakt konservering av epitopesekvenser er påvist mellom homologe allergener i forskjellige arter. Når det gjelder proteinet AAD-1 ble det ikke funnet signifikant sekvenshomologi på 8 eller større aminosyresekvenser med allergene proteiner.

Allergene proteiner i mat er ofte varme- og syrestabile. Matallergenene er oftest, men ikke alltid, stabile overfor mage- og tarmsafer. Allergene matproteiner er ofte proteiner som forekommer i størst mengde i matvarer. Typiske mengder er fra 1-80 % av proteininnholdet. Konsentrasjonen av protein i korn er ca. 11,7 % av tørrvekt, mens AAD-1-mengden er målt fra 1,6 til 8,2 mg/kg tørrvekt. AAD-1-proteinet utgjør således en svært liten del av det totale proteininnholdet i maiskorn, tilsvarende $\approx 0,07$ ‰ av totalt proteininnhold. Tester som er dokumentert i andre søknader viser at AAD-1 proteinet i simulert mage- og tarmsaft brytes ned i løpet av ca. 30 sekunder. Det antas derfor at proteinet også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal.

Basert på de testene som er omtalt, dvs. at AAD-1 proteinet ikke har noen aminosyresekvenser som har likhet med allergene proteiners epitoper, at proteinet brytes raskt ned av mage-tarmsafer, at andel av totalt proteininnhold er ca 0,07 ‰, anser faggruppen det som lite trolig at proteinet har større potensiale for å gi utvikling av matallergi hos mennesker enn det som umodifisert mais har.

4.3 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

AAD-1 proteinet som uttrykkes som følge av genmodifiseringen, har ingen likheter med kjente toksiner og allergener, eller egenskaper som tilsier at det vil virke som et allergen eller toksin. Innholdet av proteinet er ca 0,07 % av proteininnholdet i korn, og utgjør således en svært liten del av det totale proteininnholdet. Faggruppen finner det lite sannsynlig at eksponering av AAD-1-protein i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig. Akutt fôringsstudier (oral sondefôring) på mus med bakterieframstilt AAD-1-proteiner viste ingen negative helseeffekter. Videre konkluderer ernæringsstudier med broilere at maislinjen DAS-40278-9 er ernæringsmessig lik umodifisert mais.

Faggruppen konkluderer med at utfra tilgjengelige data er AAD-1 proteinet i maisen sannsynligvis ikke mer allergent eller toksisk enn det respektive villtype-protein.

5 Miljørisikovurdering

Dow AgroSciences søknad om godkjenning av maislinjen DAS-40278-9 under EU forordning 1829/2003/EF omfatter bruksområdene fôrvarer, næringsmidler, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og ulike industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning.

5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

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

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 milde vintre i sørlige områder av Europa kan maisfrø overleve og spire påfølgende vekstsesong, men arten er ikke persistent og etablerer ikke ugraspopulasjoner (Hallauer 2000).

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

Herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten på arealer der det benyttes herbicider med virkestoff 2,4-D. Overlevelse og spredning av mais til andre habitater i Europa er imidlertid hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sykdom og liten toleranse for lave temperaturer. Undersøkelsene av fenotypiske karakterer som er foretatt av søker viser ingen forskjeller mellom den insektresistente maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene. Det er ingen indikasjoner på at de introduserte egenskapene hos DAS-40278-9 vil medføre økt fitness, og økt evne til overvintring eller etablering av ugraspopulasjoner utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

5.2. Potensiale for genoverføring

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

Europa, og vertikal genoverføring vil være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

5.2.1 Horisontal genoverføring

Data fra tilgjengelige eksperimentelle studier viser at genoverføring fra transgene planter til bakterier etter all sannsynlighet inntreffer svært sjelden under naturlige forhold, og at denne overføringen forutsetter sekvenshomologi mellom overført DNA og bakterien (EFSA 2004, 2009; VKM 2005).

Ut fra dagens vitenskapelige innsikt med hensyn til barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer er det lite som tyder på at transgenene i DAS-40278-9 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.

Disse mengdene må imidlertid multipliseres med skalaen for dyrking, som er svært omfattende. I studiene til De Vries & Wackernagel var forutsetningen for overføring sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien. De innsatte genene i planten har sin opprinnelse fra jordbakterier og sekvenshomologi vil derfor være stor i forhold til disse. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og andre 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 de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor lite sannsynlig at gener fra DAS-40278-9 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr, men ut fra tilgjengelig kunnskap og begrensninger i metodikk (Nielsen & Townsend 2004) kan det likevel ikke helt utelukkes at horisontal genoverføring vil skje.

5.2.2 Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom maislinjen DAS-40278-9 og konvensjonelt foredlete maissorter vil avhenge av omfanget av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, håndtering og prosessering. Det er imidlertid lite sannsynlig at sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt. Dyrkingsomfanget av mais i Norge er dessuten svært begrenset. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig.

Herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel på arealer der målorganismene er til stede under dyrking. Denne egenskapen vil imidlertid ikke representere økt sannsynlighet for spredning av mais i Europa. Overlevelse hos mais er i hovedsak begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for soppsjukdommer og liten frosttoleranse. Som for konvensjonelle sorter er det ingenting som tilsier at eventuelle spillplanter vil overleve til neste vekstsesong eller etablere uønskede populasjoner i Norge.

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

5.2 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen DAS-40278-9 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Norge er i utkanten av dyrkingsområdet for mais, dyrkingsomfanget er svært begrenset og det er ingen stedege eller introduserte viltvoksende arter som mais kan hybridisere med.

6 Vurdering av søkers dokumentasjon

Faggruppen finner at søkers informasjon i stor grad følger OECDs retningslinjer, og er tilstrekkelig til at det er mulig å foreta en vurdering av den foreliggende GMO.

7 Innspill til EFSA GMO Extranet søknad EFSA/GMO/NL/2010/89

Det ble ikke gitt noen innspill fra VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer i forbindelse med EFSA's offentlige høring av søknad EFSA/GMO/NL/2010/89.

Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Molekylær karakterisering

Faggruppen har ikke identifisert noe risiko knyttet til den molekylærbiologiske karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i DAS-40278-9. Faggruppen finner informasjonen tilstrekkelig for en vurdering av maislinjen

Komparative analyser

Analysen av ernæringsmessige komponenter er i hovedsak utført i tråd med OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det er påvist signifikante forskjeller mellom maisen DAS-40278-9 og kontroll i enkeltparametere. Verdiene for de analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, samt innenfor toleranseintervallene for de umodifiserte referansesortene som er inkludert i søkers dokumentasjon.

Feltforsøk over en vekstsesong i USA viser ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maislinjen DAS-40278-9 (usprøytet og sprøytet med ulike kombinasjoner av tiltenkte herbicider) og umodifisert kontroll med hensyn på morfologiske og agronomiske karakterer.

Toksisitet og allergenitet

AAD-1-protein som uttrykkes som følge av genmodifiseringen, har ingen likheter med kjente toksiner og allergener, eller egenskaper som tilsier at det vil virke som et allergen eller toksin. Innholdet av disse protein i korn er ca 0,01 % av totalt protein, og utgjør således en svært liten del av det totale proteininnholdet.

Akutte føringsstudier (oral sondeføring) på mus med bakterieframstilt AAD-1-protein, viste ingen negative helseeffekter. Videre viser ernæringsstudier med broilere at maislinjen DAS-40278-9 er ernæringsmessig lik umodifisert mais.

Basert på en enkelt broilerstudie finner faggruppen og *ad hoc*-gruppen det lite sannsynlig at eksponering av AAD-1-protein i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig.

Faggruppen påpeker imidlertid at søker burde ha utført en sub-kronisk 90-dagers toksisitetsstudie på rotter. Faggruppen ser det som en mangel i søkers dokumentasjon at en slik toksisitetsstudie ikke er utført.

Landbruksrelatert miljørisiko

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen DAS-40278-9 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Norge er i utkanten av dyrkingsområdet for mais, dyrkingsomfanget er svært begrenset og det er ingen stedege eller introduserte viltvoksende arter som mais kan hybridisere med.

Referanser

- Bensasson, D., Boore, J.L. & Nielsen, K.M. (2004). Genes without frontiers. *Heredity*, **92**, 483-489.
- Berin, M.C. & Schreffler, W.G. (2008). T_H2 adjuvants: Implications for food allergy. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, **121**, 1311-1320.
- CERA (2010). The Center for Environmental Risk Assessment (CERA).
http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database
- Codex (2009). Codex Alimentarius Commission. Foods derived from modern biotechnology, second edition. Annex 1. Rome 2009. ISBN 978-92-5-105914-2.
- de Jonge, J. D., Knippels, L.M.J., Ezendam, J., Odink, J. Penninks, A. H. & van Loveren, H.(2007). The importance of dietary control in the development of a peanut allergy model in Brown Norway rats. *Methods*, **41**, 99-111.
- de Luis, R., Lavilla, M., Sanchez, L., Calvo, M. & Perez, M. D. (2009). Immunochemical detection of Cry1A(b) protein in model processed foos made with transgenic maize. *European Food Research Technology* DOI 10.1007/s00217-009-1021-4.
- de Vries, J. & Wackernagel, W. (2002). Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **99**, 2094-2099.
- EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal*, **48**, 1-18. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html
- EFSA (2006). *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
- EFSA (2007). Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events. *The EFSA Journal*, **512**, 1-5. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178623591786.htm
- EFSA (2009). Use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) and the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *The EFSA Journal*, **1034**, 1-82. http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo_biohaz_st_ej1108_Consolidated_ARG_en.pdf?ssbinary=true
- EFSA (2010) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. Scientific opinion from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). *EFSA Journal* **8** (11):1-111. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1879.pdf>
- FAO/WHO (2000). Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

- FAO/WHO (2001). *Evaluation of allergenicity of genetically modified foods*. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on foods derived from biotechnology. 22-25 January 2001. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations (<http://www.fao.org/es/esn/gm/allergygm.pdf>)
- Filipecki, M. & Malepszy, S. (2006). Unintended consequences of plant transformation: a molecular insight. *Journal of Applied Genetics*, **47**: 277-286.
- GEMS/Food Consumption Cluster H (2008) http://www.who.int/foodsafety/chem/en/acute_hazard_db1.pdf
- Garcia-Martinez J., Martinez-Izquierdo JA (2003) Study on the Evolution of the Grande Retrotransposon in the Zea Genus. *Mol Biol Evol* **20**(5):831–841
- Hallauer, A.R. (2000). Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- ILSI (2007). International Life sciences Institute Crop Composition Database Version 3.0. URL: <http://www.cropcomposition.org>
- Lid, J. & Lid, D.T. (2005). Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. ISBN: 82-521-6029-8. 1230s.
- 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(pFG4delta*aptII*) 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.
- Nielsen, K.M. & Townsend, J. P. (2004). Monitoring and modeling horizontal gene transfer. *Nature Biotechnology*, **22**(9):1110-1114
- OECD (1998). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. **No. 1. ENV/MC/CHEM (98)17**. [http://www.olis.oecd.org/olis/1998doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/\\$FILE/01E88455.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/1998doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/$FILE/01E88455.PDF)
- OECD (2002). Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites: *Series on Safety of Novel Foods and Feeds(ENV/JM/MONO(2002)25)*, **No. 6**, 1-42.
- 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.
- Peng, D., Chen, S., Ruan, L., Li, L., Ziniu Yu, Z. & Sun, M. (2007) Safety assessment of transgenic *Bacillus thuringiensis* with VIP insecticidal protein gene by feeding studies. *Food Chem. Toxicol.* **45**: 1179-1185.

- Petolino JF., Arnold NL. (2009) Whiskers-Mediated Maize Transformation. *Methods in Molecular Biology: Transgenic Maize*, vol. **526**. Humana Press, a part of Springer Science + Business Media, USA 2009.
DOI: 10.1007/978-1-59745-494-0_5
- Plantevernguiden (2011) <http://www.plantevernguiden.no/>
- 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.
- TemaNord (1998). Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence. *TemaNord* :**591**. ISBN 92-893-0263-1.
- US EPA 40 CFR PART 160. USA Environmental Protection Agency Good Laboratory Practices - 40 CFR Part 160
<http://www.epa.gov/compliance/monitoring/programs/fifra/glp.html>
- van Wijk, F. & Knippels, L. (2007). Initiating mechanisms of food allergy: oral tolerance versus allergic sensitization. *Biomed. Pharmacother.*, **61**, 8–20.
- 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.