



**Helse- og miljørisikovurdering av
genmodifisert soyalinje A5547-127 fra Bayer CropScience
(EFSA/GMO/NL/2008/52)**

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

6.10.08

BIDRAGSYTERE

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

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

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

Koordinatorer fra sekretariatet:

Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

SAMMENDRAG

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte og herbicidtolerante soyalinjen A5547-127 (EFSA/GMO/NL/2008/52) fra Bayer CropScience AG er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning (DN) ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte soyalinjen A5547-127 til bruk i næringsmidler og fôrvarer, men ikke til dyrking.

Vurderingen av den genmodifiserte soyaen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. I tillegg er det benyttet informasjon fra uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. Soyalinjen A5547-127 er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området og faggruppen har derfor ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter knyttet til dyrking av soyalinjen. Vurderingen er gjort i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, samt kravene i EU-forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser. Det presiseres at de deler av den norske konsekvensutredningsforskriften som vedrører bærekraft, samfunnsnytte og etikk, ikke er vurdert av VKM. Videre er prinsippene i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for soya (OECD 2001) lagt til grunn for risikovurderingen.

Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosess, bruk av vektor, transgene konstrukt, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, metabolitter, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensiale for ikke tilsiktede effekter på fitness, samt horisontal og vertikal genoverføring vurdert.

A5547-127 er produsert ved biolistisk transformasjon av soyalinjen A5547. Den innsatte genkonstruksjonen inneholder en enkeltkopi av et modifisert *pat*-gen fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicerider av typen Finale. Fosfinotricin er et ikke-selektivt kontaktherbicide som hemmer glutaminsyntetase. Enzymet deltar i assimilasjonen av nitrogen og katalyserer omdanning av glutamat og ammonium til aminosyren glutamin. Hemming av glutaminsyntetase fører til akkumulasjon av ammoniakk, og til celledød i planten. Genkonstruksjonen inneholder også et trunkert β -laktamase (*bla*)-gen. Genet er ikke funksjonelt og uttrykkes ikke i de transgene plantene. A5547-127 inneholder ingen andre funksjonelle markørgener for antibiotikaresistens.

Olje fra soyalinjen A5547-127 er primært tiltenkt brukt i matvareindustrien. Det er hovedsakelig olje, mel, proteinisolat og bønne fra soya som brukes som menneskeføde og fôr. I følge OECD nyttes omlag 93 % av oljen som mat, mens ca. 97 % av soyamelet brukes som fôr (OECD 2001).

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Valg av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for soya (OECD 2001). Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre soyasorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av soyalinjen til bruk som mat og fôr. Proteinene som uttrykkes som følge av genmodifiseringen har ingen likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at det er et allergen.

Søknaden gjelder godkjenning av soyalinjen A5547-127 for import og prosessering under direktiv 2001/18/EF del C og til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning (EF) 1829/2003. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter knyttet til dyrking av soyalinjen. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av soyalinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Soya dyrkes ikke i Norge, og arten har ikke viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa. Det er derfor ikke risiko for utkryssing med dyrkede sorter eller ville planter i Norge.

Samlet vurdering

Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det lite trolig at bruk av soyalinjen A5547-127 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen soya.

NØKKELOD

Soya, *Glycine max* (L.) Merr., genmodifisert soyalinje A5547-127, EFSA/GMO/NL/2008/52, herbicidtoleranse, PAT, glufosinat-ammonium, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF, direktiv 2001/18/EF

INNHALDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE	2
VURDERT AV	2
SAMMENDRAG.....	3
NØKKEWORD.....	4
INNHALDSFORTEGNELSE.....	5
BAKGRUNN	6
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET.....	6
RISIKOVURDERING	7
1. Innledning.....	7
1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer	7
2. Molekylær karakterisering	8
2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon	8
2.2. Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen.....	9
2.3. Informasjon vedrørende uttrykk av innsatte gener og opne leserammer (ORF)....	9
2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA	11
2.5. Delkonklusjon	11
3. Komparative analyser.....	11
3.1. Valg av komparator og forsøksdesign.....	11
3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter	12
3.3. Agronomiske egenskaper	18
3.4. Delkonklusjon	19
4. Dokumentasjon av toksisitet, allergenisitet og næringsverdi.....	19
4.1. Toksisitet	19
4.2. Allergenisitet	20
4.3. Delkonklusjon	20
5. Miljørisikovurdering	21
5.1. Potensiale for ikke tilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen	21
5.2. Potensiale for genoverføring	21
5.3. Miljøovervåkingsplan.....	22
5.4. Delkonklusjon	23
6. Vurdering av søkeres dokumentasjon	23
KONKLUSJON	24
REFERANSER	25

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning om å foreta en vurdering av helse- og miljørisiko ved en eventuell godkjenning av den genmodifiserte soyalinjen A5547-127 fra Bayer CropScience (EFSA/GMO/NL/2008/52). Soya-A5547-127 er søkt omsatt i EU/EØS-området under forordning (EF) Nr. 1829/2003 om genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer (artiklene 5,17,3(1c) og 15(1c), og i overensstemmelse med direktiv 2001/18/EF, del C. Søknaden omfatter bruksområdene import, prosessering, næringsmidler og fôrvarer, men ikke dyrking.

Søknaden ble fremmet og anbefalt av nederlandske myndigheter i april 2008. Søknaden ble lagt ut på EFSA-nett 18. juli 2007, med frist på 90-dager for innspill fra EU- og EØS/EFTA-landene. Norge har ikke tidligere uttalt seg om soyalinjen A5547-127.

Utenfor EU/EØS-området er A5547-127 godkjent i USA, Canada, Argentina og Japan for alle bruksområder, inkludert dyrking (Agbios 2008; Bayer CropScience 2008). I tillegg er soyalinjen godkjent for omsetning som mat og/eller fôr i Mexico, Australia, New Zealand og Russland.

OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET

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

Søknad EFSA/GMO/NL/2008/52, genmodifisert soyalinje A5547-127, ble lagt ut på EFSA-nett 18. juli 2008. Faggruppe for genmodifiserte organismer skal i tråd med oppdragsbrev utarbeide helse- og miljørisikovurdering av soyalinjen til import og industriell prosessering, samt til bruk som næringsmiddel og fôrvare. Søknaden omfatter ikke dyrking. Vurderingen skal utføres i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med prinsippene som er nedfelt i EFSAAs retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter ("Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006).

I henhold til oppdragsbrev fra DN skal VKM primært fokusere på miljørisiko i EØS-området, og på miljørisiko som er spesifikke for Norge. Det skal også gis en samlet konklusjon om miljørisiko, i tråd med kravene i forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, vedlegg 2 C.

Produktet som ønskes vurdert, er:

Genmodifisert soya, EFSA/GMO/NL/2008/52 (soya A5547-127).

Unik kode: ACS-GMØØ6-4

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSAAs frist for innspill er 28.10.08.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet/DN er 25. 10. 2008.

RISIKOVURDERING

1. Innledning

Risikovurderingen av den genmodifiserte soyalinjen A5547-127 er i hovedsak basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAs nettside GMO EFSA-net. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EUs forordning 1829/2003/EF og utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser lagt til grunn for vurderingen.

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

Faggruppen har vedtatt å benytte EFSAs 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 soya (OECD 2001), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes.

Det er kun medlemmene i Faggruppe for genmodifiserte organismer som har vurdert den genmodifiserte soyaen.

1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

A5547-127 er produsert ved biolistisk transformasjon av embryonalt skuddvev fra soyalinjen A5547. Den innsatte genkonstruksjonen inneholder en enkeltkopi av et syntetisk *pat*-gen fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*, stamme Tu494. Det bakterielle *pat*-genet har et høyere GC-innhold enn det som finnes i planter, og for å optimalisere uttrykket i planter er den opprinnelige nukleotidsekvensen til *pat*-genet modifisert. Det syntetiske *pat*-genet har 70 % sekvensidentitet med det opprinnelige genet, uten at sekvensen av aminosyrer det kodes for er blitt endret.

Uttrykket av *pat*-genet kontrolleres av den konstitutive promotoren *CaMV* 35S fra blomkålmosaikkvirus. *Pat*-genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicide av typen Finale. Fosfinotricin er et ikke-selektivt kontaktherbicide som hemmer glutaminsyntetase. Enzymet deltar i assimilasjonen av nitrogen og katalyserer omdanning av glutamat og ammonium til aminosyren glutamin. Hemming av glutaminsyntetase fører til akkumulasjon av ammoniakk, og til celledød i planten. Genet er benyttet som seleksjonsmarkør for identifikasjon av transformanter under regenerasjonen.

Genkonstruksjonen inneholder også et trunkert β -laktamase (*bla*)-gen. Det opprinnelige *bla*-genet, som uttrykker resistens overfor ampicillin og penicillin, og som kontrolleres av en prokaryot promotor, ble kuttet i to fragmenter vha restriksjonsenzymet *PvuI* før transformering. De transgene plantene inneholder derfor ingen funksjonelle kopier av dette genet. A5547-127 inneholder ingen andre funksjonelle markørgener for antibiotikaresistens.

I følge søker har A5547-127 en genetisk bakgrunn som større potensiale og fleksibilitet i sortsforedlingen for ulike dyrkingsbetingelser og bruksområder sammenlignet med den GA-tolerante soyalinjen A2704-12.

2. Molekylær karakterisering

A5537-127 fra Bayer CropScience har fått overført et syntetisk *pat*-gen, derivert fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494 (Wohlleben *et al.* 1988).

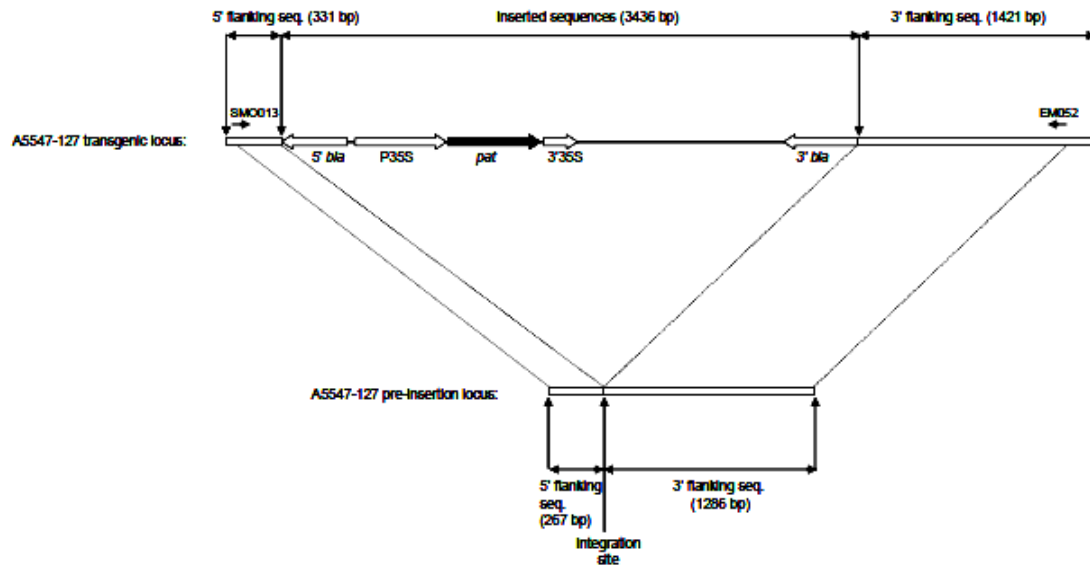
2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

Genelementer fra plasmidet pB2/35SAcK ble benyttet til å danne A5547-127. A5547-127 er produsert ved biolistisk transformasjon av soyalinjen A5547. Det innsatte rekombinante DNA-fragment på ca. 3500 basepar inneholder en ekspresjonskassetten. Ekspresjonskassetten inneholder en enkeltkopi av et modifisert *pat*-gen fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. Oversikt over genelementer på det innsatte rekombinante DNA fragmentet er vist i figur 1 og tabell 1.

Pat-ekspresjonskassetten inneholder følgende:

Tabell 1. Gener og genelementer på det innsatte rekombinante DNA fragmentet.

Genelementer	Størrelse basepar (bp)	Funksjon og beskrivelse av klonede genfragmenter
<i>pat</i>	552	syntetisk <i>pat</i> fra <i>Streptomyces viridochromogenes</i> resistensgen, gir toleranse mot glufosinat-ammonium
<i>bla</i>	860	Trunkert antibiotikaresistensmarkørgen, β -lactamase fra <i>E. coli</i> , 2 fragmenter, et fragment på 391 bp i 5'- og et på 424 bp i 3'-enden
P-35S	540	Blomkål mosaikk virus (CaMV) promoter, for <i>pat</i> -genet
T-35S	203	3' terminatorordelen av 35S genet
ori-pUC	550	Origo for replikasjon (ColE1) til pUC18, har ingen funksjon i planter



Figur 1. Rekombinant DNA-fragment i planten, funksjonelt innskudd.

2.2. Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen

Molekylærbiologiske analyser viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende rekombinante DNA-fragmentet i plasmidet pB2/35SAcK. Det rekombinante DNA-fragmentet forekommer som et enkelt locus i soyaens genom. DNA-fragmentet består av en PAT-ekspressjonskassett og to fragmenter av *bla*-genet, et fragment på 391 bp i 5'- og et på 424 bp i 3'-enden. Delene av *bla*-genet er ikke funksjonelle og uttrykkes ikke i planten. PAT-proteinet som uttrykkes i soya er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE og densitometri, Edman degradering av proteinet, peptidkartlegging med HPLC/Electrospray Mass Spectrometry (LC/MS) av peptider, amiosyreanalyse av N-enden til proteinet, glykosyleringsanalyse og enzymaktivitet. Disse analysene viser at PAT-proteinet som produseres i soyaen er ekvivalent til PAT-proteinet som produseres i *E. coli*. Det ble ikke påvist glykoliserings seter på proteinet.

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

I følge dokumentasjon fra søker ble nivået av uttrykk av PAT-protein målt i et veksthusforsøk i Belgia i 2007. Forsøket bestod av testlinjen A5547-127, og den umodifiserte foreldrelinjen A5527, totalt 160 planter. De transgene plantene ble behandlet med glufosinat-ammonium på 2-3-bladstadiet. Det ble tatt prøver av blad, stilk og røtter på to ulike utviklingsstadier (V3 og V8) i plantenes vegetative fase. Ti planter fra hver gruppe og vekststadium ble analysert vha Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA). Det ble detektert PAT-protein i alle undersøkte vev og utviklingsstadier. Dette er som ventet siden *pat*-genet er under kontroll av den konstitutive promotoren 35S. Gjennomsnittlig konsentrasjonen av PAT i V3 og V8 ble målt til henholdsvis $18,4 \pm 6,50$ $\mu\text{g/g}$ og $26,2 \pm 9,87$ $\mu\text{g/g}$ råvekt i blad. I prøver fra stilk ble PAT-nivået målt til henholdsvis $39,18 \pm 3,04$ og $13,85 \pm 6,12$ $\mu\text{g/g}$ råvekt, analyser av røtter viste henholdsvis $8,16 \pm 2,50$ $\mu\text{g/g}$ og $3,60 \pm 0,42$ $\mu\text{g/g}$ råvekt. Det ble ikke påvist PAT-protein i foreldrelinjen A5547.

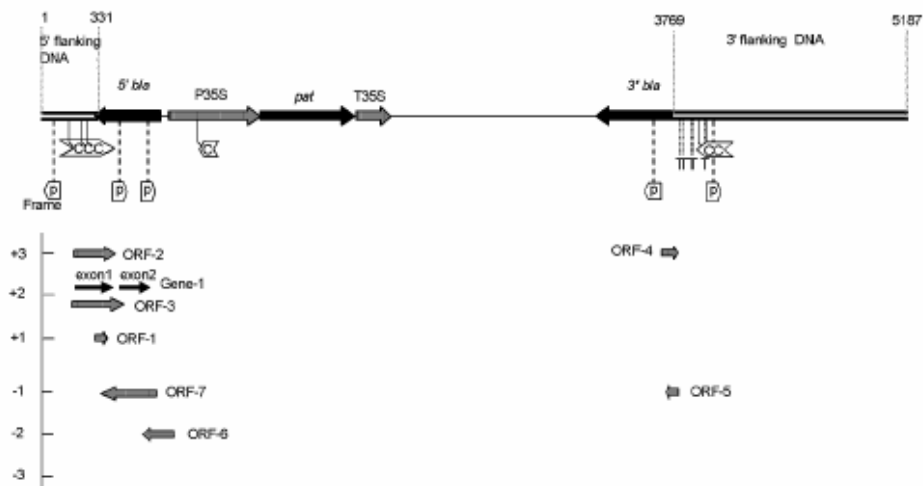
Nivået av PAT-protein i soyabønne er videre undersøkt i prøver fra feltforsøk i Florida i vekstsesongen 1999. Forsøket bestod av A5547-127 og den umodifiserte foreldrelinjen A5547. Totalt 9 forsøksruter var fordelt på tre forsøksledd med henholdsvis A5547 og testlinjen A5547-127, med og uten behandling med glufosinat-ammonium. Søker rapporterer at konsentrasjonen av PAT-proteinet er lavere i frø sammenlignet med vaskulært vev. I gjennomsnitt ble konsentrasjonen av PAT i frø målt til

0,02 µg/g råvekt, tilsvarende 0,005 % av totalt råprotein. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom forsøksruter med og uten GA-behandling.

Mengde PAT protein ble også målt i belg, mel, røstet mel, soya proteinisolat, raffinert olje, raffinert, bleket og deodorisert olje og rålecitin. I olje og rålecitin er det ikke påvist PAT protein, i belg, mel, røstet mel og proteinisolat er mengdene henholdsvis $9,5 \pm 0,29$, $0,069 \pm 0,0028$, $0,013 \pm 0,0002$ og $0,081 \pm 0,0008$ µg/g råvekt.

Bayer CropScience viser også til at det er foretatt Northern blot-analyser av prøver fra blad, røtter og stilk for å undersøke om fragmenter av *bla*-genet ble uttrykt i de transgene plantene. Det ble ikke påvist transkripsjon av sekvenser fra genet i det undersøkte plantevevet.

Det er gjort studier for å påvise åpne leserammer i 5'- og 3' flankerende ende til det rekombinante DNA-fragmentet i soyaens genom.. Det er søkt på seks potensiell åpne leserammer både i 5'- og 3' flankerende områder. Det er påvis 8 åpne leserammer (ORF-1 til ORF-8), se figur 2. Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme ved bruk av BLASTP og FindPatterns algoritmer er undersøkt på oppdatert versjoner Uniprot-Swissprot, Uniprot-TrEMBL, PIR, DAD, NRL-3D, GenPept og Allergen databaser. Databasene viser med unntak for ORF-7 ingen biologisk relevante strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert, er lite sannsynlig at dette vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske, allergene eller har uheldige helsemessige konsekvenser. ORF-7 viser homologi til β -laktamase sekvensene i 5'-enden av DNA fragmentet. Søker hevder at horisontal genoverføring og funksjonell integrering av DNA i tarmfloraen er svært usannsynlig. Siden denne åpne leserammen ikke kan uttrykke noe funksjonelt ampicillinresistensprotein representerer den i henhold til søker ingen helserisiko for mennesker og dyr.



The position of CAAT-boxes, TATA-boxes and putative polyadenylation signals in relation with the seven ORFs are indicated with the letters C, T, and P, respectively. The surrounding arrows indicate on which strand the CAAT-box and the polyadenylation signals are localized.

Figur 2: Skjematisert oversikt over 7 åpne leserammer og regulatoriske elementer i soya A5547-127.

2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

I henhold til dokumentasjonen fra Bayer CropScience er genetisk stabilitet undersøkt ved analyse av genomisk DNA fra generasjonene R₃, R₄ og R₅. Resultatene av Southern blot-analysene viser at det rekombinante DNA-innskuddet er stabilt integrert i genomet, og nedarves stabilt over minst tre generasjoner. Genetisk og fenotypisk stabilitet er videre undersøkt ved å evaluere nedarvingsmønsteret av glufosinattoleranse over flere generasjoner. Materialet er generert ved at den opprinnelige hemizygot (*pat/-*) transformerte planten (R₀) og påfølgende generasjon R₁ ble selvpollinert. Planter fra R₂-generasjonen ble videre satt ut i felt og behandlet med glufosinat-ammonium. Videre ble avkom fra GA-tolerante planter (*pat/pat* og *pat/-*) testet i felt. Spaltingsdata fra R₃- generasjonen viste et forventet segregeringsmønster på 3:1 for GA-toleranse. Dette viser at nedarvingen av *pat*-genet i soyalinjen A5547-127 følger mønsteret for mendelsk nedarving av et enkelt, dominant locus.

2.5. Delkonklusjon

Soya A5447-127 har fått tilført en modifisert utgave av *pat* genot fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494, og to trunkerte deler av β -*lactamase*-genet. I henhold til informasjon fra søker om integreringsplass, flankesekvenser mellom integrert transgen og genomet og Southern, er det fra nedarvingsresultatene grunn til å tro at transgenene sitter i et locus i genomet.

Det konkluderes med at nedarvingen av *pat*-genet i soyalinjen A5547-127 følger mønsteret for mendelsk nedarving av et enkelt, dominant locus, og at trunkerte β -*lactamase*-genet ikke uttrykkes i A5547-127. Faggruppen konkluderer med at karakterisering av det rekombinante innskuddet og de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av A5547-127 er tilstrekkelig for helse- og miljørisikovurdering av soya A5547-127.

3. Komparative analyser

3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

Den transgene soyalinjen A5547-127 ble testet i feltforsøk i USA i vekstsesongene 1999, 2000, 2006 og 2007. Feltene var lokalisert i statene North Carolina, Florida, Georgia, Mississippi, Arkansas, Louisiana og Texas, og representerer typiske dyrkingsområder for soyasorter i gruppe 5.

Foreldrelinjen A5547 ble benyttet som umodifisert kontrollinje i forsøkene. Hvert av forsøksfeltene bestod av et fullstendig randomisert blokkdesign. På hver lokalitet ble det plantet 3 gjentak med kontrollen A5547, og 3 gjentak med testlinjen A5547-127, henholdsvis med og uten behandling med glufosinat-ammonium. Herbicidbehandlingen ble foretatt to ganger i løpet av vekstsesongen. På de øvrige forsøksrutene ble det benyttet konvensjonelle sprøyteregimer, med behandling før og etter utplanting. Det ble ikke benyttet kommersielle soyasorter som referansemateriale i forsøkene.

Det ble tatt ut prøver for analyser av ernæringsmessige viktige komponenter i uprosessert soya fra totalt 16 ulike lokaliteter (4 lokaliteter i 1999, 5 i 2000 og 7 i 2006). Analysene av prosesserte produkter er basert på prøver fra ett feltforsøk i Arkansas i 2006. Det ble foretatt registreringer av agronomiske karakterer på til sammen 8 lokaliteter i vekstsesongene 2006 og 2007. Registreringene ble gjort på samme felt begge forsøksårene.

Statistiske analyser

I Nordisk ministerråds rapport "Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence" (TemaNord 1998), anbefales det at tilstrekkelig antall prøver må analyseres for å få adekvat sensitivitet for statistisk analyse. Spredning i enkeltparametre skal være sammenlignbare for genetisk modifisert plante og umodifisert plante. I rapporten er det anbefalt at spredningen i enkeltverdier bør ligge innenfor $\pm 20\%$. Faggruppe for

genmodifiserte organismer benytter denne anbefalingen som grunnlag for vurdering av forsøksresultatene.

3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter

Hovedkomponenter i soyabønne og fôr

Valg av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for soya (OECD 2001). Det er foretatt forskjellige analyser av hovedkomponenter for fôr og bønne. Det også foretatt analyser av belg, olje, mel, røstet mel, proteinisolat og lecitin.

Når det gjelder fôrfraksjonen ble det analysert for innhold av aske, fett, protein, total fiber, ADF (acid detergent fiber), NDF (neutral detergent fiber), og karbohydrater. Videre ble det foretatt analyse av følgende parametere i bønne: protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, karbohydrater, aminosyrer, fettsyrer (C8-C22), fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, vitaminene B1, B2, B5, B6, totalmengde vitamin E, α -tokoferol β -tokoferol, δ -tokoferol, γ -tokoferol og folinsyre, isoflavonene genistin, genistein, malonylgenistin, acetylgenistin, daidzin, daidzein, malonyldaidzin, acetyldaidzin, glycitin, glycitein, malonylglycitin, acetylglycitin, oligosakkaridene sukrose, raffinose og staktyose, samt sekundære metabolitter og anti-næringsstoffene coumestrol, lektiner, trypsinhemmer og fytinsyre. Når det gjelder oljefraksjonen er det analysert for innhold av totale fettsyrer og tokoferoler, mens innhold av vann, protein, fett, aske, ADF, NDF, og karbohydrater er undersøkt i soyabelg.

For mel og røstet mel er det foretatt analyser av vann, protein, fett, aske, ADF, NDF, karbohydrater, antinæringsstoffer, isoflavoner og aminosyrer. Videre er innholdet av protein og aminosyrer målt i proteinisolat og fosfolipider i lecitin. Analysene ble utførte under god laboratoriepraksis (GLP).

Ved analyse over alle lokalitetene er det i henhold til søker ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for komponentene aske, fett, protein, total fiber, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre) og karbohydrater i fôrfraksjonen. Innenfor enkelte lokaliteter er det funnet statistisk signifikante forskjeller, men ikke for alle lokalitetene (se tabell 2). I tabell 3 er gjennomsnittverdier og standardavvik for de analyserte komponentene i fôrfraksjonen sammenstilt.

Tabell 2. Resultater for fôrfraksjonen fra de enkelte lokalitetene. Statistisk analyse er parvise t-tester mellom kontroll- og testlinje, med og uten behandling med GA.

Results of the site by-site t-Tests for Proximate and Fibre Compounds

Summary t-test *)	A vs B		A vs C	
	significant	not significant	significant	not significant
Moisture	8	8	7	9
Protein	2	14	5	11
Crude Fat	3	13	2	14
Ash	5	11	5	11
Total Carbohydrate	4	12	6	10
Acid Detergent Fibre	1	15	1	15
Neutral Detergent Fibre	2	14	1	15

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty sprayed samples

C = transgenic, Liberty sprayed samples

Tabell 3. Resultater fra statistiske analyser for de enkelte komponentene i fôrfraksjonen. Enkeltverdiene er gjennomsnitt over alle lokalitetene.

Table 24. Proximate and Fibre Compounds in Soybean Seeds of Event A5547-127 and non-GM Counterpart A5547 compared to Commercial Soybean Varieties (Reference Ranges)

Parameter	Comparator (A)	A5547-127 Not sprayed (B)	A5547-127 Sprayed (C)	Reference ranges ^a
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	
Moisture % fw	14.83 ± 2.60	14.40 ± 2.42	14.04 ± 2.72	5.6 - 12
Protein % dm	40.33 ± 1.25	40.51 ± 1.49	40.91 ± 1.24	32 - 45.5
Fat % dm	21.50 ± 1.30	21.36 ± 1.46	21.51 ± 1.08	8.1 - 24.7
Ash % dm	5.84 ± 0.37	5.95 ± 0.34	5.97 ± 0.38	3.9 - 7.0
Total Carbohydrates % dm ^b	32.47 ± 1.32	32.47 ± 1.41	31.60 ± 1.08	29.6 - 50.2
ADF % dm	8.60 ± 2.63	8.57 ± 2.58	8.22 ± 2.45	7.8 - 18.6
NDF % dm	12.54 ± 4.29	12.26 ± 3.93	12.01 ± 3.99	5.0 - 21.3

SD: standard deviation

^a Standard values from Table 2 of appendix A in Oberdoerfer, 2008 M-293249-02-1

^b Total Carbohydrates calculated as 100% - (protein %dm + fat %dm + ash %dm)

Fettsyresammensetning i soyabønne

Fettsyresammensetningen for A5547-127 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for soya. OECD anbefaler følgende fettsyrer analysert: palmitinsyre (C16:0), stearinsyre (C18:0), oljesyre (C18:1), linoljesyre (C18:2), linolensyre (C18:3) og arakidonsyre (C20:0). Det ble analysert for innhold av 13 fettsyrer. Av disse var mengdene for 4 lavere enn deteksjonsgrensene på flere lokaliteter (se tabell 4). Ved sammenligning av kontroll og testlinje med GA-behandling ble det funnet signifikante forskjeller på 9 av de 16 lokalitetene for oljesyre (C18:1). Det ble imidlertid ikke påvist forskjeller mellom kontroll og testlinje uten bruk av GA (tabell 4). I tabell 5 er sammenligning mellom kontroll, usprøytet og GA-sprøytet soya av de analyserte komponentene sammenstilt. Med unntak av for oljesyre hevder søker at det ikke er påvist signifikante forskjeller.

Tabell 4. Resultater over statistiske analyser for de enkelte lokalitetene. (A er kontroll, B er A5547-127 uten GA, C er A5547-127 med GA).

Summary t-test procedures *)	A vs B		A vs C	
	significant	not significant	significant	not significant
C14:0 Tetradecanoic (Myristic)	1	3	2	2
C14:0 Tetradecanoic (Myristic) #	1	13	2	12
C16:0 Hexadecanoic (Palmitic)	7	9	8	8
C16:1 Hexadecenoic (Palmitoleic)	-	12	3	9
C16:1 Hexadecenoic (Palmitoleic) #	-	15	3	12
C17:0 Heptadecanoic (Margaric)	-	1	-	1
C17:0 Heptadecanoic (Margaric) #	-	13	-	13
C18:0 Octadecanoic (Stearic)	6	10	7	9
C18:1 Octadecenoic (Oleic)	3	13	9	7
C18:2 Octadecadienoic (Linoleic)	4	12	8	8
C18:3 Octadecatrienoic (Linolenic)	3	13	6	10
C20:0 Eicosanoic (Arachidic)	3	13	6	10
C20:1 Eicosenoic (Gadoleic)	2	14	3	13
C22:0 Docosanoic (Behenic)	4	12	4	12
C22:1 Docosenoic (Erucic)	-	3	-	3
C22:1 Docosenoic (Erucic) #	-	14	-	15
C24:0 Tetracosanoic (lignoceric)	3	13	2	14

*) N of sites with significant ($p < 0.05$) and not significant ($p \geq 0.05$) treatment differences

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

Tabell 5. Resultater fra statistiske analyser for de enkelte fettsyrene. Enkeltverdiene er gjennomsnittet for alle lokalitetene.

Total Fatty Acids in Soybean seeds of Event A5547-127 and non-GM Counterpart A5547 compared to Commercial Soybean Varieties (Reference Ranges)

Total fatty acids	% Relative			Reference ranges ^a
	Comparator (A)	A5547-127 Not sprayed	A5547-127 Sprayed (C)	
	Mea ± SD	Mea ± SD	Mea ± SD	
Saturated				
Myristic C14:0	< 0.10 - 0.14	< 0.10 - 0.14	< 0.10 - 0.12	< 0.10 - 0.27
Palmitic C16:0	11.4 ± 0.38	11.6 ± 0.36	11.6 ± 0.35	7 - 16
Margaric C17:0	< 0.10 - 0.10	< 0.10 - 0.11	< 0.10 - 0.10	< 0.10 - 0.15
Stearic C18:0	4.38 ± 0.45	4.50 ± 0.53	4.47 ± 0.48	2 - 5.9
Arachidic C20:0	0.47 ± 0.06	0.49 ± 0.08	0.48 ± 0.07	< 0.10 - 0.48
Behenic C22:0	0.58 ± 0.07	0.58 ± 0.09	0.58 ± 0.08	0.28 - 0.60
Lignoceric C24:0	0.21 ± 0.05	0.21 ± 0.06	0.21 ± 0.05	0.15
Sum saturated	17.12 - 17.36	17.44 - 17.69	17.36 - 17.58	9.43 - 23.55
Mono-unsaturated				
Palmitoleic C16:1	< 0.10 - 0.19	< 0.10 - 0.19	< 0.10 - 0.17	< 0.10 - 0.48
Oleic C18:1	22.7 ± 2.30	23.0 ± 3.28	23.6 ± 3.70	14 - 34
Gadoleic C20:1	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.14 - 0.35
Erucic C22:1	< 0.10 - 0.29	< 0.10 - 0.35	< 0.10 - 0.34	ND
Sum mono-unsaturated	23.05 - 23.53	23.31 - 23.85	23.9 - 24.41	14.14 - 34.83
Poly-unsaturated				
Linoleic C18:2	51.8 ± 1.83	51.3 ± 2.86	50.9 ± 2.99	48 - 60
Linolenic C18:3	7.35 ± 0.97	7.25 ± 1.05	7.22 ± 1.08	2 - 10
Sum poly-unsaturated	59.23	58.63	58.16	50 - 70
Sum of total fatty acids	99.4 - 100.12	99.38 -	99.42 -	-

SD: standard deviation

ND No data

^a Reference ranges from table 5 of appendix A

Aminosyrer i soyabønne

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. Analysene er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for soya (OECD 2001). Det er ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for aminosyrene, se tabell 6 og 7.

Tabell 6.

Total Amino Acids in Soybean seeds of Event A5547-127 and Non-GM Counterpart A5547 Compared to Commercial Soybean Varieties (Reference Ranges)

Total Amino Acid	% Dry matter			Reference Range ^a
	Comparator (A)	A5547-127 Not sprayed (B)	A5547-127 Sprayed (C)	
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	
Alanine	1.73 ± 0.15	1.73 ± 0.16	1.76 ± 0.14	1.51 - 2.10
Arginine	2.94 ± 0.22	2.95 ± 0.24	3.01 ± 0.25	2.17 - 3.40
Aspartic acid	4.74 ± 0.38	4.74 ± 0.37	4.75 ± 0.47	3.81 - 5.12
Cystine	0.64 ± 0.05	0.64 ± 0.06	0.65 ± 0.04	0.37 - 0.81
Glutamic acid	7.34 ± 0.47	7.33 ± 0.47	7.42 ± 0.48	5.84 - 8.20
Glycine	1.76 ± 0.19	1.75 ± 0.18	1.75 ± 0.14	1.46 - 2.27
Histidine	1.07 ± 0.05	1.07 ± 0.07	1.08 ± 0.05	0.84 - 1.22
Isoleucine	1.68 ± 0.18	1.69 ± 0.21	1.70 ± 0.18	1.54 - 2.32
Leucine	2.97 ± 0.14	2.98 ± 0.15	3.00 ± 0.14	2.2 - 4.0
Lysine	2.47 ± 0.11	2.48 ± 0.12	2.50 ± 0.10	1.55 - 2.84
Methionine	0.55 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.43 - 0.76
Phenylalanine	2.00 ± 0.12	2.01 ± 0.13	2.04 ± 0.12	1.60 - 2.39
Proline	2.11 ± 0.13	2.10 ± 0.13	2.14 ± 0.12	1.69 - 2.33
Serine	2.15 ± 0.16	2.09 ± 0.17	2.11 ± 0.17	1.11 - 2.48
Threonine	1.61 ± 0.11	1.59 ± 0.10	1.60 ± 0.13	1.14 - 1.89
Tryptophan	0.62 ± 0.06	0.62 ± 0.06	0.63 ± 0.06	0.36 - 0.67
Tyrosine	1.29 ± 0.17	1.28 ± 0.18	1.30 ± 0.18	0.10 - 1.61
Valine	1.78 ± 0.18	1.79 ± 0.22	1.81 ± 0.21	1.50 - 2.44

SD: standard deviation

^a Reference ranges from table 4 of appendix A in Oberdoerfer, 2008 [M-293249-02-1](#)

Tabell 7.

Results of the By-site t-Tests for Total Amino Acids

Summary t-test *)	A vs B		A vs C	
	significant	not significant	significant	not significant
Alanine	2	14	2	14
Arginine	1	15	2	14
Aspartic acid	2	14	1	15
Cystine	4	12	6	10
Glutamic acid	1	15	2	14
Glycine	1	15	-	16
Histidine	1	15	2	14
Isoleucine	4	12	4	12
Leucine	2	14	3	13
Lysine	3	13	2	14
Methionine	2	14	-	16
Phenylalanine	2	14	3	13
Proline	1	15	1	15
Serine	3	13	2	14
Threonine	2	14	-	16
Tryptophan	2	14	3	13
Tyrosine	2	14	3	13
Valine	3	13	3	13

*) N of sites with significant ($p < 0.05$) and not significant ($p \geq 0.05$) treatment differences

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty sprayed samples

C = transgenic, Liberty sprayed samples

Vitaminer og mineraler

OECDs konsensusdokument for soya har ikke satt opp vitaminer og mineraler som komponenter det skal måles for. ILSI Crop Composition Database (ILSI 2006) har listet opp vitaminene folinsyre, vitamin B1, vitamin B2 og vitamin E samt mineralene fosfor, jern, kalium, kalsium og magnesium som enkelte soyaprodusenter måler. Bayer har undersøkt følgende vitaminer og mineraler: vitamin B1, vitamin B2, vitamin E, folinsyre, fosfor, jern, kalium, kalsium, magnesium og natrium. Det er ikke funnet store statistiske forskjeller for vitaminer og mineraler, se tabell 7 og 8.

Tabell 8. Sammendrag av statistiske analyser for vitaminer og mineraler over de 16 lokalitetene.

Summary t-test *)	A vs B		A vs C	
	significant	not significant	significant	not significant
Calcium	6	10	6	10
Phosphorus	4	12	7	9
Potassium	-	16	1	15
Magnesium	3	13	5	11
Sodium	4	9	-	13
Sodium ^a	5	8	-	13
Iron	2	14	4	12
Iron ^b	3	13	4	12
Vitamin B1	4	12	5	11
Vitamin B2	1	15	1	15
Folic Acid	1	15	1	15
Total Vitamin E (Tocopherols)	6	10	8	8

- *) N of sites with significant ($p < 0.05$) and not significant ($p \geq 0.05$) treatment differences
A = non-transgenic, control samples
B = transgenic, not Liberty sprayed samples
C = transgenic, Liberty sprayed samples
^a 'not significant' was also assumed if all samples of a site were equal or below the limit of quantification for the two respective treatments
^b omitting an individual value of 2435 mg/kg dm

Tabell 9. Gjennomsnittverdier og standardavvik for de enkelte vitaminene og mineralene over de 16 lokalitetene.

Parameter	Unit	A	B	C
		MEAN ± STD	MEAN ± STD	MEAN ± STD
Calcium	%dm	0.31 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.33 ± 0.04
Phosphorus	%dm	0.68 ± 0.07	0.71 ± 0.07	0.71 ± 0.07
Potassium	%dm	2.17 ± 0.14	2.19 ± 0.12	2.21 ± 0.09
Magnesium	%dm	0.27 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.28 ± 0.03
Sodium (1999 and 2000)	%dm	0.0230 ± 0.0075	0.0292 ± 0.0060	0.0236 ± 0.0072
Sodium (2006)	%dm	0.0063 ± 0.0038	0.0064 ± 0.0042	0.0067 ± 0.0047
Iron	mg/kg dm	137 ± 343	87 ± 18	90 ± 23
Iron #	mg/kg dm	87 ± 17	87 ± 18	90 ± 23
Vitamin B1	mg/kg dm	11.77 ± 2.15	12.49 ± 1.81	12.69 ± 1.62
Vitamin B2	mg/kg dm	4.27 ± 0.94	4.19 ± 0.78	4.20 ± 0.89
Folic Acid	mg/kg dm	2.73 ± 0.78	2.67 ± 0.70	2.64 ± 0.75
Total Vitamin E (Tocopherols)	IU/kg dm	67.34 ± 44.84	90.88 ± 45.71	106.84 ± 60.92

#) omitting an individual value of 2435 mg/kg dm

Isoflavoner (fytøstrogener)

Valget av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for soya (OECD 2001). Mengdene av acetyldaidzin, acetylgenistin og acetylglycitin var lavere enn påvisningsgrensene. Det er funnet statistisk signifikante forskjeller for noen isoflavoner. For genistin, genistein, malonylgenistin, daidzin, daidzein, malonyldaidzin og glycitein er det ikke påvist statistiske forskjeller. For glycitin og malonylglycitin er det påvist statistiske forskjeller på henholdsvis fem og to av de seksten lokalitetene.

Tabell 10. Sammendrag av statistiske analyser for isoflavoner over de 16 lokalitetene.

Summary t-test *)	A vs B		A vs C	
	significant	not significant	significant	not significant
Daidzein	4	8	4	8
Daidzein ^a	4	9	4	10
Total Daidzin (aglucon equivalent)	5	11	5	11
Genistein	2	8	4	6
Genistein ^a	2	10	4	8
Total Genistin (aglucon equivalent)	2	14	5	11
Glycitein	3	6	4	5
Glycitein ^a	3	13	4	12
Total Glycitin (aglucon equivalent)	5	11	4	12
Total Isoflavones (aglucon equivalents)	3	13	4	12

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

Tabell 11. Gjennomsnittverdier og standardavvik for de enkelte isoflavonene over de 16 lokalitetene.

Parameter	Unit	A	B	C
		MEAN ± STD	MEAN ± STD	MEAN ± STD
Daidzein (1999 and 2000)	mg/kg dm	138 ± 101	91 ± 67	86 ± 77
Daidzein (2006)	mg/kg dm	33 ± 19	25 ± 7	26 ± 8
Total Daidzin (aglycone equivalent) (1999 and 2000)	mg/kg dm	404 ± 152	392 ± 166	380 ± 161
Total Daidzin (aglycone equivalent) (2006)	mg/kg dm	608 ± 108	600 ± 116	566 ± 111
Genistein (1999 and 2000)	mg/kg dm	136 ± 109	83 ± 68	78 ± 77
Genistein (2006)	mg/kg dm	26 ± 8	22 ± 6	22 ± 3
Total Genistein (aglycone equivalent) (1999 and 2000)	mg/kg dm	475 ± 188	476 ± 197	444 ± 203
Total Genistein (aglycone equivalent) (2006)	mg/kg dm	730 ± 165	724 ± 191	677 ± 150
Glycitein (1999 and 2000)	mg/kg dm	28 ± 30	15 ± 11	13 ± 11
Total Glycitein (aglycone equivalent) (1999 and 2000)	mg/kg dm	166 ± 31	178 ± 41	175 ± 41
Total Glycitein (aglycone equivalent) (2006)	mg/kg dm	190 ± 26	213 ± 24	208 ± 31
Total Isoflavones (aglycones equivalent) (1999 and 2000)	mg/kg dm	1044 ± 350	1049 ± 382	996 ± 384
Total Isoflavones (aglycones equivalent) (2006)	mg/kg dm	1551 ± 244	1536 ± 310	1464 ± 280

Oligosakkarider og antiernæringsstoffer

Valget av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for soya (OECD 2001). Når det gjelder parameteren raffinose er det funnet statistiske forskjeller på 9 av 16 lokaliteter mellom kontroll og herbicidbehandlet A5547-127. Verdiene for herbicidbehandlet A5547-127 er lavere enn for ubehandlet A5547-127. Imidlertid er verdiene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen. Mengden av coumesterol var lavere enn påvisningsgrensen. Det er ellers ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for lektiner og fytinsyre.

Tabell 12. Sammendrag av statistiske analyser for oligosakkarider og antiernæringsstoffer over de 16 lokalitetene.

Summary t-test *)	A vs B		A vs C	
	significant	not significant	significant	not significant
Raffinose	4	12	9^a	7^a
Stachyose	6	10	8	8
Phytic Acid	3	13	6	10
Trypsin inhibition	-	16	5	11
Lectin	2	13	2	13

*) N of sites with significant ($p < 0.05$) and not significant ($p \geq 0.05$) treatment difference
A = non-transgenic, control samples
B = transgenic, not Liberty sprayed samples
C = transgenic, Liberty sprayed samples
^a Figures in bold indicate that at the majority of sites significant differences were found

Tabell 13. Gjennomsnittverdier og standardavvik for oligosakkarider og antiernæringsstoffer over de 16 lokalitetene

Parameter	Unit	A	B	C
		MEAN ± STD	MEAN ± STD	MEAN ± STD
Raffinose	%dm	1.02 ± 0.24	0.95 ± 0.22	0.95 ± 0.19
Stachyose	%dm	4.19 ± 0.61	3.93 ± 0.62	4.03 ± 0.62
Phytic Acid	%dm	1.70 ± 0.18	1.75 ± 0.14	1.77 ± 0.19
Trypsin inhibiton	TIU/g dm	69008 ± 8729	70983 ± 8258	71598 ± 8284
Lectin	HU/mg dm	6.7 ± 3.0	6.6 ± 3.4	6.5 ± 3.3

3.3. Agronomiske egenskaper

I dokumentasjonen fra Bayer CropScience er det presentert data fra registreringer av følgende kvantitative karakterer; spiretidspunkt, plantetetthet, ”vitalitet”, blomstring (antall dager etter såing), plantehøyde, tidlighet (antall dager til modning) og avling. I tillegg ble det gjort observasjoner av ulike kvalitative karakterer knyttet til morfologi og resistens mot sjukdommer og skadedyr. Registreringene ble foretatt over to vekstsesonger. Det er foretatt statistiske analyser innen steder og år, og kombinerte analyser over steder og år for hver av de kvantitative karakterene. Resultatene fra parvise t-tester viste signifikante forskjeller ($p < 0,05$) mellom test- og kontrollinjen for 6 av 8 parametere på fra ett til fire av teststedene. Resultatene fra variansanalysen over steder og år viser signifikante forskjeller for karakterene plantetetthet ($p < 0,05$), blomstringstidspunkt, plantehøyde og tidlighet (alle $p < 0,01$) (Rattemeyer-Matschurat 2008). Det ble videre funnet signifikante genotype x miljø-samspill (med lokalitet og år) for parametrene blomstringstidspunkt og tidlighet ($p < 0.001$).

Resultatene fra ANOVA-analysene kommenteres ikke av søker. Det konkluderes imidlertid med morfologisk og agronomisk ekvivalens mellom den transgene linjen A5547-127 og den umodifiserte kontrollinjen A5547.

3.4. Delkonklusjon

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter viser statistiske forskjeller mellom soyalinjen A5547-127 og kontroll i enkeltparametre, men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene for de analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre soyasorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

Resultatene fra undersøkelsene av agronomiske og morfologiske karakterer viste signifikante forskjeller mellom den transgene soyalinjen A5547-127 og komparator for fire av de undersøkte kvantitative karakterene.

4. Dokumentasjon av toksisitet, allergisitet og næringsverdi

4.1. Toksisitet

Akutt toksisitetsstudie på mus ved intravenøs eksponering av renfremstilt PAT-protein

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

Fôringsforsøk på rotter 14 dager

Fôringsforsøkene med renfremstilt PAT-protein ble utført i henhold til OECDs retningslinjer "OECD guidelines for testing of chemicals no. 407, Repeated dose 28-days oral toxicity studies in rodents" 1995 og retningslinjer for god laboratoriepraksis (GLP) (OECD, sveitsiske retningslinjer og Japans MAFF-retningslinjer). Studien skiller seg fra OECDs retningslinjer ved at undersøkelsen strekker seg bare over 14 dager. Det er ikke funnet noen testrelaterte endringer hos rottene ved fôring med henholdsvis 7619 og 7965 mg/kg kroppsvekt/dag for hann- og hunnrotter.

Fôringsforsøk på broiler:

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 240 dyr, fordelt i to grupper. Dyrene ble fôret med henholdsvis varmebehandlet soya A5547-127 og umodifisert kontrollinje A5547. I tidlig vekstfase (0-18 dager) var andelen soya i fôret 18,24 %, mens soyafraksjonen i mellomvekstfasen (19-32 dager) og avslutningsfasen (33-42 dager) var henholdsvis 14,94 % og 11,69 %. Fôringsforsøket ble utført i 1997, dvs. før EUs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter. Det ble ikke påvist statistisk signifikante endringer ved fôring med soyamel fra A5547-127 sammenlignet med umodifisert kontroll A5547. Det er ikke utført forsøk med referansesorter av soya.

Fôringsforsøk på rotter

Bayer CropScience har ikke utført 13 ukers toksisitetstest på gnagere.

4.2. Allergenitet

PAT-protein

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

Det er foretatt undersøkelse av glykosylering av PAT-proteinet. PAT-proteinet er renfremstilt fra blad fra den genmodifiserte bomullsplanten. Analyse av eventuelle bundne suktermolekyler på PAT proteinet ble foretatt med GlycoProfileTMIII fluorescent detection kit. Det ble ikke påvist suktermolekyler på PAT- proteinet.

Da det ikke er funnet sekvenshomologi til allergene proteiner, glykosyleringssteder på PAT-proteinet og at mengden av PAT-proteinet i soya er ca. 0,02 % av totalt proteininnholdet konkluderes det med at det er lite sannsynlig at PAT-proteinet vil utgjøre et allergent potensiale for mennesker.

4.3. Delkonklusjon

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

Det er utført 14 dagers oral toksisitetsstudie på rotter og akutt-toksisk intravenøs eksponeringsstudie på mus med renfremstilt PAT-protein. Lengden på toksisitetsstudiet av PAT-proteinet var 14 dager, ikke 28 som anbefalt fra OECD. Det er også utført fôringsforsøk med broilere. Det er ikke påvist helseskader verken på mus, rotter eller broilere. Søker har ikke foretatt 13 ukers fôringsforsøk på rotter.

5. Miljørisikovurdering

Bayer CropScience sin søknad om godkjenning av den transgene soyalinjen A5547-127 under forordning 1829/2003/EF omfatter bruksområdene næringsmidler, fôrvarer, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen av A5547-127 er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert soya representere en mulig kilde til uønsket genspredning.

5.1. Potensiale for ikke tilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

Soya (*Glycine max* (L.) Merr.) er stedege i nordlige - og sentrale deler Kina, og regnes som en av verdens eldste kulturplanter (OECD 2000). Planten dyrkes kommersielt i over 35 land, med USA, Kina, Nord- og Sør-Korea, Brasil og Argentina som de dominerende produsentlandene (FAOSTAT 2006). I Europa dyrkes det soya først og fremst i Italia, Romania, Frankrike, Ungarn og Østerrike. Det er ingen produksjon av soya i Norge.

Dyrket soya er en ettårig art med nesten utelukkende selvbefruktning (~99 %) (Lu 2005). Frø av dyrkede former av soya har normalt ingen form for frøkvile. Lav frosttoleranse, predasjon, råte og spiring gjør at soyafrøene normalt ikke vil overleve til neste vekstsesong. Kravet til spiretemperatur er høyt og frøplantene er dessuten svært sensitive for lave temperaturer. Planten krever lang vekstsesong for frømodning. Under norske vekstforhold vil derfor eventuell planter spirt fra spillfrø ikke kunne reproducere.

Til tross for omfattende dyrking over mange år i Europa og USA er det ikke påvist noen risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder. Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som soya kan hybridisere med (OECD 2000). Soya hybridiserer med andre ettårige arter i underslekten *Soya*, dvs. den viltvoksende arten *G. soja* og ugrasformen *G. gracilis*. Begge artene er endemiske i Asia, og det er ikke observert forekomster av naturaliserte populasjoner verken i Europa eller Amerika (OECD 2000). Det er ikke rapportert om spontant hybridisering mellom soya og flerårige arter i underslekten *Glycine*.

Spredning av soya til andre habitater i Europa er i hovedsak begrenset av manglende frøkvile, liten toleranse for lave temperaturer og dårlig konkurransevne. Det er ikke påvist forskjeller mellom soyalinje A5547-127 og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene, og det er ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen vil medføre økt fitness utenfor dyrkingsmiljø i forhold til ikke-transgene sorter av soya.

5.2. Potensiale for genoverføring

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

5.2.1. Horisontal genoverføring

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

Ut fra dagens vitenskapelig innsikt med hensyn til barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer er det lite som tyder på at transgenene i A5547-127 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere ved detekterbare frekvenser i laboratoriestudier. Det er gjort forsøk som ser på stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen hvor mus er oralt tilført M13 DNA. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter fôring. Svært små mengder av M13 DNA (<0.1 %) kunne spores i blodbanene i en periode på maksimum 24 timer, mens M13 DNA ble funnet i opptil 24 timer i lever og milt (Schubbert *et al.* 1994). Ved oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood *et al.* 2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist GM DNA i feces. Nielsen *et al.* (2000) og De Vries & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det påvist svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og naturlig forekommende bakterier er usikkert, men siden de fleste transgenene inneholder rekombinerte DNA sekvenser fra jordbakterier kan dette ikke utelukkes (Bensasson *et al.*, 2004)

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra soya A5547-127 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr. Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil skje horisontal genoverføring av DNA-materiale fra A5547-127.

5.2.2. Vertikal genoverføring

Soya dyrkes ikke i Norge, og arten har ikke viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa. Utisiktet frøspredning i forbindelse med transport, håndtering og prosessering vil derfor ikke medføre risiko for spredning av transgener til økologiske eller konvensjonelt dyrkede sorter, eller til ville populasjoner og arter utenfor jordbruksområder i Norge.

Potensialet for krysspollinering mellom A5547-127 og konvensjonelt foredlete soyasorter i dyrkingsområder for soya i Europa vil avhenge av utisiktet frøspredning i forbindelse med transport, håndtering og prosessering. Det er imidlertid lite sannsynlig at sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt, og risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig. Herbicidtoleranse vil ikke representere noen selektiv fordel for spredning av soya i Europa.

5.3. Miljøovervåkingsplan

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

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

Søknaden EFSA/GMO/NL/2008/52 omfatter ikke dyrking, og potensiell miljøeksponering av den transgene soyalinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert soya representere en mulig kilde til uønsket genspredning. Miljørisikovurderingen som er presentert av søker identifiserer ingen endret risiko for miljø i forhold til annen soya. Bayer CropScience har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohandtering eller en særskilt plan for overvåking av denne eventen.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for A5547-127 anser Faggruppe for GMO at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av soyalinjen.

5.4. Delkonklusjon

Søknaden gjelder godkjenning av soyalinjen A5547-127 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer, og omfatter ikke dyrking. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert soya.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av soyalinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder. Soya dyrkes ikke i Norge, og arten har ikke viltvoksende sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av soyalinjen i naturlige habitater eller andre populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa. Det er derfor ikke risiko for utkryssing med dyrkede sorter eller ville planter i Norge.

6. Vurdering av søkers dokumentasjon

Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer med at søkers dokumentasjon er tilfredsstillende for vurdering av soyalinjen i tråd med miljø- og helsekravene i norsk genteknologilov med forskrifter. Videre finner faggruppen at EFSAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler og fôrvarer (EFSA 2006), samt OECDs konsensusdokument for soya (OECD 2001) er fulgt i denne søknaden.

KONKLUSJON

Faggruppe for genmodifiserte organismer vil påpeke at de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument for soya anbefaler analysert, er utført. Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene for de analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre soyavarieteter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at analysene av sentrale ernæringskomponenter er tilstrekkelige for en vurdering av soyalinjen til bruk som mat og fôr, og konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

På bakgrunn fra forsøk med PAT-proteinet som er dokumentert i denne søknaden og forsøk som Faggruppen tidligere har vurdert, konkluderer faggruppen med at det er lite sannsynlig at eksponering for PAT-proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via fôr fra den genmodifiserte soyaen, er helsemessig betenkelige for dyr.

Faggruppen konkluderer videre med at soyaolje fra A5547-127 er vesentlig lik olje fra umodifiserte soyabønne, og finner at bruk av olje fra A5547-127 ikke utgjør endret helserisiko enn kommersiell olje fra umodifiserte soyaplanter.

Faggruppen konkluderer med at andre matprodukter fra den transgene soyaen er vesentlig lik tilsvarende matprodukter fra umodifisert soya, og representerer ikke endret risiko for helse i forhold til matprodukter fra umodifisert soya.

Søknaden gjelder godkjenning av soyalinjen A5547-127 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter knyttet til dyrking av soyalinjen. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av soyalinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Soya dyrkes ikke i Norge, og arten har ikke viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa. Det er derfor ikke risiko for utkryssing med dyrkede sorter eller ville planter i Norge.

Samlet vurdering

Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det lite trolig at bruk av soyalinjen A5547-127 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen soya.

REFERANSER

- Agbios (2008). Agbios GM Database. Information on GM Approved Products.
<http://www.agbios.com/dbase.php>
- Bensasson, D., Boore, J. L. & Nielsen, K. M. (2004). Genes without frontiers. *Heredity*, **92**, 483-489.
- de Vries, J. & Wackernagel, W. (2002). Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(4), 2094-2099.
- EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal*, **48**, 1-18. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html
- EFSA (2006). *Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed*. ISBN: 92-9199-019-1. European Food Safety Authority, Parma, Italy. 100 p.
http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html
- EPA-FIFRA(1989). US Environmental Protection Agency, Title 40 CFR, Part 160-Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act (FIFRA); Good Laboratory Practice Standards, Final Rule.
- FAOSTAT (2006). <http://faostat.fao.org>
- Lid J.& Lid D.T. (2005). Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. 1230 s. ISBN: 82-521-6029-8.
- Lu, B.R. (2005). Multidirectional gene flow among wild, weedy and cultivated soybeans. *In: (Gressel J ed.): Crop Fertility and Volunteerism*. CRC- Taylor and Friends (Boca Raton): 137-147.
- 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*nptII*) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Applied Environmental Microbiology*, **66**, 1237-42.
- Nielsen K. (2003). An assessment of factors affecting the likelihood of horizontal transfer of recombinant plant DNA to bacterial recipients in the soil and rhizosphere. Collection of Biosafety Reviews (Italy), Vol. 1. pp. 96-149.
- OECD (1997). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice AND Compliance Monitoring, Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice (revised 1997) ENV/MC/CHEM (98)17.
- OECD (2000). Consensus Document on the Biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). *Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15 document, ENV/JM/MONO (2000)9*.
[http://www.olis.oecd.org/olis/2000doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono\(2000\)9](http://www.olis.oecd.org/olis/2000doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono(2000)9)

- OECD (2001). Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Soybean: Key Food and Feed Nutrients and Anti-nutrients. *Series of Safety of Novel Foods and Feeds No. 2 document, ENV/JM/MONO (2001)15*. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
[http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono\(2001\)15](http://www.olis.oecd.org/olis/2001doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono(2001)15)
- 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 1998:591. ISBN 92-893-0263-1.
- 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.