



Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

9.05.08

Helse- og miljørisikovurdering av Monsanto's genmodifiserte mais MON 89034 (EFSA/GMO/NL/2007/37)

SAMMENDRAG

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen MON 89034 fra Monsanto (EFSA/GMO/NL/2007/37) er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maislinjen MON 89034 til bruk i næringsmidler og fôrvarer, men ikke for dyrking.

Vurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA.net. I tillegg er det benyttet informasjon fra uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. MON 89034 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven, forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, forordning 1829/2003/EF, samt kravene i EUs utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser. Videre er EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002) lagt til grunn for vurderingen. Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosess og vektorkonstruksjon, karakterisering og nedarving av genkonstruksjonen, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, metabolitter, antinæringsstoffer, allergener, proteiner, samt agronomiske egenskaper, potensiale for ikke-intenderte effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer.

Maislinjen MON 89034 er fremkommet ved *Agrobacterium*-mediert transformasjon av umodne maisceller fra en ikke navngitt foreldrelinje. MON 89034 har fått innsatt de bakterielle genene *cryIA.105* og *cry2Ab*. *CryIA.105* er et syntetisk gen som består av sekvenser fra genene *cryIAb*, *cryIAc* og *cryIF*. *CryIAb*, *cryIAc* og *cryIF* genene stammer fra *Bacillus thuringiensis* subsp. *Cry2Ab2* stammer fra bakterien *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*. *CryIA.105*- og *cry2Ab2*-genene koder for δ -endotoksiner som gir plantene toleranse mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*. Produkter av MON 89034 vil bli markedsført under handelsnavnet YieldGard VT PRO™¹.

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Det ble bemerket at noen av de komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais ikke er utført. Det er funnet statistiske forskjeller for enkelte komponenter. De statistiske forskjellene for disse komponentene er ikke konsistente da forskjellene som er påvist i enkelte forsøksfelt, ikke er påvist i de andre forsøksfeltene. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av maislinjen MON 89034 til bruk som mat og fôr. Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om de uttrykte toksinene Cry1A.105 og Cry2Ab2 kan ha adjuvanseffekter.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maisen MON 89034 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos næringsmidler og fôrvarer fra MON 89034 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1A.105 og Cry2Ab2 i maiskorn kan være 3 µg/g tørrvekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av det beslektede Cry1Ac.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen MON 89034 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 89034 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Faggruppen finner det lite trolig at bruk av maislinjen MON 89034 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais, men påpeker kunnskapshull knyttet til om Cry-proteiner i MON 89034 kan virke som adjuvant.

NØKKELORD

Genmodifisert mais, MON 89034, insektsresistens, *cry1A.105*, *cry2Ab2*, helsemessig trygghet, helse, adjuvans, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF

INNHOLDSFORTEGNELSE

SAMMENDRAG	1
VURDERT AV (MEDLEMMER AV FAGGRUPPE GENMODIFISERTE ORGANISMER)	3
BAKGRUNN	4
OPPDRAG FRA MATTILSYNET OG DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING.....	4
RISIKOVURDERING	5
KONKLUSJON	18
REFERANSER	19

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

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

Koordinatorer fra sekretariatet:

Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning om å foreta en vitenskapelig vurdering av helse- og miljørisiko ved en eventuell godkjenning av den genmodifiserte maislinjen MON 89034 fra Monsanto Europe S.A. (EFSA/GMO/NL/2007/37). MON 89034 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, og ble fremmet og anbefalt av nederlandske myndigheter i januar 2007. Søknaden ble lagt ut på EFSA-nett 24. august 2007, med frist på 90-dager for innspill fra EU- og EØS/EFTA-landene. Norge har ikke tidligere uttalt seg om maislinjen MON 89034.

Maislinjen har vært notifisert i Frankrike, Tyskland, Spania, Romania og Slovakia under del B av direktiv 2001/18 vedrørende utsetting av GMO i miljøet (<http://gmoinfo.jrc.it/>). MON 89034 er også søkt godkjent for omsetning i USA, Canada og Colombia.

OPPDRAK FRA MATTILSYNET OG DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING

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/2007/37, genmodifisert maislinje MON 89034, ble lagt ut på EFSA-nett 24. august 2007. Faggruppe for genmodifiserte organismer skal i tråd med oppdragsbrev utarbeide helse- og miljørisikovurdering av maislinjen til import og industriell prosessering, samt til bruk som næringsmiddel og fôrvarer. Søknaden omfatter ikke dyrking. Vurderingen skal utføres i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med prinsippene som er nedfelt i EFSA-s retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter ("Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (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

Genmodifisert mais, EFSA/GMO/NL/2007/37 (MON 89034).

Unik kode: MON-89034-3.

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSA-s frist for innspill er 24.11.07.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet/DN: 24. november 2007.

RISIKOVURDERING

1. Innledning

Helse- og miljøvurderingen av den genmodifiserte maislinjen MON 89034 er gjort i henhold til tiltenkt bruk og basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAAs nettside GMO EFSAAnet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. I henhold til Monsanto er søknaden for import og bruk som næringsmidler, fôrvarer og industrielle produkter, ikke for dyrking. Primærbruken av maiskorn i Norge i dag er til dyrefôr, men mais brukes også til industriell produksjon av etanol, maismel, popkorn, raffinert stivelse og søtningsprodukter.

Vurderingen er gjort i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven, forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, forordning 1829/2003/EF, samt kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser. Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSAAs retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSAAs dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006).

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 maisen.

1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

Maisen MON 89034 er dannet ved *Agrobacterium*-mediert transformering av umodne maisceller fra en ikke navngitt foreldrelinje. MON 89034 har fått innsatt det syntetiske genet *cryIA.105* og det bakterielle genet *cry2Ab2*. Genene er isolert fra *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* og *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*. *CryIA.105*- og *cry2Ab2*-genene koder for δ -endotoksiner som gir plantene toleranse mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis *Ostrinia nubilalis* (maispyralide), *Sesamia* ssp., *Agrostis ipsilon* (stort jordfly), *Spodoptera* ssp. ('fall armyworm') og *Helicoverpa zea* ('corn earworm').

2. Molekylær karakterisering

2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

Til transformasjon er brukt *Agrobacterium*-mediert transformering av umodne maisceller. Plasmidet PV-ZMIR245 som inneholder to rekombinante DNA fragmenter, ble benyttet til å transformere celler fra en umodifisert maislinje som ikke er navngitt i søkers dokumentasjon. De to rekombinante-DNA fragmentene (T-DNA I og T-DNA II) er satt inn i maisgenomet. T-DNA I inneholder en *cryIA.105*- og en *cry2Ab2*-ekspresjonskassett, mens T-DNA II inneholder en *nptII* ekspresjonskassett. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og

vokste i nærvær av paromomycin. Påfølgende innavl av F1-generasjonen førte til at T-DNA I (*cryIA.105/cry2Ab2*-kassetten) ble segregert fra T-DNA II (*nptII*-kassetten). MON 89034-plantene inneholder bare rekombinant DNA-fragment som inneholder *cryIA.105* og *cry2Ab2* genkassetten (T-DNA I), mens planter som inneholder *nptII*-kassetten (T-DNA II) ble eliminert. T-DNA I fragmentet inneholder to ekspresjonskassetter. Den ene kassetten inneholder ekspresjonskassetten som koder for Cry1A.105 protein og som inneholder promotoren P-e35S samt ledesevens for blomkålmosaikkvirus (CaMV) 35S RNA, 5' ikke-translatert ledesevens hvete klorofyll a/b/ bindingsprotein (L-Cab), intron fra ris aktingen (I-Ract1), *cryIA.105* sekvenser som er optimalisert for ekspresjon i enfrøbladet planter, og 3' ikke-translatert sekvens fra hvete "heat shock"-protein 17.3 (T-Hsp17), som avslutter transkripsjonen. *Cry2Ab2* ekspresjonskassetten, som danner CryAb2-proteinet, består av 35S promoter fra brunrot mosaikkvirus (P-FMV), I-Hsp 70 det første intronet fra mais "heat shock" protein-70 genet, *cry2Ab2* sekvens med et modifisert kodon *CS-cry2Ab2* som er limt til et kloroplast overføringspeptid fra mais ribulose 1,5-difosfat karboksylase "small subunit" inkludert det første intronet (TS-SSU-CTP), samt 3'-ikketranslatert område fra nopalinsyntase (T-nos) området fra *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA, som terminerer transkripsjonen. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen.

2.2. Karakterisering av geninnsettingen/ genkonstruksjonen

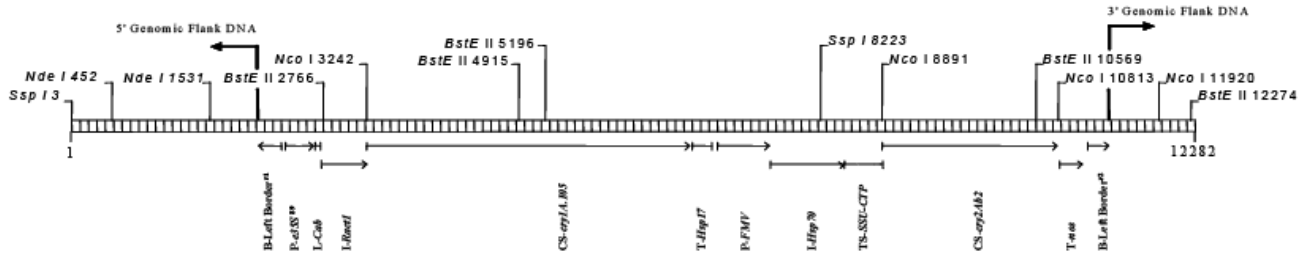
Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av det rekombinant DNA-fragmentet i maisens genom. Dette fragmentet inneholder:

cryIA.105 ekspresjonskasset

- a) *P-e35S* promotor og 9 bp ledesevens fra blomkål mosaikkvirus (CaMV) 35S RNA
- b) *L-Cab* 5' ledesevens hvete klorofyll a/b/ bindingsprotein, uttrykkes ikke i planten
- c) *ract1* intron intron fra risaktin- genet
- d) *CS-CryIA.105* syntetisk gen med sekvenser fra genene *cryIAb*, *cryIAc* og *cryIF*, genene stammer av *Bacillus thuringiensis*, se figur 2
- e) *T-Hsp17* 3' DNA sekvens som avslutter transkripsjonen, kommer fra hvete "heat shock" protein 17.3, uttrykkes ikke i planten

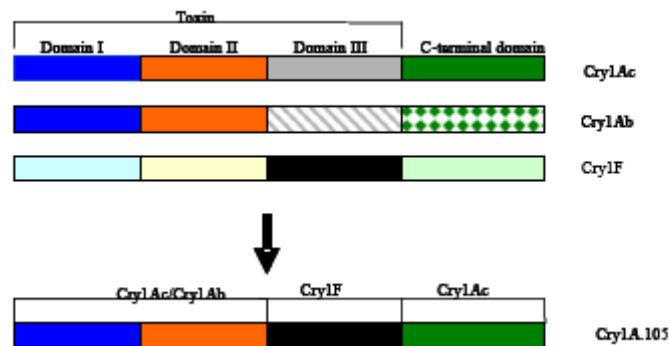
cry2Ab2 ekspresjonskasset

- a) *P-FMV* 35S promoter fra brunrot mosaikkvirus
- b) *I-Hsp 70* det første intronet fra mais "heat shock" protein-70 genet
- c) TS-SSU-CTP kloroplast overføringspeptid fra mais ribulose 1,5-difosfat karboksylase "small subunit," inkludert det første intronet.
- d) *cry2Ab2* gen som koder et syntetisk Cry2Ab2-protein, fra *Bacillus thuringiensis*
- e) *T-nos* 3' DNA sekvens som avslutter transkripsjonen, kommer fra nopaline syntase (nos) genet fra *Agrobacterium tumefaciens*, uttrykkes ikke i planten.



Figur 1. Rekombinant T-DNA I fragment i maisens genom.

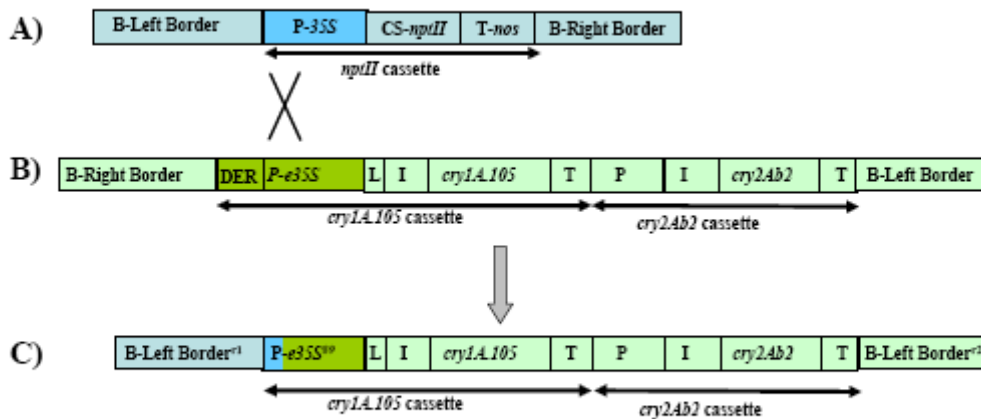
Den genmodifiserte maislinjen MON 89034 uttrykker insektsresistens. Bakgrunnen for insektsresistens er at planten uttrykker en variant av bakterieproteinene Cry1A.105 og Cry2Ab2. Cry1A.105- og Cry2Ab2-proteinene, som uttrykkes av *cry1A.105*- og *cry2Ab2*-genene, er toksiner som gir planten toleranse mot arter fra ordenen *Lepidoptera*. Cry1A.105-proteinet er et kimært protein som består av domenene I og II fra Cry1Ac eller Cry1Ab samt domene III fra Cry1F. C-terminal aminosyreseskvensene i domenene fra Cry1Ac-, Cry1Ab- og Cry1F-bakterieproteinene har 100 % aminosyresekvensidentitet til de tilsvarende delene av domenene I og II i det syntetiske proteinet Cry1A.105, se figur 2. Cry1A.105-proteinets aminosyresekvensidentitet til Cry1Ac-, Cry1Ab-, og Cry1F- proteinene er på henholdsvis 93,6 %, 90,0 %, og 76,7 %. Basesequensene i det syntetiske *cry1A.105*-genet og bakteriegenet *cry2Ab2* stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*.



Figur 2. Skjematisk tegning over domenen i Cry1A.105 og deres likhet til tilsvarende domener i *cry1Ab*, *cry1Ac* og *cry1F*.

Molekylærbiologiske analyser viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende T-DNA I fragmentet i plasmidet PV-ZMIR245. Både Cry1A.105- og Cry2Ab2- proteinet som uttrykkes i maiskorn er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE og densitometri, trypsinbehandling av proteinene og peptidkartlegging med MALDITOF massespektrometri, Southern blot, analyse av N-enden til proteinet, samt glykosyleringsanalyse. Proteinene er undersøkt for enzymaktivitet samt med bioaktivitetsassay mot målorganismer. Analysene viser at Cry1A.105- og Cry2Ab2- proteinene er strukturelt og funksjonelt like de *E. coli*-produserte proteinene. Det ble ikke påvist glykoliseringssteder på proteinene.

PCR-analyser av det rekombinante DNA fragmentet på 9317 bp i MON 89034 viser at flankesekvensene til fragmentet er genomisk DNA fra mais. Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er sekvensert, ca. 200 bp oppstrøms (5'-enden til genet) og ca. 200 bp nedstrøms (3'-enden til genet). I den genomiske 3'-enden er det påvist en deleksjon på 57 bp i MON 89034 i forhold til umodifisert mais, i tillegg er det i 5'-enden påvist et innskudd på 10 bp. PCR analysene viser at både *cry1A.105* og *cry2Ab2* DNA-sekvensene er identiske til de korresponderende sekvensene på plasmidet PV-ZMIR245. Sekvenseringsdata viser at e35S promoteren, som regulerer ekspresjonen av *cry1A.105*, er blitt modifisert til en kortere versjon ved at det ikke inneholder det dupliserte forsterkerelementet. Høyre grense, dvs 5'-enden, til T-DNA I fragmentet i plasmidet PV-ZMIR245 er fjernet ved innsetningen og erstattet med en forkortet versjon av venstre grense, se figur 3. Ved bruk av Southern metode ble det ikke påvist T-DNA II elementer, dvs. *npII*-genet og unike T-DNA II DNA sekvenser, i MON 89034..



Figur 3. Beskrivelse av rekombinasjonsprosessen som viser modifiseringen i 5'-enden av innskuddet.

Faggruppen mener at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet og analysene av planteproduert Cry1A.105- og Cry2Ab2-protein fra MON 89034 er tilfredsstillende. Analyse av biologisk aktivitet av Cry-proteinene mot målorganismer viser ingen forskjell mellom plante- og bakterieproduert protein. Fordøyelighetstest av Cry1A.105 og Cry2Ab2 viste at proteinet fordøyes raskt i simulert magesaft. Cry1A.105- og Cry2Ab2-proteinet består av en proteaseresistent og en proteasefordøyelig del. I insektarmen vil den proteasefordøyelige delen spaltes til aminosyrer, mens den resistente delen ikke blir fordøyd. I simulert tarmsaft fra mennesker fordøyes fullengde proteinet raskt. Den proteaseresistente delen av proteinet er etter 24 timer spaltet i minst 3 biter.

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

Mengde Cry1A.105 og Cry2Ab2 protein i korn er målt til henholdsvis $5,9 \pm 0,77$ $\mu\text{g/g}$ tørrvekt (Variasjonsbredde = 4,7 – 7,0) og $1,3 \pm 0,36$ $\mu\text{g/g}$ tørrvekt (Variasjonsbredde = 0,77 – 2,1), og i furasje til henholdsvis $42 \pm 9,4$ $\mu\text{g/g}$ tørrvekt (Variasjonsbredde = 20 – 56) og 38 ± 14 $\mu\text{g/g}$ tørrvekt (Variasjonsbredde = 15 – 55). Prøvene som er analysert stammer fra fem

feltforsøk utført i USA i 2005. Det er tatt ut tre prøver fra hvert feltforsøk. I feltforsøkene i Argentina er mengde av Cry1A.105- og Cry2Ab2- protein i korn målt til henholdsvis $2,6 \pm 0,36$ µg/g tørrvekt (Variasjonsbredde = 1,9 – 3,2) og $0,95 \pm 0,16$ µg/g tørrvekt (Variasjonsbredde = 0,67 – 1,3). Prøvene som er analysert stammer fra fem feltforsøk fra vekstsesongen 2004-2005. Det er tatt ut tre prøver fra hvert feltforsøk.

Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme v.h.a. allergen (AD6)-, toksin(TOXIN5)- og peptid(ALLPEPTIDES)-databasene viser ingen biologisk relevante strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at det er lite sannsynlig at det dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske, allergene eller har uheldige helsemessige konsekvenser.

2.4 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Krysning over syv generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjoner viser at det rekombinante *cry1A.105* og *cry2Ab2* er stabilt inkorporert i maisgenomet.

2.5 Delkonklusjon

Faggruppen har vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinene og finner at informasjonen er tilstrekkelig. Faggruppen konkluderer at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON 89034 er tilfredsstillende.

3. Komparative analyser

3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

Søker opplyser at det er foretatt analyser av ernæringsmessige viktige komponenter av prøver fra maislinjen MON 89034. Prøvene som er analyserte stammer fra fem feltforsøk utført i USA i 2004 og fem forsøk i Argentina i vekstsesongen 2004-2005. Det er tatt ut prøver fra tre blokker fra hvert felt. Analysene omfatter også en umodifisert kontrollhybrid (LH198 × LH172) og femten forskjellige umodifiserte kommersielle referansesorter.

Statistiske analyser

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

3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

Valg av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det er foretatt forskjellige analyser av hovedkomponenter for fôr og korn. For fôr ble det analysert for aske, fett, protein, vann, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), fosfor, kalsium og karbohydrater. For korn ble det analysert for protein, fett, aske,

karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, karbohydrater, vann, aminosyrer, fettsyrer (C8-C22), fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, vitaminene B1, B2, B6, E, folinsyre og niacin, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-kumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP). Femten komponenter ble ekskludert fra statistisk analyse fordi >50 % av observasjonene var ved eller lavere enn kvantifiseringsgrensen. Fra feltforsøkene i USA er det funnet 16 signifikante statistiske forskjeller ($p < 0,05$) av 248 statistiske sammenligninger, 4 parallelle prøver x 62 komponenter fra korn og fôr. Fra feltforsøkene i Argentina er det funnet 39 signifikante statistiske forskjeller ($p < 0,05$) av 296 statistiske sammenligninger, 5 parallelle prøver x 52 komponenter fra korn og 4 parallelle prøver x 9 komponenter fra fôr. For disse signifikante forskjellene ligger verdiene innenfor 99 % toleranseintervall, og innenfor typiske verdier for mais som er rapportert i litteraturen.

Fettsyresammensetning i maiskorn

Fettsyresammensetningen for MON 89034 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for 22 fettsyrer. Av disse ble 13 ekskludert fra statistiske analyser fordi mengdene var lavere enn deteksjonsgrensene. For fem fettsyrer er det funnet statistiske forskjeller innenfor enkelte felt i USA og for 3 fettsyrer i Argentina. Statistisk analyser over alle feltene viser statistiske forskjeller på under 10 % for 5 fettsyrer fra feltene i USA og under 5 % for 3 fettsyrer fra feltene i Argentina. Alle verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. Det er funnet statistiske forskjeller for 14 aminosyrer i ett av de fem forsøksfeltene i USA for 2005. Det er funnet statistiske forskjeller for 2 aminosyrer i ett av de fem forsøksfeltene i Argentina for 2004-2005. Verdien ligger innenfor et område på 12 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer

Vitaminer som det i henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør undersøkes for, er B1, B2, B6, E, folinsyre, niacin, vitamin A og vitamin C. Følgende vitaminer er ikke målt: vitamin A og vitamin C. For de fleste vitaminene som er målt ligger de statistiske forskjellene innenfor 20 %, og innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen. For vitamin B2 er den statistiske forskjellen på ca 10 % når alle feltene kombineres i feltforsøkene i Argentina. Det er ikke påvist statistiske forskjeller for vitamin B2 når alle feltforsøkene kombineres i USA. Det er imidlertid funnet statistiske forskjeller for folsyre på ca 14 % når alle feltene kombineres i de amerikanske feltforsøkene. Tilsvarende forskjell i folsyreinnholdet er ikke påvist for de argentinske feltforsøkene.

Mineraler

Med unntak for selen er mineralene som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Natriuminnholdet var lavere enn påvisningsgrensen. For mangan er det funnet statistiske forskjeller når alle feltene kombineres i de argentinske feltforsøkene. For feltforsøkene i USA er det ikke funnet slike statistisk forskjeller for mangan når alle feltene kombineres. Imidlertid er det funnet statistiske forskjeller for fosfor når alle feltene i USA kombineres. Forskjellen for flertallet av de andre mineralene ligger innenfor 20 % og innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. For kobber, fosfor, kalsium, jern og mangan er det for et eller flere (mindre enn 5) forsøksfelt i USA funnet

forskjeller på mellom ca. 10-47 %. Verdiene for alle mineralene ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen.

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer

For ferulsyre er det funnet statistiske forskjeller når alle feltene i Argentina kombineres, men ikke innenfor de enkelte feltene. For p-kumarsyre er det både i USA og Argentina funnet statistiske forskjeller innenfor ett av de fem forsøksfeltene. Det er ellers ikke funnet store statistiske forskjeller for de andre sekundære metabolitter og antinæringsstoffer. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA.

3.3. Agronomiske egenskaper

Søker opplyser at det er gjennomført feltforsøk med maislinjen MON 89034 på til sammen 18 lokaliteter i USA i 2004 og 2005. Forsøksfeltene ble lagt ut på ulike steder i de to forsøksårene, og det foreligger derfor kun observasjoner fra en vekstsesong for hver lokalitet. En rekke kommersielt tilgjengelige hybridsorter ble benyttet som referansmateriale i forsøkene. I tillegg ble det benyttet ikke-transgene maislinjer med tilsvarende genetisk bakgrunn som kontroll (H1325023, DKC51-43). Det er foretatt registreringer av karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst, sjukdoms- og insektresistens, samt toleranse mot ulike abiotiske stressfaktorer (tørke, vind, næringsmangel etc.). Resultatene viser signifikante forskjeller ($p \leq 0,05$) mellom MON 89034 og kontrollinjen for karakterene plantehøyde og lengde i 2004-forsøkene. Gjennomsnittsverdiene for disse karakterene ligger imidlertid innenfor variasjonsområdene for referansesortene som er presentert i søknaden. For de øvrige agronomiske og morfologiske egenskapene ble det ikke funnet signifikante forskjeller. Med bakgrunn i manglende registreringer over flere vekstsesonger er alle statistiske analyser foretatt innen år. Det er derfor ikke mulig å vurdere effekt av år eller stabilitet over år for de fenotypiske egenskapene.

I tillegg til feltforsøkene er det er foretatt spiretester i vekstkamre under ulike temperaturregimer. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom den transgene linjen og kontrollsorter med hensyn på de undersøkte parametrene knyttet til frøkvile og spiring. Undersøkelser av pollendiameter og -vitalitet viste at uttrykk av Cry1A.105- og Cry2Ab2-proteiner ikke har effekt på morfologi og vitalitet av pollen fra MON 89034.

3.4. Delkonklusjon

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter viser statistiske forskjeller i enkeltparametre. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen mener at de forskjellene som er påvist ikke medfører endret risiko.

Resultatene fra undersøkelsene av agronomiske og morfologiske karakterer viser at, med unntak for toleranse mot målorganismene, er det ingen eller små forskjeller mellom MON 89034 og kontrollsorter. Data som presenteres av søker er begrenset til en vekstsesong for hvert forsøkssted.

4. Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet

4.1. Toksisitet

Akutt oral fôringsstudie på mus med renfremstilte Cry- proteiner

Monsanto har i 2005 utført akutt oral fôringsstudier på mus med renfremstilt Cry1A.105 og Cry2Ab2 produsert av *E. coli*. Studiene er utført i henhold til retningslinjene fra EPA (OPPTS 870.1100), EEC (B.1) og OECD (akutt toksisitetstest nr. 401). I studiene ble det benyttet 10 hann og 10 hunn mus. For kontroll ble det benyttet serumalbumin.

Cry1A.105

Cry1A.105 og serumalbumindosen var henholdsvis 2072 og 1998 mg/kg kroppsvekt. Etter 14 dagers observasjonsperiode ble alle dyrene avlivet. Det er utført patologiske undersøkelser. Det er ikke påvist testrelaterte skader på dyrene.

Cry2Ab2

Cry2Ab2- og serumalbumindosen var henholdsvis 2198 og 2424 mg/kg kroppsvekt. Etter 14 dagers observasjonsperiode ble alle dyrene avlivet. Det er utført patologiske undersøkelser. Det er ikke påvist testrelaterte skader på dyrene.

Ut fra dosene som ble benyttet i fôringsforsøkene har Monsanto foretatt en beregning av antatt eksponeringssikkerhetsmargin (margin of exposure (MOE)). Monsanto har benyttet et høyest tenkelig inntak per dag av Cry1A.105 og Cry2Ab2 fra maiskorn på henholdsvis 13,2 og 0,4 µg/kg kroppsvekt for småbarn (vekt 14,5 kg), og 25,8 og 0,77 µg/kg kroppsvekt for voksne (vekt 70 kg). MOE ble for Cry1A.105 og Cry2Ab2 kalkulert til henholdsvis $\geq 1,57 \cdot 10^5$ og $\geq 5,55 \cdot 10^6$ for småbarn, og $\geq 0,8 \cdot 10^5$ og $\geq 2,84 \cdot 10^5$ for voksne. En MOE på ≥ 100 for akuttoksiske stoffer er generelt regnet for være et rimelig beskyttelsesnivå for mennesker. I henhold til Monsanto's utregninger blir da det høyeste tenkelige inntaket av Cry1A.105 og Cry2Ab2-proteinet per dag for småbarn henholdsvis 190 µg og 5,8 µg, og for voksne henholdsvis 1806 µg og 54 µg. Monsanto har ikke foretatt vurdering av eventuell adjuvanseffekt av Cry1A.105 og Cry2Ab2-proteinene.

Fôringsforsøk på broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 600 dyr, fordelt i seks grupper. Dyrene ble fôret med mais fra MON 89034, en umodifisert kontrollhybrid(13250.23) og fire kommersielle umodifiserte referansesorter. I henhold til dokumentasjonen for de 42-dagers fôringsforsøkene, er den gjennomsnittlige mengde maiskorn (59,6 % i fôret) som dyrene ble fôret med på 22 g/kg kroppsvekt/dag for hanner og hunner. Mengde Cry1A.105 og Cry2Ab2 i maiskorn er oppgitt til henholdsvis 60 µg/g (tabell 30 i Technical dossier) og 0,18 µg/g (tabell 32 i Technical dossier). Broilernes dagelige eksponering for Cry1A.105 og Cry2Ab2 blir dermed henholdsvis 1300 µg/kg kroppsvekt/dag og 35 µg/kg kroppsvekt/dag. Det ble påvist statistiske forskjeller mellom MON 89034 og kontroll med hensyn på justert fôrkonvertering. Det ble ikke påvist vesentlige endringer ved fôring med maiskorn fra MON 89034 og tre av de fire referansehybridene.

Subkronisk fôringsforsøk på rotter

Det ble utført et 13 ukers fôringsforsøk med hann- og hunnrotter, 3 grupper à 20 rotter/kjønn. Fôret bestod av 11 % og 33 % maiskorn fra MON 89034-planter og 33 % korn fra kontrollen. Høyeste mengde korn (33 %) dyrene ble fôret med var 24,8 g/kg kroppsvekt/dag for hanner og 28,9 g/kg kroppsvekt/dag for hunner. Dagelig eksponering for Cry1A.105 for hanner og

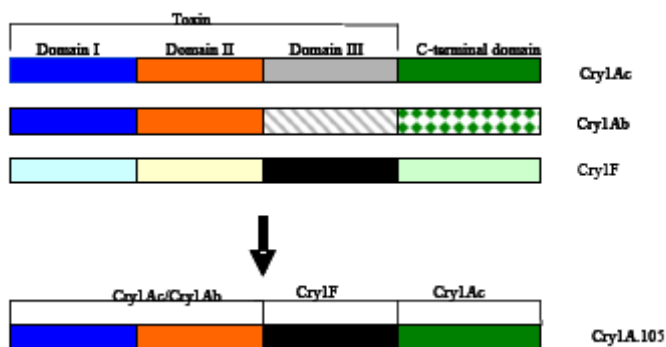
hunner er henholdsvis 1500 µg/kg kroppsvekt/dag og 1700 µg/kg kroppsvekt/dag, og eksponering for Cry2Ab2 er henholdsvis 40 µg/kg kroppsvekt/dag og 50 µg/kg kroppsvekt/dag. Det er utført makroskopiske og mikroskopiske undersøkelser av organene, samt klinisk patologisk undersøkelser av urin og blod fra 10 dyr i hver gruppe. Det ble ikke påvist noen vesentlige endringer i de undersøkte parametrene. Føringforsøket er blitt utført i henhold til OECDs retningslinjer nummer 408, subkroniske tester på dyr (Guidelines for Testing of Chemicals, Health Effects Test Guidelines, Section 408).

4.2. Allergenitet:

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 inhalasjonseksponering. Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinene. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallproteinene.

Monsanto har utført undersøkelser for allergenitet ved å sammenligne Cry-proteinenes aminosyresekvens til allergene proteiner. Det er ikke påvist store strukturelle likheter til allergene proteiner. Cry-proteinene er undersøkt for stabilitet i simulerte mage-tarmsafer. I simulert magesaft kataboliseres begge proteinene hurtig. De er brutt ned i løpet av 30 sekunder. Undersøkelser med tarmsaft viser at den alkalie-stabile delen av cry-proteinene er stabil i tarmsaft mer enn 24 timer.



Adjuvans

Det har ikke vært utført immunologiske studier med de transgene produktene. Det er vist at Cry1Ac-proteinet binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot proteiner gitt samtidig (Vazquez-Padron *et al.* 2000a, Vazquez *et al.* 1999, Moreno-Fierros *et al.* 2003, Rojas-Hernández *et al.* 2004). Immunologisk kartlegging av systemisk og mucosal immunreaksjon på Cry1Ac har videre påvist at mus lager både systemisk IgM, IgG og sekretorisk IgA etter intraperitoneal og intragastrisk immunisering (Vazquez-Padron *et al.* 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer Cry2Ab2 toksinet som den transgene maislinjen lager. Domene II fra 1Ab og 1Ac er til stede i Cry1A.105. Det er vist at domene II fra Cry1Ab og Cry1Ac genererer ulik immunologisk respons i kanin (Vazquez-Padron *et al.* 1998). I en annen studie er det vist at Cry1Ac hadde utpreget mucosal adjuvanseffekt ved å potensere IgM-, IgG- og IgA-responsen mot hepatittvirusantigen og bovint serumalbumin som ble gitt med sondeføring samtidig med Cry1Ac (Vazquez *et al.* 1999). Produksjonen av IgE-antistoff, som er knyttet til allergisk reaksjon, ble ikke målt. Også i tidligere studier (Prasad & Shetna 1975) er det påvist

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

Det er mulig at Cry2Ab2 som benyttes i MON 89034, kan ha tilsvarende effekter som vist for det beslektede Cry1Ac-proteinet. Cry1A.105 inneholder domene II fra Cry1Ac-proteinet og det er mulighet for at Cry1A.105 har tilsvarende effekt som Cry1Ac-proteinet, som induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og økt reaksjon mot proteiner gitt samtidig. Dersom Cry1A.105 og Cry2Ab2 har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i noen områder, bl.a. Nord-Italia. Man ville vente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. IgE ble ikke målt i de refererte studiene av adjuvanseffekt av Cry1Ac-proteinet. Uventede effekter av å sette inn nye gener kan opptre og kan føre til endret uttrykk av endogene proteiner. Det er imidlertid ikke påvist at slike effekter har skjedd med MON810, som har vært dyrket og konsumert siden 1996.

4.3. Delkonklusjon:

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra MON 89034 er mer allergifremkallende enn umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 89034 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1A.105 og Cry2Ab2 i maiskorn til sammen kan være opp til 19 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å vurdere mulighetene for adjuvanseffekter av Cry1A.105.

5. Miljørisikovurdering

Maislinjen MON 89034 inneholder de bakterielle genene *cry1A.105* og *cry2Ab2*, som koder for δ -endotoksiner som gir resistens mot enkelte skadegjørere i ordenen *Lepidoptera*. *Cry1A.105*-toksinet gir maisplantene toleranse mot larver av bla *Spodoptera* sp. (fall armyworm), *Ostrinia nubilalis* (europeisk maispyralide) og *Agrotis ipsilon* (stort jordfly), mens *Cry2Ab2* gir toleranse mot *Helicoverpa zea* (corn earworm).

Monsantos søknad om godkjenning av maislinjen MON 89034 under forordning 1829/2003/EF omfatter bruksområdene næringsmidler, fôrvarer, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning.

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

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

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

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

Spredning av mais til andre habitater i Europa er hovedsakelig begrenset av dårlig konkurranseevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sjukdom og liten toleranse for lave temperaturer. Det er ikke påvist forskjeller mellom den insektresistente maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene, og det er det ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen hos MON 89034 vil medføre økt fitness utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

5.2. Potensiale for genoverføring

En forutsetning for genspredning er tilgjengelige veier for overføring av genetisk materiale, enten via horisontal genoverføring av DNA, eller vertikal genflyt i form av frøspredning og krysspollinering. Eksponering av mikroorganismer for rekombinant DNA skjer under nedbryting av plantemateriale på dyrket mark og/eller pollen i åkrer og omkringliggende

arealer. Rekombinant DNA er også en komponent i en rekke mat- og fôrprodukter som er avledet av plantemateriale fra den transgene sorten. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA.

Siden mais ikke har viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, vil vertikal genoverføring være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

5.2.1. Horisontal genoverføring

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

Ut fra dagens vitenskapelig innsikt mht barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer, dyr eller mennesker gjennom inntak eller eksponering, er det ingenting som tyder på at transgenene i MON 89034 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere dvs. annen dyrket mais i Europa. Det er blant annet gjort forsøk som ser på stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen hvor mus er oralt tilført M13 DNA. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter føring. Svært små mengder av M13 DNA (<0.1 %) kunne spores i blodbanene i en periode på maksimum 24 timer, mens M13 DNA ble funnet i opptil 24 timer i lever og milt (Schubbert et al. 1994). Ved oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood et al. (2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist GM DNA i feces. Nielsen et al. (2000) og De Vries og Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det detektert svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien.

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra MON 89034 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 MON 89034.

5.2.2. Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom MON 89034 og konvensjonelt foredlete maissorter vil avhenge av omfanget av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, handtering og prosessering. Det er imidlertid lite sannsynlig at sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt. Dyrkingsomfanget av mais i Norge er dessuten svært begrenset. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig.

Insektresistens vil ikke representere noen selektiv fordel for spredning av mais i Europa. Overlevelse hos mais er i hovedsak begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for soppsjukdommer og liten frosttoleranse. Som for konvensjonelle sorter er

det ingenting som tilsier at eventuelle spillplanter vil overleve til neste vekstsesong eller etablere uønskede populasjoner.

5.3. Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Maislinjen MON 89034 er transformert med genene *cry1A.105* og *cry2Ab2* fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*. Proteinene som uttrykkes gir plantene resistens mot angrep fra enkelte skadegjørere i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis *Spodoptera* sp. (fall armyworm), *Ostrinia nubilalis* (europeisk maispyralide), *Agrotis ipsilon* (stort jordfly) og *Helicoverpa zea* (corn earworm). Det er rapportert om enkeltfunn av maispyralide i Vestfold, Telemark og Agder (<http://nhm.uio.no/norlep/>). Stort jordfly opptrer av og til som skadegjører i rotvekster i Norge, og er en mulig skadegjører i mais (Meadow 2007).

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for maislinjen, vil miljøeksponeringen være begrenset til sporadiske enkeltplanter fra frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Nivået av eksponering av *Bt*-toksin for eventuelle målorganismer vil derfor være svært lav, og ikke ha noen økologisk betydning.

5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Sporadiske spillplanter av MON 89034 med opphav i utilsiktet frøspredning under ulike omsetningsledd antas ikke å medføre risiko for ikke-målorganismer.

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

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

Ved foreskrevne bruk av maislinjen MON 89034 vil eksponeringsnivået av *Cry*-proteiner være svært lavt, og ikke medføre signifikante effekter på abiotisk miljø og biokjemiske prosesser.

5.6. Delkonklusjon

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen MON 89034 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer, og omfatter ikke dyrking. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinjen MON 89034 antas det

ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser det for lite trolig at disse forskjellene har noen helsemessig konsekvens, og konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen MON89034 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinene Cry1A.105 og Cry2Ab2 ikke er akutt toksiske. Monsanto har utført sub-kroniske studier på rotter med MON 89034. Det er ikke funnet testrelaterte endringer hos rottene. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for proteinet i seg selv, og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelig.

Faggruppen mener at det må kreves av Monsanto å kommentere de forsøk som gjort der det er påvist adjuvanseffekter av Cry1Ac og om slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry1A.105- og Cry2Ab2-protein.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen MON 89034 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 89034 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Faggruppen finner det lite trolig at bruk av maislinjen MON 89034 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais, men påpeker kunnskapshull knyttet til om Cry-proteiner i MON 89034 kan virke som adjuvant.

REFERANSER

- 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. 100 s. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html
- EPA (2003) Event MON863 *Bt* Cry3Bb1 Corn Biopesticide Registration Action Document.
- Hallauer AR (2000) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Lid J & Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. 1230s.
- Meadow R (2007) Expected effects and side effects of approval for the use of maize MON 810 on target and non-target arthropods in and around maize fields in Norway. Rapport fra Bioforsk Plantehelse. 9 s.
- Moreno-Fierros L, Ruiz-Medina EJ, Esquivel R, López-Revilla R & Piña-Cruz S (2003) Intranasal Cry1Ac protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of *Streptococcus pneumoniae* polysaccharides in mice. *Scand J Immunol.*, 57: 45-55.
- Netherwood T, Martín-Orúe SM, O'Donnell AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC & Gilbert HJ. (2004) Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nat Biotechnol* 22(2):204-209.
- Nielsen KM, van Elsas JD & Smalla K (2000) Transformation of *Acinetobacter* sp. 13(pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Appl Environ Microbiol* 66: 1237-42.
- Nielsen KM (2003) An assessment of factors affecting the likelihood of horizontal transfer of recombinant plant DNA to bacterial recipients in the soil and rhizosphere. *Collection of Biosafety Reviews (Italy)*, Vol. 1. pp. 96-149.
- OECD (2002) Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites, No. 6, Series on Safety of Novel Foods and Feeds.
- OECD (2003) Consensus Document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO) No. 27:1-49.
- Prasad SSSV & Shethna YI (1975) Enhancement of immune response by the proteinaceous crystal of *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis*. *Biochem Biophys Res Commun.*, 62: 517-521.
- Rojas-Hernández S, Rodríguez-Monroy MA, López-Revilla R, Reséndiz-Albor AA & Moreno-Fierros L (2004) Intranasal coadministration of the Cry1Ac protoxin with amoebal lysates increases protection against *Naegleria fowleri* meningoencephalitis. *Infect Immun.* 72:4368-4375.

- Schubbert GW, Lettmann C & Doerfler W (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice *Mol Gen Genet* 242:495-504.
- TemaNord (1998) Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence. TemaNord 1998:591. ISBN 92-893-0263-1.
- Vazquez-Padron RI, Martinez-Gil AF, Ayra-Pardo C, Gonzalez-Cabrera J, Prieto-Samsonov DL & de la Riva GA (1998) Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. *Biochem Mol Biol Int.* 45(5):1011-20.
- Vazquez RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, De La Riva GA & Lopez-Revilla R (1999) *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scand J Immunol.* 49: 578-84.
- Vazquez-Padron RI, Gonzales-Cabrera J, Garcia-Tovar C, Neri-Bazan L, Lopez-Revilla R, Hernandez M, Moreno-Fierro L & de la Riva GA (2000a) Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. kurstaki HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.* 271:54-8.
- Vazquez-Padron RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, Martinez-Gil AF, de-la-Riva GA & Lopez-Revilla R (2000b). Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz J Med Biol Res.*, 33:147-55.
- VKM (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. 62 p.