



UTTALELSE OM MONSANTOS GENMODIFISERTE BOMULL MON15985 OG MON15985xMON1445 (EFSA/GMO/UK/2005/10)

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO: 16. 12.05

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insekttolerante bomullslinjene MON15985 og MON15985xMON1445 fra Monsanto er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Mattilsynet ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte bomullslinjen MON15985xMON1445 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden MON15985 er fremkommet ved genmodifisering av MON531, og hybriden MON15985xMON1445 er fremkommet ved krysning mellom MON1445 og MON15985. Hensikten med MON15985 og MON15985xMON1445 er motstandsdyktighet mot enkelte insektarter og sprøytemiddelet Roundup.

Vurdering av den genmodifiserte bomullen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA.net. MON15985 og MON15985xMON1445 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 99, 2004) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for bomull (OECD 2004). Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor og det transgene konstruktet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner.

Det er hovedsakelig oljen fra bomullsfrø som brukes som menneskeføde, mens avfallet fra oljeproduksjonen brukes som fôr. Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter i frø ble vurdert. Det ble bemerket at noen av de komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2004) anbefaler analysert for bomull ikke er utført. Det er funnet statistiske forskjeller for enkelte komponenter. De statistiske forskjellene for disse komponentene er ikke konsistente da forskjellene som er påvist i enkelte forsøksfelt, ikke er påvist i de andre forsøksfeltene. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av hybridene MON15985 og MON15985xMON1445 til bruk som mat og fôr.

Informasjon vedrørende allergenisitet viser at for de parametre som er målt, har ikke de uttrykte proteinene likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener.

Faggruppen konkluderer med at bomullsolje fra MON15985 og MON15985xMON1445 er vesentlig lik olje fra umodifiserte bomullsfrø, og finner ikke at bruk av olje fra MON15985 og MON15985xMON1445 utgjør noen større helserisiko enn kommersiell olje fra umodifiserte bomullsplanter. Faggruppen mener også at tilstedeværelse av nptII-genet i den genmodifiserte bomullen ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier sammenlignet med de nptII-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonene. VKM mener at aad genet, klassifisert av EFSA som gruppe II ARMG, ikke bør benyttes i GMO.

NØKKELORD

Genmodifisert bomull, MON15985, MON1445, MON15985xMON1445, insektresistens, herbicidtoleranse, CP4 EPSPS, Cry1Ac, Cry2Ab2, nptII gen, aad gen, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet om en vitenskapelig risikovurdering av EFSA/GMO/UK/2005/10 genmodifisert bomull (MON15985 og MON15985xMON1445) til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Vurdering av den genmodifiserte bomullen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSAs nettside GMO EFSAnet. MON15985 og MON15985xMON1445 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSAs dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004). Ved vurdering av vesentlig likhet har Faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for bomull (OECD 2004), som gir anbefalinger over hvilke parametre som bør undersøkes.

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet 23. april 2004 har Faggruppe for genmodifiserte organismer vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppe for genmodifiserte organismer får sakene til behandling, skal søknadene behandles på samme måte som i EU-landene, dvs. ved en noe forenklet risikovurdering. Det vil imidlertid bli tatt hensyn til særnorske forhold der slike kan påvises.

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

OPPDRAK FRA MATTILSYNET

Mattilsynet ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte bomullen. Bruksområdet som søknaden gjelder for er næringsmidler og fôrvarer i henhold til EUs Forordning (EC) nr. 1829/2003, artiklene 3(1)(c) og 15(1)(c). Søknaden gjelder ikke for import og kultivering, og krever derfor ikke vurdering for miljørisiko i henhold til Direktiv 2001/18/EØF.

Linjen MON15985 er fremkommet ved genmodifisering av den genmodifiserte bomullen MON531, mens MON15985xMON1445 er fremkommet ved tradisjonell krysning mellom de genmodifiserte bomullslinjene MON15985 og MON1445. Næringsmidler (olje) fra begge disse linjene ble i 2002 godkjent i EU for markedsføring under ny mat forordningen (EC) 258/97. Ingen av de to foreldrelinjene er foreløpig godkjent for omsetning i Norge.

Produktet som ønskes vurdert, er:

Genmodifisert bomull, EFSA/GMO/UK/2005/10 (MON15985 og MON15985xMON1445). Unik kode er MON-15985-7 og MON-15985-7 x MON-Ø1445-2.

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSA's frist for innspill er 16.12.05.

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte bomullshybridenen MON15985 og MON15985xMON1445 ble vurdert ut fra Mattilsynets oppdrag. I henhold til Monsanto er søknaden kun for import og bruk som næringsmidler, fôrvarer og industrielle produkter, ikke for utsetting. Primærbruken av produkter fra bomullsfrø i Norge i dag er til matolje, men avfall fra bomullsolje produksjonen brukes til dyrefôr.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSA's retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSA's dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004).

Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer søknaden om markedsføring av genmodifisert bomull (EFSA/GMO/UK/2005/10) til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Beskrivelse av de innsatte genene

MON531 (foreldrelinje til MON15985):

MON531 inneholder et rekombinante DNA-fragmentet på 7916 basepar fra PV-GHBK04-plasmidet som inneholder to ekspresjonskassetter. Den ene inneholder ett *cryIAc*-gen med regulatoriske områder og den andre ett *nptII* gen med regulatoriske områder.

CryIAc-ekspresjonskassetten inneholder:

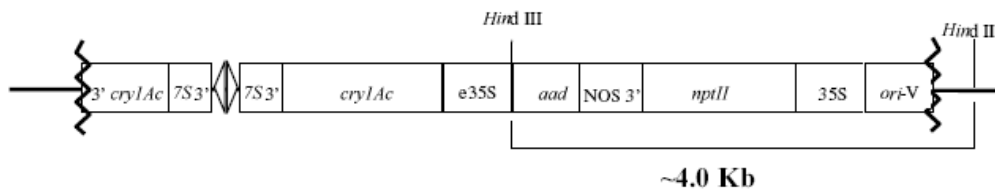
- a) *e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus med forsterker(CaMV),
- b) et modifisert *cryIAc*-gen som finnes i én kopi i genomet. *cryIAc*-genet stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*.
- c) 7S3' – terminator sekvens fra soya

Bakteriegenet *aad* som koder for aminoglykosid modifierende enzym 3'(9)-O-nukleotidtransferase stammer fra transposon T7. Det inneholder bakteriepromoter og uttrykkes ikke i planten. Det induserer polyadenylering. Aad er et antibiotikaresistensmarkørgen og blir av EFSA klassifisert i gruppe to. Aad gir bakterier resistens mot antibiotikaene spectinomycin og streptomycin. VKM mener at gruppe to gener ikke bør benyttes i kommersielle GMO.

nptII- ekspresjonskassetten inneholder:

- 35s-promoter fra blomkålmosaikkvirus (CaMV)
- nptII*-antibiotikaresistensgen, danner enzymet neomycin fosfotransferase (APH(3')II), stammer fra transposon Tn5 fra *E. coli*,
- ble* trunkert bleomycinresistensgen, består av 153 basepar
- NOS3* terminator for *nptII* genet, stammer fra pTiT37 plasmidet,
- Ori-V* replikasjonsorigo for *Agrobacterium*, stammer fra plasmidet RK2

Funksjonelt *cryIAC* - rekombinant DNA fragment i bomullsplanten:



Analysene viser at det er satt inn et trunkert fragment på 242 basepar som inneholder deler av 7s3' elementet og deler av *cryIAC* genet. De molekylærbiologiske analysene er basert på genom "walking", cosmidkloning, PCR, Southern blot og sekvensering. Faggruppen har vurdert det rekombinante innskuddet i MON531 i søknaden MON531xMON1445. Faggruppen fant at dokumentasjonen var tilstrekkelig for vurdering av det rekombinante innskuddet.

MON15985:

MON15985 er fremkommet ved genmodifisering av MON531. Et lineært rekombinant DNA fragment på 6092 basepar som er kuttet med restriksjonsenzymet *KpnI*, er ved hjelp av partikkel akselerasjonsmetoden satt inn i maisceller. Det rekombinante DNA fragmentet stammer fra plasmidet PV-GHBK11. Det lineariserte fragmentet som er satt inn i bomullsplanten MON531 inneholder to ekspresjonskassetter, som inneholder følgende genelementer:

uidA kassett:

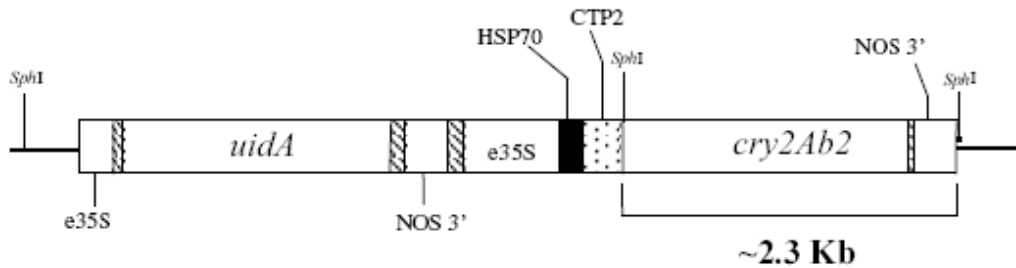
- e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus med forsterker(CaMV),
- uidA* DNA sekvens som koder for β -D-glukuronidase (GUS) enzym fra *E. coli*
- NOS3* terminator for *uidA* genet, stammer fra pTiT37 plasmidet,

cry2Ab2 kassett:

- e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus med forsterker(CaMV),
- HSP70* "heat shock 70" leder sekvens fra petunia
- ctp2* DNA sekvens som koder for N-terminalt kloroplast overføringspeptid, fra *Arabidopsis thaliana epsps* gen

- d) *cry2Ab2* gen, stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*. Koder for et syntetisk Cry2Ab2 protein.
- e) *NOS3* terminator for *cry2Ab2* genet, stammer fra pTiT37 plasmidet

Funksjonelle *uidA/cry2Ab2*- ekspresjonskassetter:



Dette innskuddet inneholder en fullstendig kopi av *cry2Ab2* kassetten lenket til en kopi av *uidA* kassetten. CaMV 35s promoteren i *uidA* kassetten mangler ca. 260 bp i 5'-enden. I *uidA* genet i planten er det en aminosyre-endring i N-enden. Endringen er fra glutamin til lysin. Endringen påvirker ikke det aktive området og den tredimensjonale strukturen av proteinet. Monsanto har analysert 1894 baser oppover fra 5'-enden og 763 baser nedover fra 3'-enden av innskuddet. Analyser av disse flankerende sekvensene viser ingen homologi med gener i bomullsplanten. Monsanto har påvist at 388 baser i 5'-enden viser homologi til kloroplast DNA.

Påvisning av åpne leserammer (ORF)

Det gjort studie for å påvise åpne leserammer ved *uidA/cry2Ab2*-innskuddet. Det er listet opp 12 antatte åpne leserammer, 6 åpne leserammer hver fra henholdsvis 5' og 3' enden av det rekombinante innskuddet. Fra 5' enden er det påvist fem åpne leserammer, 5_1, 5_3, 5_4, 5_5 og 5_6, som teoretisk fører til avskrivning av tilstrekkelig lange polypeptider fra stopkodon til stopkodon. Fra 3' er det påvist 6 åpne leserammer, 3_1, 3_2, 3_3, 3_4, 3_5, 3_6, som teoretisk fører tilstrekkelige lange polypeptider (80 aminosyrer) fra stopkodon til stopkodon. Homologi til de hypotetiske uttrykte aminosyresekvensene som kan stamme fra disse åpne leserammene ble sammenlignet med aminosyresekvenser i basene Allpeptides, Toxin5 og Allergen3. I søkene etter homologi ble det bruket et vindu på 6, 7 og 8 aminosyrer. FAO/WHO anbefaler et vindu på 6 aminosyrer. Søkene med vindu på 6 og 7 aminosyrer ga et svært stort antall falske positive treff. Monsanto besluttet derfor å benytte et vindu på 8 aminosyrer. Det ble påvist 31 antatt homologier til forskjellige proteiner. Ingen av disse polypeptidene har mer enn 35 % homologi med et vindu på 80 aminosyrer, som anbefalt av FAO/WHO.

Uttrykk av proteiner fra de rekombinante fragmentene:

Mengde av proteiner uttrykt i MON15985 i blad og frø for Cry1Ac protein er henholdsvis $2,1 \pm 1,4$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range= <LOQ-4,2) og $1,6 \pm 0,23$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=1,3- 1,9), for Cry2Ab2 er henholdsvis $5,7 \pm 4,4$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=1,6- 13) og 44 ± 10 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=34- 60), for GUS er henholdsvis 61 ± 31 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=13- 110) og 46 ± 13 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=27- 59), for NPTII protein er henholdsvis $5,9 \pm 1,5$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt

(range= $<LOD-6,9$) og $5,5 \pm 0,59$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (range= 4,8-6,2). Disse proteinene kunne ikke påvises i tradisjonell kontroll. (LOQ = limit of quantitation, LOD = limit of detection).

Prøvene som er analysert stammer fra fem feltforsøk utført i USA i 2001, og det er dyrket fire blokker for hver bomullssort. Det er dyrket tre forskjellige bomullssorter, MON1445, MON15985xMON1445 og en umodifisert kontroll. Verdiene er et gjennomsnitt av de fem forsøksfeltene og gjennomsnitt for de tre sortene. Forsøksfeltene var lokaliserte på områder som representerer forskjellige vekstmiljøer for bomull. Det er lagt ved dokumentasjon for forsøk utført i 1998. *aad* genet styres av en bakteriepromoter, og AAD protein ble ikke påvist i undersøkelsene som ble utført 1998. Det er derfor ingen grunn til å måle dette proteinet i forsøkene utført i 2001.

Oppsummering:

Molekylærbiologiske analyser viser at de rekombinante fragmentene i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på de tilsvarende fragmentene i de to bakteriestammene som inneholder disse genelementer. Genene på de rekombinante DNA-fragmentene i MON15985 uttrykker Cry1Ac-, Cry2Ab2 -, GUS- og NPPTII protein som er identisk med proteinene som uttrykkes i de bakteriestammene som inneholder disse genelementer.

Faggruppen mener at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON15985xMON1445 er tilfredsstillende. (enig?)

MON1445 (foreldrelinje):

Den genmodifiserte bomullinjen MON1445 uttrykker glyfosattoleranse pga. bakterieenzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som uttrykkes av *cp4-epsps*-genet. *cp4-epsps*-genet stammer fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Enzymet omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, som er en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. Alle planter og mikroorganismer inneholder dette enzymet, noe som dyr ikke gjør. De må dermed få aromatiske aminosyrer fra føden. *cp4-epsps*-genet fra bakterien *A. tumefaciens* stamme CP4, ble klonet inn i plasmidet PV-GHGT07. Det rekombinante DNA-fragmentet på 5734 basepar fra PV-GHGT07-plasmidet inneholder to ekspresjonskassetter med henholdsvis ett enkelt *cp4-epsps*-gen og ett *nptII*-gen i hver kassett.

Den molekylærbiologiske karakteriseringen viser at det er satt inn ett rekombinant DNA-fragment i MON1445. Dette fragmentet inneholder de to ekspresjonskassetten:

cp4 epsps-ekspresjonskassett, som inneholder:

- a) *FMV*-promoter, 35S promoter fra "figwort" mosaikkvirus,
- b) et modifisert *cp4 epsps*-gen og det finnes kun én kopi i genomet.
- c) *cpt2* DNA sekvens som koder for et optimalisert kloroplastoverføringspeptid
- d) *e9 3'* – terminator sekvens fra erter

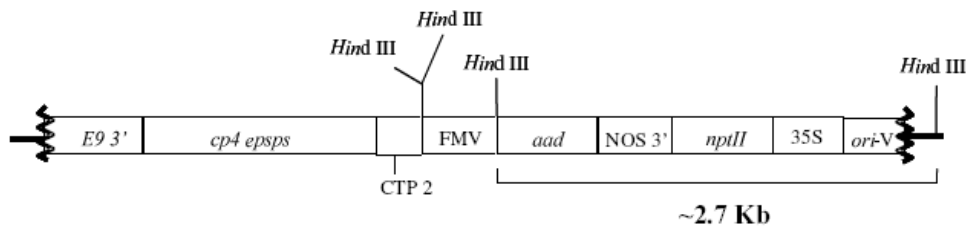
Bakteriegenet *aad* som koder for aminoglykosid modifierende enzym 3'(9)-O-nukleotidtransferase, stammer fra transposon T7. Det reguleres av bakteriepromoter og uttrykkes ikke i planten. Genet induserer polyadenylering.

nptII- ekspresjonskassett, som inneholder:

- a) 35s-promoter fra blomkålmosaikkvirus (CaMV)

- b) *nptII*-antibiotikaresistensgen, danner enzymet neomycin fosfotransferase (APH(3')II), stammer fra transposon Tn5 fra *E. coli*,
- c) *ble* trukert bleomycinresistensgen, består av 153 basepar
- d) *NOS3* terminator for *nptII* genet, stammer fra pTiT37 plasmidet,
- e) *Ori-V* replikasjonsorigo for *Agrobacterium*, stammer fra plasmidet RK2

Funksjonelle *cp4 epsps/nptII*- ekspresjonskassetter i MON1445:



Påvisning av åpne leserammer (ORF)

Det gjort studie for å påvise åpne leserammer ved *cp4 epsps/nptII*-innskuddet. Det er listet opp 10 antatte åpne leserammer, 5 åpne leserammer hver fra henholdsvis 5' og 3' enden av det rekombinante innskuddet. Fra 5' enden er det påvist fem åpne leserammer, 5_1, 5_3, 5_4, og 5_6, som teoretisk fører til avskrivning av tilstrekkelig lange polypeptider fra stoppkodon til stoppkodon. Fra 3' er det påvist 5 åpne leserammer, 3_1, 3_2, 3_3, 3_4, 3_5, som teoretisk fører tilstrekkelige lange polypeptider (80 aminosyrer) fra stoppkodon til stoppkodon. Homologi til de hypotetiske uttrykte aminosyresekvensene som kan stamme fra disse åpne leserammene ble sammenlignet med aminosyresekvenser i basene Allpeptides, Toxin5 og Allergenbase AD4. I søkene etter homologi ble det bruket et vindu på 6, 7 og 8 aminosyrer. FAO/WHO anbefaler et vindu på 6 aminosyrer. Søkene med vindu på 6 og 7 aminosyrer ga et svært stort antall falske positive treff. Monsanto besluttet derfor å benytte et vindu på 8 aminosyrer. Det ble påvist 29 antatt homologier til forskjellige proteiner. Ingen av disse polypeptidene har mer enn 35 % homologi med et vindu på 80 aminosyrer, som anbefalt av FAO/WHO.

Uttrykk av proteiner fra det rekombinante fragmentet:

For uttrykk av rekombinante proteiner i MON1445 over flere år henvises det til en tidligere søknad. I søknaden for bomullslinjene MON15985 og MON15985xMON1445 forligger det dokumentasjon for MON1445 også fra feltforsøket i 2001. Mengde CP4 EPSPS protein i blad og frø er henholdsvis 52 ± 15 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range= 35-73) og $110 \pm 6,8$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=100-120), og mengde NPTII protein er henholdsvis $23 \pm 7,1$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=19-36) og $16 \pm 2,0$ $\mu\text{g/g}$ ferskvekt (Range=13-17). Det er dyrket tre forskjellige bomullssorter, MON1445, MON15985xMON1445 og en umodifisert kontroll. Prøvene som er analysert stammer fra fem feltforsøk utført i USA i 2001, og uttak fra fire blokker fra hver bomullssort. Verdiene er et gjennomsnitt av de fem forsøksfeltene og gjennomsnitt for de fire blokkene. Forsøksfeltene var lokaliserte på områder som representerer forskjellige vekstmiljøer for bomull.

Oppsummering:

Molekylærbiologiske analyser viser at ett rekombinant fragment er satt inn i planten. Dette fragmentet inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i bakterien. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i MON1445 uttrykker CP4 EPSPS - og NPTII protein som er identisk med proteinene som uttrykkes i bakterien. Stabiliteten på det rekombinante DNA fragmentet er vist over mer enn 8 generasjoner.

Faggruppen mener at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON1445 er tilfredsstillende.

MON15985xMON1445:

MON15985xMON1445 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom MON1445 og MON15985. Analyse etter 8. generasjon viser at de rekombinante fragmentene er stabilt integrert.

Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelsen og antall kopier av MON1445- og MON15985-ekspresjonskassetene i MON15985xMON1445. Det er påvist tilsvarende rekombinante ekspresjonskassetter som dem i MON1445 og MON15985.

Monsanto hevder at andre molekylærbiologiske analyser ikke er nødvendig fordi det er liten sannsynlighet for molekylær gjensidig påvirkning mellom innskuddene fra MON1445 og MON15985, og at ekspresjonskassetene har vært stabilt inkorporert i MON15985xMON1445 i 8 generasjoner.

Det konkluderes med at det er kun ekspresjonskassetene fra henholdsvis MON15985 og MON1445 som er satt inn i MON15985xMON1445. Sammenlignende Southern blot-analyser mellom hybridene MON15985xMON1445 og de to foreldrelinjene viser at bruttostørrelsen på de innsatte DNA-fragmentene er intakte. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra disse elementene.

Uttrykk av proteiner fra de rekombinante fragmentene:

Mengde av proteiner uttrykt i MON15985xMON1445 i blad og frø for Cry1Ac protein er henholdsvis $1,6 \pm 1,3$ µg/g ferskvekt (Range= 0,43-3,8) og $1,5 \pm 0,095$ µg/g ferskvekt (Range=1,3- 1,), for Cry2Ab2 er henholdsvis $5,4 \pm 2,5$ µg/g ferskvekt (Range=2,6- 9,6) og $45 \pm 5,7$ µg/g ferskvekt (Range=39- 53), for GUS er henholdsvis 65 ± 16 µg/g ferskvekt (Range=51- 91) og 45 ± 16 µg/g ferskvekt (Range=29- 67), for NPTII protein er henholdsvis $24 \pm 6,6$ µg/g ferskvekt (range=17-35) og $17 \pm 2,6$ µg/g ferskvekt (range= 14-20) og for CP4 EPSPS protein er henholdsvis 53 ± 20 µg/g ferskvekt (Range= 37-88) og 160 ± 28 µg/g ferskvekt (Range=130-200). Disse proteinene kunne ikke påvises i tradisjonell kontroll.

Prøvene som er analysert stammer fra fem feltforsøk utført i USA i 2001, og det er dyrket fire blokker for hver bomullssort. Det er dyrket fire forskjellige bomullssorter, MON1445, MON15985, MON15985xMON1445 og en umodifisert kontroll. Verdiene er et gjennomsnitt av de fem forsøksfeltene og gjennomsnitt for de tre sortene. Forsøksfeltene var lokaliserte på områder som representerer forskjellige vekstmiljøer for bomull. Det er lagt ved dokumentasjon for forsøk utført i 1998. *aad* genet styres av en bakteriepromoter, og AAD protein ble ikke påvist i undersøkelsene som ble utført 1998. Det er derfor ingen grunn til å måle dette proteinet i forsøkene utført i 2001.

Dokumentasjon av ”vesentlig likhet”

Analysen av sammensetning i bomullsfrø er fra bomullslinjene MON15985 og MON15985xMON1445. Prøvene som er analysert, stammer fra fire feltforsøk utført på fire forskjellige dyrkningsområder i USA. Dyrkningsområdene representerer forskjellige vekstmiljøer for bomull, og undersøkelsene ble utført i 1999. I hvert av de fire forsøksfeltene ble forskjellige bomullssortene plantet randomisert i fire blokker. Det er tatt ut prøver fra de fire blokkene fra hvert felt. Analysene omfatter bomullssortene MON15985xMON1445 (linje DP5415BGRR), MON15985 (linje DP5415BG), MON1445 (linje DP5415RR), en umodifisert kontrollhybrid (DP5415), elleve forskjellige umodifiserte kommersielle referanser og en kommersiell genmodifisert sort (Nu Cotton 33B). Alle bomullssortene ble dyrket på de samme forsøksfeltene. For analyser av MON15985 og MON1445 henviser Monsanto også til flere feltforsøk som er dokumentert i to EU notifiseringer.

Hovedkomponenter i bomullsfrø:

For MON15985xMON1445 er valget av analyseparametere gjort før OECDs konsensusdokument for bomull ble laget (OECD 2004). Monsanto hevder at valget av analyseparametre er i henhold til aksepterte internasjonale standarder og henviser OECD dokumentet. Det er foretatt forskjellige analyser av hovedkomponenter i frø. Det ble det analysert for aske, fett, protein, vann, protein, karbohydrater, total fiber, kalorier, aminosyrer, fettsyrer, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, anti-næringsmidlene gossypol og syklopropenoid, samt aflatoksinene B₁, B₂, G₁ og G₂. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP). Det er funnet 28 signifikante statistiske forskjeller ($p < 0,05$) av 245 statistiske sammenligninger. Fire av 28 signifikante forskjeller ble funnet ved analyser over alle feltene. For alle analyserte komponenter ligger verdiene innenfor 99 % toleranseintervall til de kommersielle referansehybridene som ble benyttet i denne studien.

Fettsyresammensetning i bomullsfrø:

Fettsyresammensetningen i frø for MON15985xMON1445 som er målt er i henhold til OECDs konsensusdokument for bomull. Det ble analysert for 15 fettsyrer. Forskjellene er mindre enn 10 %, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre bomullssorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i bomullsfrø:

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. De aminosyrer som er målt er i henhold til OECD dokumentet. Det er ikke funnet store statistiske forskjeller for alle forsøksfeltene. Verdien ligger innenfor 20 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer:

I henhold til OECDs konsensusdokument for bomull bør det undersøkes for vitamin E i olje. Det er ikke funnet forskjeller i vitamin E i olje.

Mineraler:

Med unntak for selen er mineralene som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for bomull. Det funnet statistiske forskjeller for flere mineraler, men forskjellen ligger innenfor 5 % og innenfor typiske verdier for andre bomullssorter som er rapportert i litteraturen.

Antiernæringsstoffer:

Det er ikke funnet store statistiske forskjeller for gossypol og syklopropenoid.

Toksiner.

Mengder av aflatoksinene B₁, B₂, G₁ og G₂ er ikke påvist over påvisningsgrensen på 1 ppb.

Analyse av protein og DNA i raffinert bomullsolje.

Monsanto har analysert raffinert bomullsolje for protein og DNA. Det er ikke påvist mengder av protein eller DNA over påvisningsgrensene.

Konklusjon

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre. Forskjellene som er funnet er for de fleste komponenter innenfor 10 %. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger også innenfor verdiene for både de elleve forskjellige umodifiserte kommersielle referanse bomullssorter og den kommersielle genmodifiserte sorten, og også typiske verdier for andre bomullssorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at de forskjellene som er påvist ikke har noen helsemessig betydning.

Antibiotikaresistensgenet *nptII*

Tilgjengelige eksperimentelle studier viser at horisontal overføring av antibiotika resistensmarkørgener (ARMG) sannsynligvis inntreffer sjelden og at denne overføringen finner sted når det forekommer DNA sekvenser med likhet mellom overført DNA (som i denne sammenheng inneholder ARMG) og bakterien som er mottaker. Til tross for flere forsøk er genoverføring fra genmodifiserte planter til bakterier aldri påvist når det ikke finnes DNA sekvenshomologi mellom dem. Studier viser at sannsynligheten for at overføring av ARMG fra en bakterie til en annen bakterie med sekvenshomologi er mer enn en milliard ganger større enn ved fravær av slik homologi. Studier som rapporten henviser til viser at forekomsten av *nptII*-genet i patogene bakterier i Norge er lav. Kunnskapene om forekomsten av ARMG i miljøet er imidlertid mangelfulle. Videre viser rapporten at den veterinære bruken i Europa, inkludert i Norge, av aminoglykosider slik som neomycin kan gi selektive betingelser for bakterietransformanter som har tatt opp ARMG. Faggruppen mener likevel at tilstedeværelse av *nptII*-genene i genmodifiserte planter ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier sammenlignet med de *nptII*-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonene. Faggruppen mener at bidraget av *nptII* gener fra fôr produsert fra MON15985 og MON15985xMON1445 ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier som lever i tarmen til dyr som spiser dette fôret.

Dokumentasjon av toksisitet og allegenisitet

Toksisitet:

Søknaden inneholder ikke dokumentasjon på fôringsforsøk på pattedyr med renfremstilt Cry1Ac, CP4 EPSPS- og NPTII proteiner. Monsanto hevder at dette ikke er nødvendig siden dokumentasjon over disse fôringsforsøkene finnes i andre av Monsanto's søknader. Det er heller ikke utført fôringsforsøk med MON15985xMON1445 på dyr eller fugl. Monsanto grunnir dette med at det er vist at de nye proteinene i planten hverken er toksiske eller allergene. Det er imidlertid utført fôringsforsøk på "catfish" (*Ictalurus punctatus*). Det ble ikke observert noen endringer i vekst, overlevelse og oppførsel til fisken ved fôring med 20 % mel produsert fra bomull som inneholder Cry2Ab2 protein.

Allergenisitet:

Bt-proteiner

Til tross for vel 50 års bruk av B.t.k. som sprøytemiddel er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksposering. (EHC 1999) Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallprotein. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallprotein (EHC 1999).

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre bomullssorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at disse forskjellene ikke har noen helsemessig signifikans. Faggruppen konkluderer derfor med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til olje fra den genmodifiserte bomullsplanten MON15985xMON1445 er forskjellig fra olje fra umodifiserte bomullsplanter.

Flere studier viser at proteinene CP4 EPSPS, Cry1Ac og NPTII ikke er akutt toksiske. Monsanto har utført og henviser til akuttstudier på rotter for disse proteinene. Disse studiene viser at disse proteinene, ikke fører til påvisbare helseeffekter på dyrene. Imidlertid er ikke disse studiene dokumentert i denne søknaden. Monsanto har ikke utført sub-kroniske studier på rotter med fôr fra MON15985xMON1445. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for CP4 EPSPS-, Cry1Ac- og NPTII proteinene i seg selv og i de mengder som tilføres via fôr fra den genmodifiserte bomullen, er helsemessig betenkelige for dyr.

Faggruppen mener at tilstedeværelse av *nptII*-genene i genmodifiserte planter ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier sammenlignet med de *nptII*-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonene.

Faggruppen konkluderer med at bomullsolje fra MON15985xMON1445 er vesentlig lik olje fra umodifiserte bomullsfrø, og finner ikke at bruk av olje fra MON15985xMON1445 utgjør noen større helserisiko enn kommersiell olje fra umodifiserte bomullsplanter.

VURDERT AVFaggruppe for genmodifiserte organismer:

Ingolf Nes, Knut Berdal, Grethe Foss, Casper Linnestad, Martinus Løvik, Audun Nerland, Vibeke Thrane, Sonja Klemsdal.

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

EFSA 99, 2004. "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed".

EHC, 1999. Environmental Health Criteria 217. *Bacillus thuringiensis*. WHO, Geneve 1999

OECD, 2004. Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): Key Food and Feed Nutrients and Anti-nutrients., No. 11, Series on Safety of Novel Foods and Feeds.