



Vitenskapskomiteen for mattrygghet  
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

---

## **Foreløpig helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt alle sub-kombinasjoner av linje 1507, 59122, MON810 og NK603 (EFSA/GMO/NL/2011/92)**

---

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

**Innspill til EFSA's GMO Extranet**

Dato: 12.6.2012

Dok. nr.: 12/307 – endelig

ISBN: 978-82-8259-056-3

**VKM Report 2012: 17**

## Bidragsyttere

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

#### Arbeidsgruppe mat og fôr

Åshild Andreassen (leder), Aksel Bernhoft, Per Brandtzæg, Audun H. Nerland, Rose Vikse, Monica Sanden (ekstern)

#### Faggruppe for genmodifiserte organismer

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

#### Koordinatorer fra sekretariatet

Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

## Sammendrag

Den foreløpige helse- og miljørisikovurderingen av den herbicidtolerante og insektsresistente maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 (EFSA/GMO/NL/2011/92) fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. er utført av faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM). VKM er bedt av Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning om å vurdere helse- og miljørisiko ved en eventuell godkjenning av 1507 x 59122 x MON810 x NK603 til import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Søknaden gjelder ikke dyrking. I tillegg til hybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, omfatter søknaden også godkjenning av andre kombinasjoner av foreldrelinjene for kommersiell anvendelse. Dette inkluderer til sammen 10 ulike hybrider (doble- og triple «stacker»), basert på konvensjonelle kryssinger av foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603. Samtlige foreldrelinjer, og fem doble og triple hybridlinjer, er tidligere risikovurdert og godkjent til bruk som mat og fôr i EU. EFSA har imidlertid bedt søker inkludere alle sub-kombinasjoner av foreldrelinjene i søknaden, også allerede godkjente hybrider. I henhold til søker er det ønske om kommersialisering av ytterligere 3 hybrider.

Risikovurderingen er basert på uavhengige vitenskapelige publikasjoner og dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside EFSA GMO Extranet. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven og genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EU-forordning 1829/2003/EF, utsetningsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2,3 og 3B) og veiledende notat til Annex II (2002/623/EF), samt prinsippene i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler (EFSA 2006, 2010, 2011) 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 og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensiale for utilsiktede effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

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

F<sub>1</sub>-hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er fremkommet ved konvensjonelle kryssinger mellom de transgene maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603.

Foreldrelinjen 1507 har fått innsatt et *cryIF*-gen fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* og et *pat*-gen, som er isolert fra bakterien *Streptomyces viridochromogenes*. *CryIF*-genet koder for et  $\delta$ -endotoksin, som gir resistens mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og nattflyarten *Sesamia nonagrioides*. *Pat*-genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), og som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicider 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. De transgene maisplantene vil derfor tolerere høyere doser av sprøytemiddelet glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras.

Foreldrelinjen 59122 er fremkommet ved *Agrobacterium*-mediert transformasjon av planteceller fra den umodifiserte hybridlinjen Hi-II. Maislinjen 59122 uttrykker en ny type *Bt*-toksin, som er resultat av introduksjon av to *cry*-gener (*cry34Ab1* og *cry35Ab1*) fra *B. thuringiensis*, stamme PS149B1.

Proteinene virker sammen som et binært toksin, og gir plantene resistens mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. I tillegg har maislinjen fått satt inn et *pat*-gen.

Maislinjen MON 810 inneholder genet *cry1Ab* fra *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1. Genet koder for et  $\delta$ -endotoksin som gir resistens mot enkelte skadeinsekter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*), og enkelte arter i slekten *Sesamia*.

Foreldrelinjen NK603 uttrykker CP4-EPSPS-proteiner, som er resultat av introduksjon av *cp4-epsps*-genet fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt ved nærvær av N-fosfonometylglycin (glyfosat). De transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av herbicider med virkestoff glyfosat sammenlignet med konkurrerende ugras.

Samtlige foreldrelinjer som inngår i krysningen er tidligere vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer (VKM 2004a,b, 2005a,b, 2007a,b, 2008a, 2010). I tillegg har VKM risikovurdert en rekke hybrider der foreldrelinjene inngår (tabell 1).

### Molekylær karakterisering

F<sub>1</sub>-hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom de innavlede maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603. Southern-analyser indikerer at antall, struktur og organisering av de innsatte genkonstruksjonene i maishybriden er ekvivalent med de som finnes i de respektive foreldrelinjene.

Nivåene av Cry1F-, Cry34Ab-, Cry35Ab1-, PAT-, Cry1Ab- og CP4 EPSPS-protein i frø og vegetativt vev er sammenlignbare med uttrykk av tilsvarende proteinprodukter i foreldrelinjene. På bakgrunn av tilstedeværelse av to kopier av *pat*-genet i 1507 x 59122 x MON810 x NK603, er konsentrasjonen av PAT-proteinet imidlertid signifikant høyere i bladvev fra hybridene sammenlignet med foreldrelinjene 1507 og 59122.

### Komparative analyser

Analyser av ernæringsmessige komponenter er i hovedsak utført i tråd med OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det er påvist signifikante forskjeller mellom testhybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og umodifisert kontroll i enkeltparametere. Verdiene for de analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, samt innenfor toleranseintervallene for de umodifiserte referansesortene som er inkludert i søkers dokumentasjon.

Faggruppen påpeker at søker ikke har foretatt analyser av vitamin C. Det understrekes at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter. Faggruppen vektlegger imidlertid at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr og at mais til human konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Daglig inntak av sukkermais vil bidra med 0,5 % av daglig anbefaling for vitamin C ved inntak lik medianen (data fra Den Norske mor barn studien). Ved maisinntak på 17,5 g/dag (97,5 % persentilen) vil ca 2,6 % av daglig anbefaling for vitamin C dekkes. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at et eventuelt avvikende nivå av vitamin C i maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 har liten ernæringsmessig betydning i Norge.

Feltforsøk over en vekstsesong i USA, viser små eller ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 (sprøytet med tiltenkte herbicider eller

konvensjonell herbicider) og umodifisert, nær-isogen kontroll med hensyn på morfologiske og agronomiske karakterer.

### **Toksisitet og allergenitet**

CP4EPSPS- og PAT- proteinene, som uttrykkes som følge av genmodifiseringen, har ingen likheter med kjente toksiner og allergener, eller egenskaper som tilsier at det vil virke som et allergen eller toksin. Innholdet av disse proteinene i korn er ca 0,01 % av totalt protein, og utgjør således en svært liten del av det totale proteininnholdet. Faggruppen finner det lite sannsynlig at eksponering av CP4EPSPS- og PAT-proteinene i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig.

Akuttstudier på mus av de enkelte Cry-proteiner er utført. Dosene varierer imidlertid fra 576 mg til 2700 mg/kg kroppsvekt. Standarddose i henhold til OECD guideline 401 er 2000 mg/kg kroppsvekt, eller til toksisk effekt. Faggruppen påpeker, via innspill til EFSA-net, at der ikke er utført akuttstudier på kombinasjoner av Cry-proteinene for å se på eventuelle kombinerte effekter som addisjon eller synergisme. Det påpekes også at søker burde ha utført 90-dagers subkronisk fôringsforsøk med maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt fôringsforsøk på relevante produksdyr (både oppdrettsfisk og pattedyr).

Den aktuelle maislinjen inneholder 4 forskjellige Cry-proteiner, og muligheten for kombinatoriske adjuvanseffekter på tarmepitelet kan ikke utelukkes.

Faggruppen har ikke vurdert problematikken knyttet til eventuelle rester av glufosinat og glyfosat, AMPA (metabolitt fra metabolismen av glyfosat) eller andre nedbrytningsprodukter fra disse i mat- og fôrprodukter av 1507 x 59122 x MON810 x NK603. Slike vurderinger er ikke en del av faggruppen for GMOs mandat, men utføres av VKMs Faggruppe for plantevernmidler. Faggruppe for GMO legger imidlertid til grunn at produkter, der verdiene ligger under grenseverdiene for akseptabelt daglig inntak, ikke innebærer endret helserisiko i forhold til annen mais.

### **Miljørisiko**

Søknaden gjelder godkjenning av maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt øvrige sub-kombinasjoner av foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maisen.

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

Risikovurderingen av de genmodifiserte maishybridene vil ferdigstilles og slutføres av faggruppen for genmodifiserte organismer når endelig dokumentasjon fra søker foreligger.

## **Nøkkelord**

Mais, *Zea mays* (L.), genmodifisert mais 1507 x 59122 x MON810 x NK603, EFSA/GMO/NL/2011/92, insektresistens, Cry1F, Cry1Ab, Cry34Ab1, Cry35Ab1, herbicidtoleranse, CP4 EPSPS, PAT, glyfosat, glufosinat-ammonium, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF, direktiv 2001/18/EF

## Forkortelser og ordforklaringer

ADF	Acid detergent fiber, fiberfraksjon av ufordøyelig plantemateriale i fôr, vanligvis cellulosefiber dekket med lignin og silikat. Plantematerialet fordøyes med en syre-detergentløsning (ADF). Ufordøyd masse betegnes som ADF. Fôr med lavt ADF-innhold er mer fordøyelig og har større energiinnhold.
Allel	Et bestemt gen kan foreligge i ulike varianter (alleler). Allelene kan være dominante (bestemmende for fenotypen) eller recessive (vikende).
AMPA	Aminometylfosforsyre, nedbrytingsprodukt av glyfosat
ARMG	Antibiotikaresistensmarkørgen
Backcross (BC)	Tilbakekryssing. Kryssing mellom en hybridlinje (avkom fra to genetisk ulike foreldre) og en av foreldrelinjene, alternativt en genetisk ekvivalent organisme. Strategi i planteforedling for å overføre primært kvalitative karakterer, for eksempel sjukdomsresistens, til elitelinjer av både kryssbefruktede og selvpollinerte arter. Gjentatte tilbakekryssinger reduserer det genetiske bidraget, som uønskede alleler fra den andre donorplanten.
	BC <sub>1</sub> , BC <sub>2</sub> etc: betegnelse på 1. og 2. tilbakekryssingsgenerasjon, etc.
BLASTn	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av nukleotidsekvenser.
BLASTP	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av aminosyresekvenser i proteiner.
BLASTx	Algoritme som benyttes for oversetting fra kodende nukleotidsekvenser til aminosyresekvenser.
bp	Basepar
Codex	FAO/WHO-organ som etablerer globale handelsstandarder for mat.
CP4	<i>Agrobacterium</i> sp. stamme CP4
CP4 EPSP	Glyfosattolerant EPSPS
<i>cp4 epsps</i>	DNA-sekvens fra <i>Agrobacterium</i> sp. stamme CP4, koder for CP4 EPSPS-protein, som inaktiverer glyfosat.
Cry	Krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i>
Cry1Ab	Cry1-klasse krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i> ssp. <i>kurstaki</i> HD-1.
Cry1F	Cry1-klasse krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>
Cry34/35Ab1	Binært krystallprotein, bestående av Cry34Ab1 og Cry35Ab1.
Cry34Ab1	Cry34-klasse krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i> stamme 149B1.
Cry35Ab1	Cry35-klasse krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i> stamme 149B1.
CTP	Kloroplasttransittpeptid
DN	Direktoratet for naturforvaltning
DNA	Deoxyribonukleinsyre (DNA)
Dominant allel	Et allel som uttrykker samme fenotype, uavhengig av om allelene i genparet er like (homozygot) eller ulike (heterozygote).
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FAO	Food and Agriculture Organization, FN's organisasjon for ernæring og landbruk.
FIFRA	US EPA Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. USAs føderale lov om insektdrepende midler, soppdrepende midler og midler mot skadedyr.
Fitness	Et individs relative evne til å føre sine gener/alleler videre til kommende generasjoner.
GLP	Good Laboratory Practices, retningslinjer for godt laboratoriearbeid.
Glufosinat	Bredspektret herbicid/ugrasmiddel
Glyfosat	Bredspektret herbicid/ugrasmiddel
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
Locus	Spesifikk posisjon på kromosomet der et gen er lokalisert.
MALDITOF	Massespektrometrimetode for å måle molekylvekt til peptider.
Mendelsk nedarving	Lovmessig nedarvingsmønster ved ulike typer kryssinger.

MT	Mattilsynet
NDF	Neutral detergent fiber, dvs. fiberfraksjon som inneholder hemicellulose og ADF.
NOAEL	No observed adverse effect level – dosenivå hvor ingen skadelige effekter observeres.
NOEL	No observed effect level - nulleffektnivå
Northern blot	Teknikk for overføring av RNA til en membran for påvisning av uttrykte RNA-sekvenser.
Nær-isogen linje	Linjer eller sorter som er genetisk identiske, med unntak av ett lokus eller kromosomsegment.
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
ORF	Open Reading Frame (åpen leseramme)
OSWP	Overseason whole plant
PAT	Fosfinotricin-N-acetyltransferase
PCR	Polymerase chain reaction. Polymerase kjedereaksjon. Metode for å syntetisere et stort antall kopier av en DNA-sekvens vha primere.
RNA	Ribonukleinsyre
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat (SDS)-polyakrylamidelektroforese. Elektroforesemetode for separasjon av proteiner.
Southern blot	Teknikk for overføring av DNA til en membran for videre studier av overførte DNA-sekvenser.
T-DNA	DNA fra Ti-plasmidet som er i jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmidet (Transfer-DNA) overføres fra bakterien, og settes inn i plantecellenes kjernegenom. T-DNAet som overføres avgrenses av V (venstre) og H (høyre) flankesekvenser, og begrenser derfor den delen av Ti-plasmidet som overføres og gjør at resten av vektoren ikke blir satt inn i plantekromosomene.
Utviklingsstadier hos mais:	
	<u>Vegetative stadier</u>
	VE: oppspiring
	V1: 1. blad
	V2: 2. blad
	V(n): n'te blad
	VT: synlige hannblomsterstand (tassel)
	<u>Reproduktive stadier</u>
	R1: synlige hunnblomster
	R2: 'blister'
	R3: melkmodning
	R4: deigmodning
	R5: dent
	R6: fysiologisk moden
USDA	United States Department of Agriculture
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USAs miljøvernmyndigheter
Western-blot	Metode for overføring av proteiner til en membran som binder protein.
WHO	World Health Organisation. Verdens helseorganisasjon, organ under FN.

# Innholdsfortegnelse

<b>Bidragstere</b> .....	<b>2</b>
<b>Vurdert av</b> .....	<b>2</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Nøkkelord</b> .....	<b>5</b>
<b>Forkortelser og ordforklaringer</b> .....	<b>6</b>
<b>Innholdsfortegnelse</b> .....	<b>8</b>
<b>Bakgrunn</b> .....	<b>10</b>
<b>Oppdrag fra Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning (DN)</b> .....	<b>14</b>
<b>Risikovurdering</b> .....	<b>16</b>
<b>1 Innledning</b> .....	<b>16</b>
1.1 Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer.....	16
<b>2 Molekylær karakterisering</b> .....	<b>16</b>
2.1 Hybridproduksjon.....	16
2.2 Evaluering av foreldrelinjer.....	17
2.2.1 1507.....	17
2.2.2 59122.....	19
2.2.3 MON810.....	21
2.2.4 NK603.....	23
2.3 Transgene konstrukt i hybridene 1507 x 59122 x MON810 x NK603.....	26
2.4 Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener, åpne leserammer (ORF).....	26
2.5 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA.....	32
2.6 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	32
<b>3 Komparative analyser</b> .....	<b>33</b>
3.1 Sammendrag av tidligere vurderinger av foreldrelinjer.....	33
3.1.1 1507.....	33
3.1.2 59122.....	33
3.1.3 MON810.....	34
3.1.4 NK603.....	34
3.2 Valg av komparator og produksjon av plantemateriale for komparative analyser.....	34
3.3 Analyser av ernæringsmessige komponenter.....	36
3.4 Agronomiske egenskaper.....	48
3.5 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	51
<b>4 Dokumentasjon av toksisitet, allergisitet og næringsverdi</b> .....	<b>52</b>
4.1 Sammendrag av tidligere vurderinger av foreldrelinjer.....	52
4.1.1 1507.....	52
4.1.2 59122.....	52
4.1.3 MON810.....	52
4.1.4 NK603.....	53
4.2 Toksikologiske vurderinger av 1507x59122xMON810xNK603.....	54
4.3 Allergisitet.....	56
4.4 Ernæringsmessige vurderinger av maishybridene som mat og fôr.....	56
4.5 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag.....	56
<b>5 Miljøriskovurdering</b> .....	<b>57</b>
5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen.....	57
5.2 Potensiale for genoverføring.....	57
5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer.....	59
5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer.....	59



5.5	Miljøovervåkingsplan .....	60
5.6	Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag .....	60
<b>6</b>	<b>Vurdering av søkers dokumentasjon, kunnskapshull .....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>Innspill til EFSA GMO Extranet søknad EFSA/GMO/NL/2011/92 .....</b>	<b>62</b>
	<b>Foreløpig vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag .....</b>	<b>63</b>
	<b>Referanser .....</b>	<b>65</b>
	<b>Vedlegg 1 .....</b>	<b>73</b>

## Bakgrunn

Den foreløpige helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 fra Pioneer Hi-Bred International Inc. (EFSA/GMO/NL/2011/92) er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM). Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning om å vurdere helse- og miljørisiko ved en eventuell godkjenning av maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603 til import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. I tillegg til hybridene 1507 x 59122 x MON810 x NK603, omfatter søknaden også godkjenning av andre kombinasjoner av foreldrelinjene for kommersiell anvendelse. Dette inkluderer til sammen 10 ulike hybrider (doble- og triple «stacker»), basert på konvensjonelle kryssinger mellom foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603. Søknaden gjelder ikke dyrking.

Risikovurderingen er basert på uavhengige vitenskapelige publikasjoner og dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAAs nettside EFSA GMO Extranet. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven og genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EU-forordning 1829/2003/EF, utsetningsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2,3 og 3B) og veiledende notat til Annex II (2002/623/EF), samt prinsippene i EFSAAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler (EFSA 2006, 2010a, 2011a) 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 og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensiale for utilsiktede effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

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

Søknaden ble fremmet og anbefalt av nederlandske myndigheter i februar 2011. Dokumentasjonen knyttet til søknaden ble lagt ut på EFSAAs nettside GMO Extranet 30. januar 2012, med frist på 90-dager for innspill fra EU- og EØS/EFTA-landene.

### Status i EU

Samtlige foreldrelinjer 1507, 59122, MON810 og NK603, og fem doble og triple hybridlinjer, basert på konvensjonelle kryssinger mellom disse enkelt-eventene, er risikovurdert og godkjent til bruk som mat og fôr i EU (tabell 1).

Foreldrelinjene 1507 og 59122 ble godkjent for bruksområdene import, prosessering, mat og fôr under EU-forordning 1829/2003 i henholdsvis 2005/ 2006 og 2007. Maislinjene ble videre søkt godkjent for dyrking under direktiv 2001/18/EF i 2001 (C/ES/01/01) (1507) og forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/NL/2005/23) (59122) i 2005. Status for søknadene er at EFSA har vurdert 1507 med hensyn på mulig miljørisiko knyttet til dyrking (EFSA 2005b, 2011b), men beslutning om eventuell godkjenning er ikke foretatt. EFSAAs miljørisikovurdering av 59122 er ikke ferdigstilt.

Foreldrelinjene MON810 og NK603 ble godkjent for bruksområdene import, prosessering, mat og fôr i 1998 og 2004/2005 under henholdsvis direktiv 90/220/EF, direktiv 2001/18/EF og Novel Foodsforordningen (EF.) Nr. 258/97. Godkjenningene av NK603 og MON810 gikk ut i april 2007, og Monsanto har søkt om fornyet godkjenning av begge linjene fram til 2017 (EFSA-GMO-RX-NK603/MON810). Begge maislinjene er også søkt godkjent til dyrking og frøavl under direktiv

90/220/EF (C/F/95/12-02) og forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/NL/2005/22). For begge eventene har EFSA publisert felles risikovurderinger for både fornyings- og dyrkingssøknadene (EFSA 2009 b,c). I tillegg foreligger det søknader om godkjenninger av hybrider der en eller flere av foreldrelinjene inngår.

### **Status i Norge**

Vitenskapskomiteen for mattrygghet vurderte helserisiko knyttet til bruk av maislinjene 1507, NK603 og 59122 som mat og fôrvarer i 2004, 2005 og 2008 (VKM 2004 a,b, 2005 a,b, 2008a). VKM har ikke vurdert 1507, NK603 og 59122 med hensyn på mulig miljørisiko ved dyrking. I forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av maislinjen MON810 under direktiv 2001/18/EF, vurderte VKMs Faggruppe for genmodifiserte organismer helse- og miljørisiko ved bruk av MON810 som mat, fôr og til dyrking (VKM 2007 a,b).

I juni 2008 anbefalte Direktoratet for naturforvaltning Miljøverndepartementet å godkjenne NK603 for omsetning som mat og fôr på det norske markedet. Saken ligger fortsatt til behandling i departementet.

Foreldrelinjene 1507, MON810 og NK603 ble innmeldt som prosessert fôrvarer under den nasjonale overgangsordningen for eksisterende GM-produkter 15. mars 2006 (jfr. fôrvareforskriftens § 7a), og var i utgangspunktet tillatt å omsette på det norske markedet fram til 15. september 2008.

På bakgrunn av at implementeringen av EUs GM-regelverk på mat og fôr har tatt lengre tid enn antatt, har Mattilsynet vedtatt å forlenge dispensasjonen om krav til godkjenning fram til 15. september 2012. Notifiseringene omfatter kun prosesserte, ikke spiredyktige fôrvarer til oppdrettsfisk, og dispensasjonen er gitt til fire fiskefôrprodusenter. Overgangsordningen omfatter ikke husdyrfôr.

[http://www.mattilsynet.no/genmodifisering/dispensasjon\\_fra\\_godkjenningskrav\\_i\\_focirc\\_rvareforskriften\\_73820](http://www.mattilsynet.no/genmodifisering/dispensasjon_fra_godkjenningskrav_i_focirc_rvareforskriften_73820)

**Tabell 1. Status for risikovurderinger og godkjenninger av de transgene maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603, samt mulige doble og triple hybrider basert på kryssinger mellom linjene.**

Event(er)	Tidligere søknader	Vurdering VKM	Vurdering EFSA	Beslutning EU-KOM
<b>1507</b>	C/NL/00/10		EFSA (2004)	2005
	C/ES/01/01	VKM (2004a)	EFSA (2005a)	-
	EFSA-GMO-NL-2004-02	VKM 2004b)	EFSA (2005b) EFSA (2011)	2006 (ikke dyrk.)
	EFSA-GMO-RX-1507		EFSA (2009a)	2011
<b>59122</b>	EFSA-GMO-NL-2005-12	VKM (2005a) VKM (2008a)	EFSA (2007)	2007
	EFSA-GMO-NL-2005-23		Ikke ferdigstilt	
<b>MON810</b>	C/F/95/12/02	VKM (2007a,b)		1998
	EFSA-GMO-RX-MON810		EFSA (2009b)	
<b>NK603</b>	C/ES/00/01	VKM (2005b)	(EFSA 2003)	2004/2005
	EFSA-GMO-RX-NK603		EFSA (2009c)	
	EFSA-GMO-NL-2005-22			
<b>1507x59122</b>	EFSA-GMO-UK-2005-15	VKM (2007c)	EFSA (2009d)	28.7.10
	EFSA-GMO-NL-2005-28	VKM (2008b)	Ikke ferdigstilt	
<b>1507xMON810<sup>a,b</sup></b>				
<b>1507xNK603</b>	EFSA-GMO-UK-2004-05	VKM (2005c) VKM (2008c)	EFSA (2006)	24.10.2007
	EFSA-GMO-UK-2005-17		Ikke ferdigstilt	
<b>59122xMON810<sup>a</sup></b>				
<b>59122xNK603</b>	EFSA-GMO-UK-2005-20	VKM (2007d)	EFSA (2008)	30.10.2009
<b>NK603xMON810</b>	EFSA-GMO-UK-2004-01	VKM (2005d) VKM (2006) VKM (2008d)	EFSA (2005c)	24.10.2007
	EFSA-GMO-NL-2005-26		Ikke ferdigstilt	
<b>1507x59122xMON810<sup>a,b</sup></b>				

Event(er)	Tidligere søknader	Vurdering VKM	Vurdering EFSA	Beslutning EU-KOM
<b>1507xMON810xNK603<sup>a,b</sup></b>				
<b>59122x1507xNK603</b>	EFSA-GMO-UK-2005-21	VKM (2007e)	EFSA (2009d)	28.7.2010
	EFSA-GMO-UK-2006-30		Ikke ferdigstilt	
<b>59122xMON810xNK603<sup>a</sup></b>				

<sup>a</sup> Omfattes av søknad EFSA-GMO-NL-2011-92, men ikke tidligere søkt godkjent i EØS-området, <sup>b</sup> ønskes kommersialisert ihht. søker

## Oppdrag fra Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning (DN)

### Mattilsynet

Mattilsynet har i brev datert 15.10.2010 (ref. 2010/195445) gitt Vitenskapskomiteen for mattrygghet i oppdrag å foreta løpende vitenskapelige vurderinger av helserisiko av genmodifiserte organismer til bruk som mat og fôr, samt avledete, prosesserte ikke-spiredyktige næringsmidler og fôrvarer som søkes godkjent under EUs forordning 1829/2003/EF. Videre er VKM bedt om å vurdere landbruksrelatert miljørisiko for genmodifiserte planter som søkes godkjent under samme forordning, og som er relevant for dyrking i Norge. Avhengig av hvilket bruksområde de genmodifiserte plantene søkes godkjent for, gjelder oppdraget miljørisiko knyttet til import, transport, videreforedling/prosessering og dyrking. Ved dyrkingssøknader skal VKM vurdere miljørisiko som følge av introduserte egenskaper i den genmodifisert planten i forhold til dagens sortsmateriale, og miljørisiko som følge av endret dyrkingspraksis ved dyrking av den genmodifiserte planten (bla plantevernbruk og jordarbeiding) i forhold til ordinært driftsopplegg. Oppdraget omfatter både direkte og sekundære effekter av endret dyrkingspraksis.

I forbindelse med søknader som omfatter dyrking skal VKM også vurdere risiko knyttet til sameksistens. Vurderingen skal omfatte potensiale for spredning av genmodifisert materiale til arealer og avlinger fra arealer der det ikke dyrkes genmodifiserte planter, utvikling av ugraspopulasjoner, samt spredning til ville populasjoner av samme art eller nærstående arter utenfor dyrking. Vurdering av søkers miljøovervåkingsplan (generell og spesifikk) inngår ikke i Mattilsynets oppdrag.

### Direktoratet for naturforvaltning

Direktoratet for naturforvaltning (DN) har i brev datert 15.6.2011 (ref. 2008/4367 ART-BI-BRH) gitt VKM i oppdrag å foreta vurderinger av miljørisiko for søknader om utsetting under EU-direktiv 2001/18 og søknader under EUs forordning 1829/2003, og som er relevante i forhold til den norske genteknologiloven. Oppdraget fra DN til VKM omfatter utarbeidelse av vitenskapelige spørsmål og kommentarer, samt foreløpige miljørisikovurderinger for disse søknadene. VKM er også bedt om å utarbeide endelige miljørisikovurderinger i forbindelse med nasjonal slutføring av søknadene.

Grunnlaget for vurdering av søkers miljørisikovurdering er nedfelt i lov om fremstilling og bruk av genmodifiserte organismer (genteknologiloven), forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, EUs utsetningsdirektiv 2001/18/EF, veiledende notat til Annex II til direktiv 2001/18 (2002/623/EC) og EU-forordning 1829/2003. Videre vil EFSA's veiledningsdokumenter for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete produkter (EFSA 2006, 2010, 2011), og OECDs veiledningsdokumenter være nyttige i utarbeidelsen av en norsk risikovurdering.

I henhold til oppdragsbrev fra DN skal VKM fokusere på miljørisiko i EØS-området, og på miljørisiko som er spesifikke for Norge. VKMs miljørisikovurderinger skal for alle søknader som gjelder dyrking av genmodifiserte linjer i EØS-området omfatte produktets miljørisiko ved eventuelle endringer i landbrukspraksis. Oppdraget omfatter både direkte miljøeffekter av bruk av tiltenkt plantevernmiddel i den genmodifiserte kulturen under norske forhold, og miljørisiko som følge av endret agronomi og mulige langsiktige endringer i bruksmønster av plantevernmidler.

VKMs foreløpige miljørisikovurdering skal også ta hensyn til søkers forslag til generell overvåking og eventuell særskilt overvåking. I de tilfeller hvor søker ikke har foreslått særskilt overvåking, må VKM vurdere hvorvidt det er behov for særskilt overvåking. I de tilfeller hvor søker har foreslått særskilt overvåking, skal VKM vurdere hvorvidt overvåkingsplanen er egnet til å avdekke så vel umiddelbare og direkte virkninger, som forsinkede og indirekte virkninger påvist i miljørisikovurderingen

I henhold til oppdragene fra Mattilsynet og DN skal VKM, for nevnte søknader uten særskilt oppdrag, gi innspill til EFSA GMO EXTRANet (første innspillsrunde). Kopi av innspill sendes Mattilsynet og DN. Dersom det ikke gis innspill til søknadene orienterer også VKM Mattilsynet og DN om dette. Mattilsynet ber også om at det synliggjøres i risikovurderingen om søker har fulgt EFSAAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler og fôrvarer (EFSA 2006, 2010, 2011).

VKM skal videre følge opp EFSAAs behandling av innspillene og vurdere hvorvidt VKMs innspill til EFSA GMO Extranet er tilfredsstillende ivare tatt i EFSAAs vurdering.

Søknad EFSA/GMO/NL/2011/92, genmodifisert maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt alle sub-kombinasjoner av linje 1507, 59122, MON810 og NK603, ble lagt ut på EFSAAs GMO Extranet 30.1.2012. Faggruppen for genmodifiserte organismer skal i tråd med oppdragsbrevene utarbeide helse- og miljørisikovurdering av maishybridene til import, prosessering og til bruk som mat og fôr. Vurderingen skal utføres i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med prinsippene som er nedfelt i EFSAAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler og fôrvarer (EFSA 2006, 2010, 2011).

#### **Produkter som ønskes vurdert (unik kode i parentes)**

- 1507 x 59122 x MON810 x NK603 (DAS-Ø15Ø7-xDAS-59122-7xMON-ØØ81Ø-6xMON-ØØ6Ø3-6)
- 1507 x 59122 (DAS-Ø15Ø7-1xDAS-59122-7)
- 1507 x MON810 (DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ81Ø-6)
- 1507 x NK603 (DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø-6)
- 59122 x MON810 (DAS-59122-7xMON-ØØ81Ø-6)
- 59122 x NK603 (DAS-59122-7xMON-ØØ6Ø-6)
- NK603 x MON810 (MON-ØØ6Ø-6xMON-ØØ6Ø-6)
- 1507 x 59122 x MON810 (DAS-Ø15Ø7-1xDAS-59122-7xMON-ØØ81Ø-6)
- 1507 x MON810 x NK603 (DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ81Ø-61xMON-ØØ6Ø-6)
- 59122 x 1507 x NK603 (DAS-59122-7x DAS-Ø15Ø7-1xMON-ØØ6Ø-6)
- 59122 x MON810 x NK603 (DAS-59122-7xMON-ØØ81Ø-6xMON-ØØ6Ø-6)

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF

EFSAAs frist for innspill: 30.4.2012.

Svarfrist til Mattilsynet og DN: 27.4. 2012.

# Risikovurdering

## 1 Innledning

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og alle sub-kombinasjoner av linje 1507, 59122, MON810 og NK603, er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAs nettside GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Maislinjene er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven og genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EUs forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser, lagt til grunn for vurderingen.

I tråd med VKMs mandat presiseres det at vurderinger av bærekraftig utvikling, samfunnsnytte og etikk, i henhold til genteknologiloven og dens konsekvensutredningsforskrift, ikke skal utføres av faggruppen 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 som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSAs veiledningsdokumenter for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler og fôrvarer (EFSA 2006, 2010a, 2011a). Ved vurdering av vesentlig likhet har faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes.

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

Maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er fremkommet ved konvensjonelle kryssinger mellom de transgene maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603. Hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 uttrykker proteinene CP4-EPSPS og PAT, som gir maisplantene toleranse mot bredspektrede herbicider med virkestoff glyfosat og glufosinat-ammonium. Maishybriden uttrykker også de binære proteinene Cry34Ab1 og Cry35Ab, som gir resistens mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*, samt Cry1F og Cry1Ab, som gjør plantene resistente mot skadegjørere i ordenen *Lepidoptera* (sommerfugler). Maishybriden inneholder ingen markørgener for antibiotikaresistens.

## 2 Molekylær karakterisering

### 2.1 Hybridproduksjon

Hybridforelding er den dominerende foredlingsstrategien i konvensjonell foredling og sortsutvikling i mais. Metodikken innebærer utvikling av innavlede, tilnærmet homozygote foreldrelinjer, som så krysses for produksjon av F<sub>1</sub>-hybridfrø. Dette gir ensartede og produktive sorter (heterosiseffekt). Den transgene hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom avkomstlinjer/foredlingslinjer av 1507, 59122, MON810 og NK603. Ingen ny genmodifisering har blitt benyttet for å danne den transgene hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603.



## 2.2 Evaluering av foreldrelinjer

### 2.2.1 1507

#### *Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon*

Plasmidet PHI8999, som inneholder det rekombinante DNA-fragment (PHI8999A), ble benyttet til å transformere celler fra en umodifisert maislinje. DNA-fragmentet på 6235 basepar ble klippet ut av plasmidet med restriksjonsenzymet *PmeI*, og ved hjelp av partikkel akselerasjonsmetoden ført inn i maisceller. DNA-fragmentet PHI8999A inneholder to ekspresjonskassetter som uttrykker henholdsvis Cry1F- og PAT-proteiner.

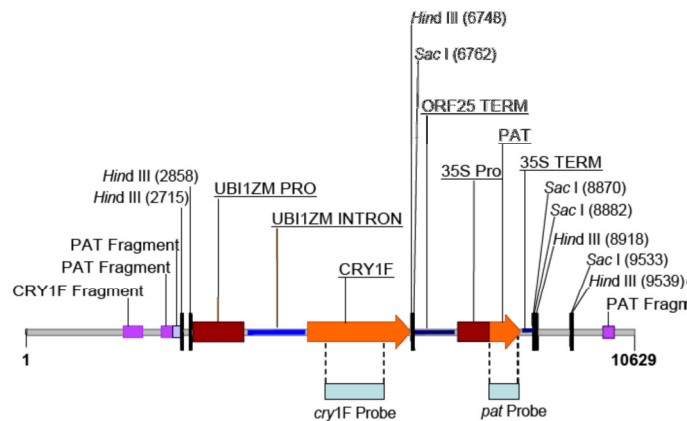
#### *Karakterisering av geninnsettingen/genkonstruksjonen*

Gener og regulatoriske elementer i DNA-fragmentet er vist i tabell 2 og figur 1.

**Tabell 2. Beskrivelse av innsatte gener og regulatoriske elementer.**

Gener/ regulatoriske elementer	Beskrivelse
<i>pat</i>	Syntetisk, optimalisert versjon av <i>phosphinothricin N-acetyl transferase (pat)</i> -gen fra den gram-positive jordbakterien <i>Streptomyces hygroscopicus</i> .
<i>35S Pro/Term</i>	Promoteren (Pro) og terminator (Term) 35S fra blomkål-mosaikkvirus (Cauliflower Mosaic Virus (CaMV)). Promoteren CaMV 35S Pro styrer uttrykket av <i>pat</i> . Termineringen av uttrykket styres av terminatoren CaMV 35S Term.
<i>Cry1F</i>	fra jordbakterien <i>Bacillus thuringiensis (B.t.)</i> subsp. <i>aizawai</i> . Bakterien danner det intracellulære proteinkrystallet Cry1F, som har entomopatogen effekt. Basesekvensene i genet er endret slik at genet kan uttrykkes i planter. Cry1F proteinets aminosyresekvens i planten er lik bakterieproteinets aminosyresekvens.
<i>ubiZM1(2)</i>	Ekspressjonen av <i>cry1F</i> reguleres av promoterens <i>ubiZM1(2)</i> fra mais.
<i>mas1(ORF25 TERM)</i>	Terminering av ekspressjonen styres av terminatoren <i>mas1</i> fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .

Southern blot - og sekvensanalyse viser at et nesten fullengde kopi av 1507 DNA-fragmentet (6186 bp fra 6235 bp fragmentet) er satt inn i maisens genom. Et ca. 11 kb genomisk DNA-fragment fra mais hvor 1507 fragmentet ligger på, er sekvensert. Dette DNA-fragmentet inneholder begge genene og de respektive regulatoriske sekvensene til 1507-fragmentet. I tillegg inneholder dette fragmentet 6 ikke-funksjonelle DNA-fragmenter som stammer fra 6235 bp 1507 fragmentet. Disse 6 DNA-fragmentene befinner seg enten ved 5' eller 3' endene til 6186 bp fragmentet. Pioneer benevner fragmentet med de 6 DNA-fragmentene, samt 6186 bp fragmentet for 1507-insertet.



**Figur 1. Restriksjonskart og beskrivelse av de forskjellige genelementene på det rekombinante DNA- fragmentet som er satt inn i genomet til maislinjen 1507.**

#### *Informasjon vedr. uttrykk av innsatte gener, åpne leserammer (ORF)*

Ekspressjonen av Cry1F- og PAT-proteinene ble målt ved hjelp av enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) i ulike plantevev og på ulike vekststadier fra fem feltforsøk i USA vekstsesongen 2006. Det ble tatt ut tre prøver fra hvert felt. Cry1F ble påvist i blad, pollen, hunnblomster, stilk, frø og hel plante. Uttrykket av proteinet varierte mellom ulike utviklingsstadier og organer/vev i planten. I pollen ble den gjennomsnittlige konsentrasjonen målt til 20,0 µg/g tørrvekt (maksimum 29,3 µg/g tørrvekt), mens nivået i frø og prøver av hele planten varierte mellom hhv 1,2-3,1 og 1,0-6,6 µg/g tørrvekt. Nivået av Cry1F viste seg å være uavhengig av dyrkingsbetingelser og herbicidbehandling. Med unntak av blad og ekstrakter fra hel plante, var nivået av PAT-protein under deteksjonsgrensen.

Western blot og påvisning med polyklonale antistoffer viser at både Cry1F- og PAT-proteinene har den forventede molekylvekt. Cry1F forelå som dublett, henholdsvis med 65 og 68 kD. Årsaken oppgis å være at planteproteaser spalter av et N-terminalt fragment, siden trypsinbehandling av Cry1F-proteinet gir et protein på 65 kD. Det er ingen indikasjoner på fusjonsproteiner.

Det gjort en detaljert studie for å påvise åpne leserammer. Det er påvist 5 åpne leserammer; ORF1, ORF2, ORF3, ORF4 og ORF25PolyA. ORF25PolyA er deler av CaMV 35S promotor og terminator. ORF4 ligger inne i ORF25PolyA. ORF1 og 2 er deler av 1507-transkriptet, og de kommer fra maisgenomet. Disse to ORFene ble også påvist i umodifisert mais, men har ikke noen homologi til beskrevne sekvenser i maisgenomet. De inneholder ikke kjente regulatoriske elementer som kan føre til transkripsjon. ORF3 og ORF4 ligger henholdsvis på grensen av og inne i 1507-fragmentet. Det er ikke påvist ORF3- transkript ved Northern eller RT-PCR. Northern og RT-PCR analyser for påvisning av ORF4- transkript indikerer heller ikke at denne åpne leserammen er i stand til å føre til transkripsjon selv om den ligger inne i ORF25PolyA.

#### *Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA*

Utgangslinjen Hi-II med eventen 1507 ble krysset med en av Pioneers elitelinjer, og tilbakekrysset over seks generasjoner. Genetisk stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist ved spaltingsdata og Southern analyse. Feltforsøk i Europa og USA over flere vekstsesonger har også vist at de innsatte genene er stabilt inkorporert i maisgenomet.

#### *Delkonklusjon*

Faggruppen har tidligere vurdert karakteriseringen av det rekombinante innskuddet, de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av 1507 til å være tilstrekkelige (VKM 2004a,b).

## 2.2.2 59122

### *Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon*

Den genmodifiserte maislinjen 59122 uttrykker herbicid- og insekttoleranse ved at et lineært DNA-fragment på 7390 basepar fra den binære vektoren PHP17662, ble overført til umodne maisceller med *Agrobacterium*-mediert transformasjon. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen.

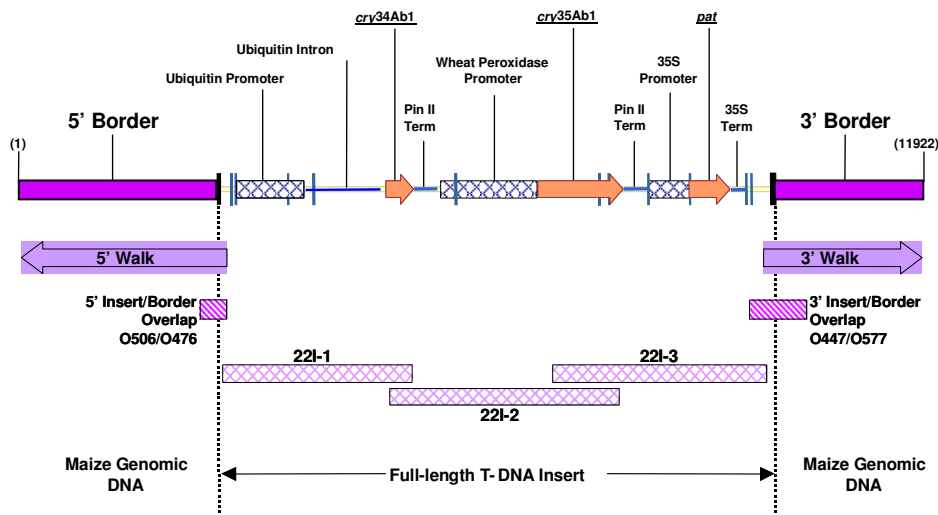
### *Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen*

Innhold av gener og regulatoriske elementer i det rekombinante DNA-fragmentet er nærmere beskrevet i tabell 3 og figur 2. Figuren viser et genomisk DNA-fragment på 11922 bp hvor det rekombinante T-DNA fragment sitter. PCR-fragmentene 22I-1, 22I-2 og 22I-3 er T-DNA-fragmenter som er sekvensert. 5' walk og 3' walk er sekvenserte genomiske områder på henholdsvis 2593 bp og 1986 bp.

Southern blot- og sekvensanalyse viser at et nesten fullengde kopi av PHP17662 rekombinante DNA-fragment (7343 bp fra 7390 bp fragmentet) er satt inn i maisens genom. Det er kuttet bort 22 bp fra 5'- og 25 bp fra 3'-delen av DNA fragmentet. Et 11922 bp genomisk DNA-fragment fra mais DAS-59122-7 hvor det rekombinante DNA fragmentet ligger på, er sekvensert. Dette DNA-fragmentet inneholder alle genene (*pat*, *cry34Ab1* og *cry35Ab1*) og de respektive regulatoriske sekvensene. Det er også funnet to base-endringer i fragmentets ikke-kodende område. Ingen av disse endringene påvirker fragmentets åpne leseramme. Det er sekvensert 2593 bp og 1986 bp henholdsvis fra 5'- og 3'-flankesekvenser. Det er funnet små områder med sekvenslikheter med f.eks. kromosomale sekvenser og forskjellige ESTer. Det største området er på 179 bp. Ingen av flankeområdene har likheter med kodende sekvenser for kjente proteiner.

**Tabell 3. Beskrivelse av innsatte gener og regulatoriske elementer i maislinjen 59122.**

Gener/ regulatoriske elementer	Beskrivelse
<i>cry34Ab1</i>	gen fra <i>Bacillus thuringiensis</i> stamme PS149B1. Genet er optimalisert for uttrykk i mais
<i>pinII</i>	terminator, kommer fra potetproteinaseinhibitor II- genen.
<i>ta</i>	promoter fra hveteperoksidasegenet
<i>cry35Ab1</i>	gen fra <i>Bacillus thuringiensis</i> stamme PS149B1. Genet er optimalisert for uttrykk i mais.
<i>pinII</i>	terminator, kommer fra potetproteinaseinhibitor II- genen.
<i>pat</i>	Syntetisk, optimalisert versjon av <i>phosphinothricin N-acetyl transferase</i> ( <i>pat</i> )-gen fra den gram-positive jordbakterien <i>Streptomyces hygroscopicus</i>
<i>CaMV 35S</i>	Promoteren CaMV 35S og terminatoren CaMV 35S kommer fra blomkålmosaikkvirus. Promoteren styrer uttrykket av <i>pat</i> . Termineringen av uttrykket styres av 35S -Term.



**Figur 2.** T-DNA-rekombinant fragmentet fra det binære PHP17662-plasmidet med genomiske Flankesekvenser i maislinjen 59122.

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

Uttrykk av proteinene Cry34Ab1, Cry35Ab1 og PAT ble analysert v.h.a. ELISA. Det ble tatt prøver av plantemateriale fra 11 ulike forsøksfelt i Chile, USA og Canada i 2002/2003, og tre og seks forsøk i Europa i 2003 og 2004. Prøvene ble tatt på fire ulike utviklingsstadier. Cry34Ab1- og Cry35Ab1-proteinene ble påvist i blad, pollen, korn, rot, stilk og hel plante, mens PAT proteinet bare ble påvist i blad, rot, stilk og hel plante. Nivået av PAT-protein i korn og pollen var under deteksjonsgrensen.

Uttrykket av Cry34Ab1- og Cry35Ab1-proteiner varierte mellom ulike organer/vev i planten, og mellom forsøksfelt. I pollen var konsentrasjonen av Cry35Ab1 lav eller under deteksjonsgrensen, mens nivået av Cry34Ab1 varierte mellom 50 og 74  $\mu\text{g/g}$  tørrvekt. I prøver fra feltforsøk i Europa ble uttrykket av Cry34Ab1 og Cry35Ab1 i korn målt til henholdsvis 61,8  $\pm$  16,5 og 2,34  $\pm$  0,475  $\mu\text{g/g}$  tørrvekt. Prøver fra feltforsøk i Chile og USA/Canada viste konsentrasjoner på henholdsvis 36,4  $\pm$  8,9 og 2,0  $\pm$  0,7  $\mu\text{g/g}$  tørrvekt. Variasjonen mellom prøver fra forsøksruter med og uten herbicidbehandling viste seg å være mindre enn variasjonen mellom forsøksfelt. Uttrykket av PAT-protein var generelt lavt i alle organer/vev der proteinet kunne påvises. Resultater fra prøver av hele planter viste konsentrasjoner på 0,0807  $\pm$  0,0800  $\mu\text{g/g}$  tørrvekt i de europeiske feltforsøkene.

Western blot og påvisning med polyklonale antistoffer viser at både Cry34Ab1-, Cry35Ab1- og PAT-proteinene har de forventede molekylvektene. Cry35Ab1 forelå som dublett i Western-blot, med størrelse 44 kD og 40kD. Tilsvarende bånd ble påvist med bakterie-Cry35Ab1 protein. Årsaken oppgis å være at planteproteaser spalter av et C-terminalt fragment. Det er ingen indikasjoner på fusjonsproteiner. Det er gjort studier for å påvise kodende sekvenser hos maislinjen 59122. Det ble ikke påvist åpne leserammer som kan føre til uttrykk av peptider som er større enn 100 aminosyrer.

#### *Nedarving og stabilitet av innsatt DNA*

Genetisk stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist ved spaltingsdata og Southern analyse fra fire ulike generasjoner (T1S1, T1S2, BC1 og BC2S1). Utgangslinjen Hi-II med eventen 59122 (T0) ble krysset med en innavlet, elitelinje PH098B for å danne F1- generasjonen. F1-plantene ble selvbestøvet for å produsere T1S- og T1S2- generasjonene. For å danne BC1-hybriden ble F1-plantene krysset og tilbakekrysset med en innavlet linje 05F, og til slutt krysset med nok en innavlet linje 581. BC2S1-generasjonen ble dannet ved at F1-planter ble krysset og tilbakekrysset to ganger med innavlet linje 581, og videre selvbestøvet. Analyser av avkom fra den spaltende BC2S1-generasjonen viste forventet mendelsk nedarving av herbicidtoleranse og uttrykk av Cry34Ab1. Analyser av uttrykk av Cry34/35Ab1 og PAT fra feltforsøk over 2 vekstsesonger i Europa og Nord- og Sør-Amerika indikerer fenotypisk stabilitet.

### Delkonklusjon

Faggruppen har tidligere vurdert karakteriseringen av det rekombinante innskuddet, de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av 59122 til å være tilstrekkelige (VKM 2005a, 2008a).

### 2.2.3 MON810

#### *Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon*

Cry1Ab-ekspresjonskassetten inneholder *e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus (CaMV), intronet *hsp70* fra mais og et trunkert *cry1Ab*-gen, og finnes som én kopi i genomet. *Cry1Ab*-genet stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*. DNA-fragmentet, fra plasmidet PV-ZMBK07, ble overført til umodne maisceller med partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

#### *Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen*

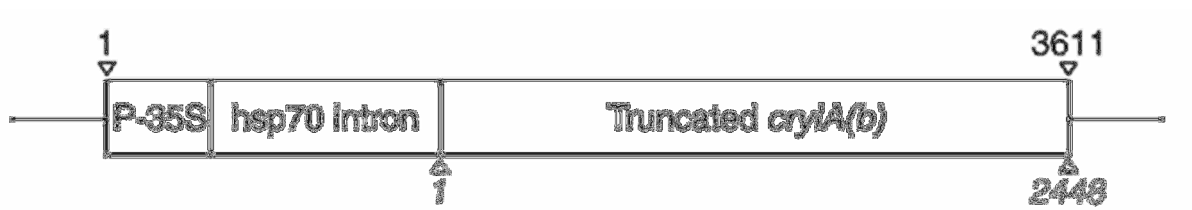
Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av det rekombinant DNA-fragmentet i maisens genom. Innsatte gener og regulatoriske elementer i fragmentet er vist i tabell 4, og figur 3.

Monsanto har i forbindelse med fornyede søknader av MON 810, eksempelvis EFSA-GMO-RX-MON 810, lagt ved oppdatert dokumentasjon av molekylærbiologiske analyser for MON 810. Disse molekylærbiologiske analysene viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder et trunkert *cry1Ab*-gen, en trunkert *e35S*-promoter og et fullengde *hsp70*-intron (figur 3). *Cry1Ab*-proteinene som uttrykkes i maiskorn er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE, densitometri, trypsinbehandling av proteinene og Southern blot.

PCR- og sekvenseringsanalyser av det rekombinante DNA-fragmentet i MON 810 viser at fragmentet er på 3582 nukleotider (bp). Analysene viser at det trunkerte *cry1Ab*-genet er på 2448 bp og *e35S* promotoren er 307 bp, mens intronet *hsp70* er uendret. *Cry1Ab*-genet i plasmidet PV-ZMBK07 er 3471 bp og *e35S* promotoren er 621 bp. Det er foretatt en rekke sekvenseringsanalyser av flankesekvensene til det rekombinante DNA fragmentet (Borovkov et al. 2001; Holck et al. 2002; Hernández et al. 2003; Scanlon et al. 2007). Borovkov et al. (2001), Hernández et al. 2003 og Scanlon et al. (2007) har sekvensert henholdsvis ca. 606 bp, ca. 560 bp og ca. 1265 bp nedstrøms fra 3'-flanke-ende til det rekombinante DNA fragmentet. Det er ikke funnet sekvenser som har likheter med kjente maisgener. For sekvenseringsanalysene oppstrøms fra 5'-flankesekvenser henviser Monsanto til Borovkov et al. (2001) og Holck et al. (2002). Sekvensering og BLAST til maisgenomsekvenser støtter antagelsen om at det har skjedd en rekombinasjon mellom transgen og flankesekvensene i MON 810, som kan forklare hvorfor mye av plasmidvektor-DNAet er fjernet og en har fått satt sammen nye deler av maismorlinjens kromosomfragment etter genmodifiseringen av MON 810. Holck et al. har sekvensert 803 bp av flankesekvensene, og analysene viser at flankesekvensene er genomisk DNA fra mais. Nyere karakterisering av det rekombinante DNA fragmentet i MON 810 og sekvenseringsanalyser av flankerende sekvenser er utført i 2007 og 2008 (Scanlon et al. 2007; Rosati et al. 2008). Rosati et al. viste at 3'-flankeområdet var kode-området for HECT E3 ligasegenet. Basert på disse analysene antar Rosati et al. at nukleotider som koder for 2 - og 18 aminosyrer kan adderes til det trunkerte *cry1Ab* gen. Analyser av transkripter (RNA) av *cry1Ab* gen resulterte ikke i fusjonsproteiner med homologi til kjente proteindomener, eller kjente allergener og toksiner. La Paz et al. (2010a,b) viste at *cry1Ab* transgene i MON810 resulterte i et *Cry1Ab* protein med to ekstra aminosyrer, som tilsvarer det Monsanto selv har dokumentert i dossieret EFSA-GMO-RX-MON810.

Tabell 4. Beskrivelse av innsatte gener og regulatoriske elementer i MON810

Sequence	Size (Kb)	Source	Function
P-e35S	0.32	Cauliflower mosaic virus	DNA sequence derived from cauliflower mosaic virus (CaMV) containing a portion of the CaMV promoter with the duplicated enhancer region and 5' untranslated region.
Zmhsp70	0.81	Maize ( <i>Zea mays</i> L.)	DNA sequence derived from corn containing the intron sequence from the maize <i>hsp 70</i> gene (heat-shock protein) present to stabilize the level of gene transcription.
<i>cry1Ab</i>	2.45	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	DNA sequence containing synthetic linker and a portion of the synthetic coding sequence for a variant of Cry1Ab1 protein from <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> .



Figur 3. Rekombinant lineært DNA-fragment i genomet til maislinjen MON 810. Det rekombinante DNA-fragmentet er på 3582 basepar og stammer fra plasmidet PV-ZMBK07.

#### Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener og åpne leserammer

Monsanto viser til at konsentrasjonen av Cry1Ab-protein er målt i prøver av MON 810 dyrket i feltforsøk i USA og Europa i perioden 1994-1996. De nordamerikanske forsøkene var lokalisert på henholdsvis 6 og 5 steder vekstsesongene 1994 og 1994. I tillegg ble maislinjen testet i felt på henholdsvis 4 og 3 lokaliteter i Frankrike og Italia i 1995 og 1996. Det ble tatt prøver av blad, hel plante og frø. Proteinekspressjonen i frø ble målt til henholdsvis  $0,31 \pm 0,09$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,19 – 0,39),  $0,57 \pm 0,21$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,39 – 0,91),  $0,53 \pm 0,12$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,42 – 0,69) og  $0,41 \pm 0,06$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,35 – 0,46). I prøver av hel plante ble det målt konsentrasjoner av Cry1Ab på henholdsvis  $4,15 \pm 0,71$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 3,65 – 4,65),  $3,34 \pm 1,09$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 2,31 – 4,48),  $4,80 \pm 0,75$   $\mu\text{g/g}$  rå (variasjonsbredde = 4,11 – 5,56) og  $4,88 \pm 0,52$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 4,32 – 5,34). EFSA har fra 2005 til 2009 vurdert MON810 og kombinasjoner av MON810 med annen mais (stacks). Mengde Cry1Ab protein i MON810 og i kombinasjonene viser at proteinmengden ligger i området ca. 0,1-1,0  $\mu\text{g/g}$  tørrvekt (EFSA 2005c, 2009c,d).

Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme v.h.a. allergen (AD4 (5')/UPDATE2 (3')), toksin (TOXIN5(5') og Toxin4 (3'))- og peptid (ALLPEPTIDES (5' og 3'))-databaser er utført.

Sekvenser som flankerer 5' viser, i henhold til Monsanto, ingen strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Imidlertid viser sekvenseringsanalyser utført av Holck et al. (2002) stor likhet til genklusteret *α-zein* som sitter i maiskromosom 4. Det er ikke funnet andre sekvenser som har likheter med kjente maisgener. 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 eller allergene konsekvenser. Sekvenser som flankerer 3' viser i henhold til Monsanto ingen strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Det er imidlertid funnet sekvenslikhet til proteinet importin  $\alpha$ . Monsanto hevder at om et kimært peptid dannes vil ikke dette være skadelig for mennesker eller dyr, fordi 90-dagers fôringsstudie på rotter viser ingen forskjeller mellom MON 810 og umodifisert mais.

#### *Nedarving og stabilitet av innsatt DNA*

Nedarving og stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist både via spaltingsdata og ved Southern analyse. Spaltingsdata fra 7 tilbakekryssinger av MON 810 til en av foreldrelinjene, og 6 tilbakekryssinger til en ubeslektet, innavlet linje er brukt til å evaluere genetisk stabilitet. Data som presenteres er i overensstemmelse med forventede spaltingstall. I følge søker viser også resultater fra Southern analyse at det innsatte transgenet er stabilt og sitter som i opprinnelig transformasjon på samme kromosom og i samme integreringssete i maisens genom.

#### *Delkonklusjon*

Faggruppen har tidligere vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av Cry1Ab-proteinene og funnet at informasjonen er tilstrekkelig (VKM 2007a,b). Faggruppen konkluderer med at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON810 er tilfredsstillende.

## **2.2.4 NK603**

#### *Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon*

*Cp4-epsps*-genet fra *Agrobacterium*-stamme CP4 ble klonet inn i plasmidet PV-ZMGT32. Det rekombinante DNA-fragmentet på 6706 basepar fra PV-ZMGT32-plasmidet inneholder to ekspresjonskassetter med et enkelt *cp4-epsps*-gen i hver kassett. Den første kassetten inneholder en aktinpromotor og et intron (r-act P+I) fra ris, et optimalisert kloroplastoverføringspeptid (CTP2), og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (NOS3'). Den andre ekspresjonskassetten inneholder en *e35S*-promotor, et ZmHSP70 intron *cp4-epsps* gen og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (NOS3'). DNA-fragmentet ble overført til embryogene maisceller ved hjelp av partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

#### *Beskrivelse av de innsatte genene*

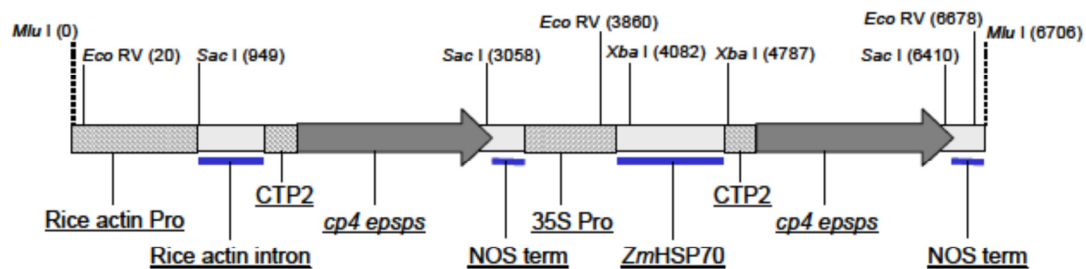
Det er benyttet Southern blot og sekvensering for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Den molekylærbiologiske karakteriseringen viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment i NK603 fôrmais. Innsatte gener og regulatoriske elementer i fragmenter er vist i tabell 5, og figur 4.

Tabell 5. Beskrivelse av innsatte gener og regulatoriske elementer i NK603.

<b>CP4-epsps ekspresjonskasset 1</b>	
<i>P-RactI/I-RactI</i>	Promoter og intron fra ris ( <i>Oryza sativa</i> ) aktin 1 gen (1,4 kb). Uttrykkes ikke i planten.
<i>TS-CTP2</i>	N-terminal kloroplasttransittpeptid (TS-CTP) fra <i>EPSPS</i> -genet fra vårskrinneblom ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )-genet. Overfører CP4-EPSPS protein til kloroplast.
<i>CS-Cp4-epsps</i>	Gen som koder for et syntetisk CP4-EPSPS protein. Genet <i>5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase</i> stammer fra jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> stamme CP4 (1,4 kb).
<i>T-nos 3'</i>	DNA- sekvens fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Avslutter transkripsjonen. Uttrykkes ikke i planten.
<b>CP4-epsps ekspresjonskasset 2</b>	
<i>P-e35S</i>	Promoter fra blomkålmosaikvirus ( <i>Cauliflower mosaic virus</i> ) (0,6 kb). Uttrykkes ikke i planten.
<i>I-Hsp70</i>	Promoter fra heatshockprotein 70 (0,8 kb). Stammer fra mais.
<i>TS-CTP2</i>	N-terminal kloroplasttransittpeptid (TS-CTP) fra <i>EPSPS</i> -genet fra vårskrinneblom ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )-genet. Overfører CP4-EPSPS protein til kloroplast.
<i>CS-Cp4-epsps l214p</i>	Gen som koder for et syntetisk CP4-EPSPS protein. Genet <i>5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase</i> stammer fra jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> stamme CP4 (1,4 kb).
<i>T-nos 3'</i>	DNA-sekvens fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Avslutter transkripsjonen. Uttrykkes ikke i planten.

#### Karakterisering av geninnsettingen

Molekylærbiologisk analyse av NK603 viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i bakterien. EPSPS-proteinet som uttrykkes i NK603 er, med unntak av en aminosyre, identisk med proteinet som uttrykkes i bakterien.



Figur 4. Rekombinant lineært DNA-fragment i genomet til maislinjen NK603. Det rekombinante DNA-fragmentet er på 6706 basepar og stammer fra plasmidet PV-ZMGT32.



Ved revers transkriptase PCR (RT PCR) ble det påvist et transkripsjonsprodukt som startet inne i det rekombinante fragmentet. Transkripsjonen gikk gjennom NOS-terminatoren og inn i maisgenomets flankerende 3' område. To eller flere mRNA-molekyler ble dannet, ett på 1,4 kb (antatt å være *cp4-epsps L214P* transkriptet) og ett større enn 1,4 kb (antatt gjennomlesning av NOS). RT PCR viste at kun en svært liten del av det store fragmentet inneholdt *cp4-epsps* sekvens. I motsetning til transkriptet på 1,4 kb, kunne ikke dette transkriptet påvises med Northern blot.

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er analysert, 300 bp oppstrøms og 500 bp nedstrøms. Sammenlignende analyse med foreldrelinjen LH82xB73 viste at de flankerende sekvensene til NK603s DNA-fragment stammer fra foreldrelinjen.

Strukturell og funksjonell likhet mellom CP4 EPSPS og CP4 EPSPS1214p er undersøkt med røntgenkristallanalyse, variabel løkkestruktur i proteinet som inneholder det nye prolinet, og domenet som inneholder det nye prolinet. Disse analysene viser at CP4 EPSPS 1214p-proteinene er strukturelt lik CP4 EPSPS-proteinene. Analyse av enzymatisk aktivitet viser ingen forskjell mellom de to proteinene. Fordøyelighetstest viste også at begge proteinene fordøyes like raskt i simulert mage-og tarmsaft. Mengde CP4-EPSPS i korn er anslått til 0,01 % av den totale proteinmengden.

#### *Nedarving og stabilitet av innsatt DNA*

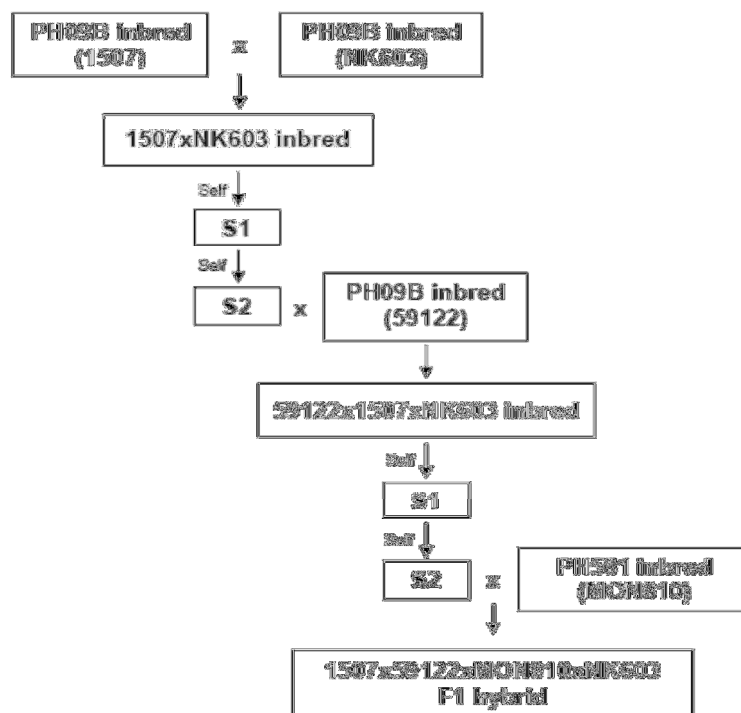
Krysning over seks generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjon viser at det rekombinante EPSPS-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet.

#### *Delkonklusjon*

Faggruppen har tidligere vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av CP4 EPSPS-proteinene og funnet at informasjonen er tilstrekkelig (VKM 2005b). Faggruppen konkluderer med at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i NK603 er tilfredsstillende.

## 2.3 Transgene konstrukt i hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603

Hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom maislinjene 1507, NK603, 59122 og MON810 (figur 5). Cry1Ab-, Cry34Ab1-, Cry35Ab1-, Cry1F-, CP4 EPSPS- og PAT- proteinene som uttrykkes i maiskorn og fôr er undersøkt med Southern-blot analyse. Analysene viser at de rekombinante fragmentene i planten inneholder de samme gener og genelementer som er i foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603.



Figur 5. Kryssingsskjema som viser produksjon av testhybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603.

## 2.4 Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener, åpne leserammer (ORF)

*1507 x 59122 x MON810 x NK603 (Teknisk Dossier, vedlegg 4e, 4f)*

I vedlagte søknad presenterer Pioneer resultater fra en proteinekspresjonsstudie i USA vekstsesongen 2008. Forsøkene ble lagt ut på tre lokaliteter i representative områder for kommersiell maisdyrking i USA. Forsøkene inkluderte foruten en nær-isogen umodifisert kontrollsort, foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603 behandlet med konvensjonelt herbicidregime, samt testhybriden 1507x59122xMON810xNK603 sprøytet med enten de tiltenkte herbicidene glyfosat og glufosinat-ammonium eller konvensjonelle herbicider. For nærmere beskrivelse av testmateriale, forsøksdesign og –metodikk, se kapittel 3.

Ekspressjonen av Cry1F-, Cry34Ab1-, Cry35Ab1-, PAT-, Cry1Ab- og CP4 EPSPS-proteinene ble målt ved hjelp av enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) i ulike plantevev på ulike vekststadier. I henhold til søkers dokumentasjon ble det tatt prøver av frø fra test- og kontrollruter når plantene var fysiologisk modne (R6), og av pollen, blad, stilk og røtter på vekststadium R1. For nærmere beskrivelse av utviklingsstadier hos mais, se forkortelser og ordforklaringer.

Least Square Means ble benyttet ved testing av forskjeller i proteinkonsentrasjon mellom konvensjonelt sprøytet testhybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og hver av foreldrelinjene, og mellom testhybrid sprøytet med tiltenkte herbicider og de respektive foreldrelinjene. For å redusere problemet med falske positive effekter har søker benyttet metoden «False discovery rate» (FDR) (Benjamini & Hochberg 1995) for å korrigere p-verdiene fra de multiple sammenligningene. Detekterte forskjeller ble vurdert signifikant hvis den FDR-justerte p-verdien var under 0,05.

Søker viser til at siden det omsøkte bruksområde omfatter import, prosessering, mat og fôr, er det mest relevant å fokusere på proteinkonsentrasjonsnivåene som er målt i frø. Nivåene av Cry-proteiner, CP4 EPSPS og PAT i frø av 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og respektive foreldrelinjer er vist i tabell 6. Studien viste ingen signifikante effekter av herbicidbehandling på uttrykket av Cry- og CP4 EPSP- og PAT-proteiner i maishybriden ( $p > 0,05$ ). Nivåene av målte proteinprodukter i frø fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 var også i overensstemmelse med variasjonsområdene for korresponderende proteiner i de respektive foreldrelinjene.

Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry1F, Cry34Ab1, Cry35Ab1, PAT og CP4 EPSPS i pollen, blad, stilk og røtter fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og respektive foreldrelinjer er vist i vedlegg 1 (tabell 1-4). Ekspresjonen av de ulike proteinene i hybridene var i hovedsak i overensstemmelse med variasjonsområdet for i de aktuelle foreldrelinjene. Det ble imidlertid funnet signifikante høyere nivå av PAT-protein i blad fra konvensjonelt sprøytet 1507 x 59122 x MON810 x NK603 sammenlignet med nivåene i maislinjene 1507 og 59122 ( $p < 0,05$ ) (FDR-justerte p-verdier) (tabell 1 & 2, vedlegg 1). Dette relateres til tilstedeværelse av to kopier av *pat*-genet i maishybriden, mens foreldrelinjene 1507 og 59122 kun inneholder en enkelt kopi av genet. Søker påpeker at den relative mengden av PAT-protein er høyere i bladvev sammenlignet med øvrige analyserte vev, og at det derfor ikke er uventet at tilsvarende forskjeller ikke observeres i prøver fra andre vev.

Det bemerkes også at det ble påvist signifikant høyere konsentrasjon av CP4 EPSPS-protein i pollen fra hybridene sprøytet med tiltenkte herbicider sammenlignet med pollen fra NK603 ( $p < 0,05$ ) (tabell 4, vedlegg 1). Tilsvarende forskjeller mellom konvensjonelt sprøytet 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og foreldrelinjen NK603 ble ikke vist. Studier har vist at glyfosat virker som et gametocid, som medvirker til gametoseleksjon i pollenkorner fra ikke-transgene sorter (Walker et al. 2006). Dette medfører at den relative andelen med modne pollenkorner som uttrykker CP4 EPSPS-protein øker etter glyfosatsprøyting.

Analysen av samtlige prøver av umodifisert kontrollmais (uavhengig av protein og vevstype), viste nivåer under LLOQ (Lower Limit of Quantitation).

#### *Doble- og triple hybrider basert på kryssinger av 1507, 59122, MON810 og NK603*

I og med at søknad EFSA/GMO/NL/2011/92 også omfatter alle kombinasjoner av kryssinger mellom 1507, 59122, MON810 og NK603 i form av doble og triple «stacker», har søker lagt ved informasjon vedrørende 5 hybrider som ikke tidligere er risikovurdert av EFSA (tabell 1). Dette inkluderer proteinkonsentrasjonsstudier basert både på feltforsøk og forsøk under kontrollerte betingelser i veksthus (tabell 7-9). I tillegg er det inkludert oppsummeringer av hybridene som er risikovurdert og godkjent i EU (tabell 1).

#### **1507 x MON810 x NK603**

Hybriden ble testet i samme forsøksserie som 1507x59122xMON810xNK603 på tre lokaliteter i USA vekstsesongen 2008. Studien viste ingen signifikante effekter av herbicidbehandling eller «stacking» på uttrykket av Cry- og CP4 EPSP- og PAT-proteiner i frø fra maishybriden ( $p > 0,05$ ) (tabell 7). Nivåene av målte proteinprodukter i 1507 x MON810 x NK603 var også i overensstemmelse med variasjonsområdene for korresponderende proteiner i de respektive foreldrelinjene.

**1507 x 59122 x MON810**

Ekspresjonen av Cry- og PAT-protein ble studert i et veksthusforsøk med maishybrid 1507x59122xMON810 og foreldrelinjer. Samtlige maislinjer ble behandlet med et konvensjonelt herbicidregime (tabell 9). Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom proteinkonsentrasjon i hybridene 1507x59122xNK509 og de respektive foreldrelinjene ( $p>0,05$ ).

**Tabell 6. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry1F-, Cry34Ab1-, Cry35Ab1-, Cry1Ab-, CP4 EPSPS- og PAT-protein i frø fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og de respektive foreldrelinjer. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.**

Protein (ng/mg t.v.)	Konvensjonell sprøyting		Sprøyting med tiltenkte herbicer		Konvensjonell sprøyting							
	1507 x 59122 x MON810 x NK603				1507		59122		MON810		NK603	
	Gj.snitt <sup>a</sup>	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.
<b>Cry1F</b>	4,1	2,5-8,7	3,9	1,6-6,6	3,7	<0,069-6,9	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>Cry34Ab1</b>	29	14-54	32	12-51	NA	NA	30	17-60	NA	NA	NA	NA
<b>Cry35Ab1</b>	1,3	0,69-2,2	1,2	0,51-2,2	NA	NA	1,3	0,84-2,0	NA	NA	NA	NA
<b>PAT</b>	0,075	<0,069-0,15	0,009	<0,069-0,36	<0,069	<0,069	0,072	<0,069-0,15	NA	NA	NA	NA
<b>Cry1Ab</b>	0,23	0,096-0,54	0,23	0,093-0,42	NA	NA	NA	NA	0,25	0,084-0,39	NA	NA
<b>CP4 EPSPS</b>	8,5	3,9-17	13	6,3-20	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12	7,2-20

<sup>a</sup> Ingen statistisk signifikante forskjeller mellom proteinkonsentrasjon i hybridene 1507x59122xMON810xNK509 og respektive foreldrelinjer ( $p>0,05$ ).

**Tabell 7. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry1F-, Cry1Ab-, CP4 EPSPS- og PAT-protein i frø fra 1507 x MON810 x NK603 og de respektive foreldrelinjer. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.**

Protein (ng/mg t.v.)	Konvensjonell sprøyting		Sprøyting med tiltenkte herbicerider		Konvensjonell sprøyting					
	1507 x MON810 x NK603				1507		MON810		NK603	
	Gj.snitt <sup>a</sup>	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.
<b>Cry1F</b>	4,5	2,9-8,4	4,0	2,1-7,2	3,7	<0,069-6,9	NA	NA	NA	NA
<b>PAT</b>	0,071	<0,69- 0,12	0,071	<0,069- 0,14	<0,069	<0,069	NA	NA	NA	NA
<b>Cry1Ab</b>	0,27	0,087- 0,48	0,27	0,14-0,60	NA	NA	0,25	0,084- 0,39	NA	NA
<b>CP4 EPSPS</b>	11	5,4-19	13	7,2-23	NA	NA	NA	NA	12	7,2-20

<sup>a</sup>Ingen statistisk signifikante forskjeller mellom proteinkonsentrasjon i hybridene 1507xMON810xNK509 og respektive foreldrelinjer ( $p > 0,05$ ).

**Tabell 8. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1Ab- og PAT-protein i frø fra 59122 x MON810 og respektive foreldrelinjer. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.**

Protein (ng/mg t.v.)	Konvensjonell sprøyting		Sprøyting med tiltenkte herbicider		Konvensjonell sprøyting			
	59122 x MON810				59122		MON810	
	Gj.snitt <sup>a</sup>	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.
<b>Cry34Ab1</b>	30	17-48	26	12-54	30	17-60	NA	NA
<b>Cry35Ab1</b>	1,3	0,72-2,8	1,2	0,54-2,4	1,3	0,84-2,0	NA	NA
<b>PAT</b>	0,085	<0,069- 0,26	0,069	<0,069- 0,075	0,072	<0,069-0,15	NA	NA
<b>Cry1Ab</b>	0,27	0,15-0,60	0,28	0,14-0,45	NA	NA	0,25	0,084-0,39

<sup>a</sup>Ingen statistisk signifikante forskjeller mellom proteinkonsentrasjon i hybridene 59122xMON810 og respektive foreldrelinjer ( $p > 0,05$ ).

**Tabell 9. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry1F-, Cry34Ab1-, Cry35Ab1-, Cry1Ab-, og PAT-protein i frø fra konvensjonelt sprøytet 1507 x 59122 x MON810, 59122 x MON810 og 1507 x MON810 og respektive foreldrelinjer. Resultater fra veksthusforsøk i 2008.**

Protein (ng/mg t.v.)	Konvensjonell sprøyting											
	1507 x 59122 x MON810		59122 x MON810		1507 x MON810		1507		59122		MON810	
	Gj.snitt <sup>a</sup>	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.	Gj.snitt	Var.omr.
<b>Cry1F</b>	2,7	2,0-3,6	NA	NA	2,5	1,9-3,0	2,4	1,5-3,6	NA	NA	NA	NA
<b>Cry34Ab1</b>	32	25-36	33	24-45	NA	NA	NA	NA	29	23-36	NA	NA
<b>Cry35Ab1</b>	1,6	1,3-2,3	1,7	1,4-2,3	NA	NA	NA	NA	1,7	1,4-2,1	NA	NA
<b>PAT</b>	0,086	<0,069- 0,16	<0,069	<0,069	<0,069	<0,069	0,069	<0,069- 0,069	<0,069	<0,069	NA	NA
<b>Cry1Ab</b>	0,26	0,21-0,33	0,26	0,17-0,39	0,30	0,21-0,36	NA	NA	NA	NA	0,27	0,15-0,39

<sup>a</sup> (p>0,05).

### **59122 x MON810**

Hybriden ble testet i samme forsøksserie som 1507x59122xMON810xNK603 på tre lokaliteter i USA vekstsesongen 2008. Studien viste ingen signifikante effekter av herbicidbehandling eller «stacking» på uttrykket av Cry34Ab-, Cry35Ab1-, Cry1Ab- og PAT-protein i frø fra maishybriden ( $p>0,05$ ) (tabell 8). Nivåene av målte proteinprodukter i 59122 x MON810 var også i overensstemmelse med variasjonsområdene for korresponderende proteiner i de respektive foreldrelinjene.

Proteinekspressjonen i 59122 x MON810 ble også studert i veksthus, der både hybrid og enkeltlinjer ble behandlet med konvensjonelle herbicider. Resultatet viste tilsvarende nivå av proteinene i både hybrid og enkeltlinjer (tabell 9).

### **1507 x MON810**

Ekspressjonen av Cry1F, Cry1Ab og PAT ble studert i et veksthusforsøk med maishybrid 1507xMON810 og foreldrelinjer. Samtlige maislinjer ble behandlet med et konvensjonelt herbicidregime (tabell 9). Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom proteinkonsentrasjon i hybrid 1507xMON810 og de respektive foreldrelinjene ( $p>0,05$ ).

### **59122 x MON810 x NK603**

Søker har ikke utført spesifikke proteinekspressjonsstudier med 59122 x MON810 x NK603. Det vises imidlertid til at to kombinasjoner av de doble «stacker» (59122xNK603 og MON810xNK603) tidligere er risikovurdert, og at den tredje dobbelt-hybrid (59122xMON810) er vurdert og diskutert. Det konkluderes med at basert på dette, samt proteinstudier med kvadrupel-hybrid, er det ingen indikasjoner på uventede endringer i uttrykket av de innsatte genene i trippelhybrid 59122xMON810xNK603.

## **2.5 Nedarving og stabilitet av innsatt DNA**

I henhold til dokumentasjonen fra søker er genetisk stabilitet undersøkt ved Southern blot-analyse av genomisk DNA fra 69 frøplanter av F<sub>1</sub>-hybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603. De molekylærbiologiske analysene viser ekvivalens og identisk kopitall mellom de rekombinante innskuddene i de respektive foreldrelinjene, og at de rekombinante innskuddene i foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603 er stabilt integrert i genomet hos hybrid.

Videre har analyser av proteinekspressjon og agronomiske karakterer bekreftet stabil nedarving og stabilt uttrykk av de innsatte genene *cry1F*, *cry34Ab*, *cry35Ab1*, *pat*, *cry1Ab* og *cp4 epsps* etter konvensjonelle kryssinger mellom de transgene maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603.

Søker viser også til at stabilitet av innsatt DNA er vist i forbindelse med tidligere risikovurderinger av foreldrelinjene, samt fem doble og triple hybrider, basert på kryssinger med de samme linjene (EFSA 2005a,b,c, 2006, 2008, 2009 b,c,d, 2010b).

## **2.6 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag**

F<sub>1</sub>-hybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom de innavlede maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603. Southern-analyser indikerer at antall, struktur og organisering av de innsatte genkonstruksjonene i maishybrid er ekvivalent med de som finnes i de respektive foreldrelinjene. Nivåene av Cry1F-, Cry34Ab-, Cry35Ab1-, PAT-, Cry1Ab- og CP4 EPSPS-protein i frø og vegetativt vev er sammenlignbare med uttrykk av tilsvarende proteinprodukter i foreldrelinjene. På bakgrunn av tilstedeværelse av to kopier av *pat*-genet i 1507 x 59122 x MON810 x NK603, er konsentrasjonen av PAT-proteinet imidlertid signifikant høyere i bladvev fra hybrid sammenlignet med foreldrelinjene 1507 og 59122.



## 3 Komparative analyser

### 3.1 Sammendrag av tidligere vurderinger av foreldrelinjer

#### 3.1.1 1507

Maislinjen 1507 og korresponderende umodifisert kontroll ble testet i feltforsøk på 6 lokaliteter i Chile 1998-1999, 3 lokaliteter i Frankrike og Italia i 1999, og 6 lokaliteter i Frankrike, Italia og Bulgaria vekstsesongen 2000. I de chilenske forsøkene ble samtlige forsøksruter med testlinjen sprøytet med glufosinat-ammonium, mens det i de europeiske forsøkene ble kjørt parallelle herbicidregimer. På grunnlag av resultatene fra komparative analyser av ernæringsmessige parametere konkluderte EFSA med at med unntak av tilstedeværelse av Cry1F- og PAT-proteinene, er fôr og korn fra maislinjen 1507 ekvivalent med umodifisert, nær-isogen kontroll og kommersielle maissorter (EFSA 2005 a,b, 2010b). I tillegg viser EFSA's GMO-panel til at feltforsøk i USA i 1999, Frankrike, Italia og Bulgaria i 2000 og Spania i 2002, ikke indikerer utilsiktede, pleiotrofe effekter av genmodifiseringen på agronomiske og fenotypiske karakterer (EFSA 2005a, 2005b).

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer har vurdert maislinjen som næringsmiddel og fôrvarer i 2004 (VKM 2004a,b). Faggruppen påpekte at de statistiske analysene av hoved- og næringskomponenter ikke var i henhold til Retningslinjer for risikovurdering av ny mat, og det derfor ikke kunne konkluderes med hensyn på om modifisert og umodifisert mais er vesentlig like ("substantial equivalence"). Faggruppen etterlyste analyser av selen, vitaminene A, C, B6, niacin og pantotensyre, den sekundære plantemetabolitten ferulsyre, antinæringskomponenten 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-2*H*-1,4-benzoxazin-3(4*H*)-one (DIMBOA), DIMBOA-glykosid og metabolitten MBOA samt metallene Cd, Cr, Hg og Pb. Det ble etterlyst statistiske analyser innen forsøkslokaliteter og variasjonsområde for nevnte komponenter hos kontroll- og genmodifisert mais innen hver lokalitet. Faggruppen konkluderte imidlertid med at den genmodifiserte maisen ikke synes å være forskjellig fra umodifisert mais med hensyn på fôr kvalitet.

#### 3.1.2 59122

Maislinjen 59122 og korresponderende umodifisert kontroll ble testet i feltforsøk på 6 lokaliteter i Chile 2002-2003, 3 lokaliteter i USA i 2003, 2 lokaliteter i Canada i 2003, 3 lokaliteter i Bulgaria i 2003 og 2004, og 3 lokaliteter i Spania i 2004. Forsøkene inkluderte umodifisert, nær-isogen kontroll, samt testlinjen 59122 usprøytet, og sprøytet med tiltenkt herbicid. På grunnlag av resultatene fra komparative analyser av ernæringsmessige parametere konkluderte EFSA med at med unntak av tilstedeværelse av Cry34Ab1-, Cry35Ab1- og PAT-proteiner, er fôr og korn fra maislinjen 59122 ekvivalent med umodifisert, nær-isogen kontroll og kommersielle maissorter (EFSA 2007b, 2010b). I tillegg viser EFSA's GMO-panel til at feltforsøk på ulike lokaliteter og over flere vekstsesonger ikke indikerer utilsiktede, pleiotrofe effekter av genmodifiseringen på agronomiske og fenotypiske karakterer (EFSA 2007b).

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning av maislinjen 59122 til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer i Norge, påpekte VKMs faggruppe for GMO på signifikante forskjeller mellom den transgene linjen og kontroll med hensyn på enkelte av de analyserte parameterne (VKM 2008a). Det ble imidlertid vist til at verdiene lå innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anså at disse forskjellene ikke har noen helsemessig signifikans, og konkluderte med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen 59122 er forskjellig fra umodifisert mais. Faggruppen uttalte videre at studier av maislinjen i felt i Europa, samt Chile, USA og Canada ikke indikerer uventede pleiotrofe endringer i fenotypiske og agronomiske egenskaper.

### 3.1.3 MON810

Maislinjen MON810 og korresponderende umodifisert kontroll har vært testet i feltforsøk på over 60 lokaliteter i USA i perioden 1993-1995, og på 18 ulike forsøkssteder i Italia og Frankrike i 1994 og 1995. I tillegg har maislinjen vært dyrket kommersielt siden 1997. Basert på disse forsøkene konkluderte EUs tidligere Vitenskapskomité for planter med ekvivalens mellom MON810 og nær-isogen kontroll (SCP 1998).

I forbindelse med søknad om fornyet godkjenning av maislinjen til mat, fôr og dyrking, konkluderte EFSA's GMO-panel at med unntak av tilstedeværelse av Cry1Ab-protein, er fôr og korn fra maislinjen MON810 ekvivalent med umodifisert, nær-isogen kontroll og kommersielle maissorter med hensyn på ernæringsmessige, fenotypiske og agronomiske karakterer (EFSA 2009c). Konklusjonen er basert på analyser av forsøk med MON810, samt hybrider der MON810 inngår som en av foreldrelinjene.

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning maislinjen MON810 til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer i Norge, påpekte VKMs faggruppe for GMO på signifikante forskjeller mellom den transgene linjen og kontroll med hensyn på enkelte av de analyserte parameterne (VKM 2007a). Det ble imidlertid vist til at verdiene lå innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anså at disse forskjellene ikke har noen helsemessig signifikans, og konkluderte med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen MON810 er forskjellig fra umodifisert mais

### 3.1.4 NK603

Maislinjen NK603 og korresponderende umodifisert kontroll ble testet i feltforsøk i USA i 1998 og Europa i 1999. Feltforsøkene inkluderte ubehandlede forsøksruter med testlinjen, samt forsøksruter som ble sprøytet med tiltenkt herbicid. Plantemateriale fra disse forsøkene ble analysert med hensyn på totalt 58 karakterer (51 i maiskorn, 7 i fôrfraksjon). EFSA's GMO-panel viser til at nivåene av samtlige parametere enten var innenfor variasjonsområdet for den umodifiserte kontrollsorten som inngikk i forsøkene eller i tråd med variasjonsområdene for disse komponentene som er publisert i litteraturen (EFSA 2003a,b, 2009b). GMO-panelet konkluderte med at det ikke ble funnet konsistente forskjeller som skulle tilsi behov for ytterligere studier.

I forbindelse med VKMs helserisikovurdering av NK603 fra 2005, påpekte faggruppen at enkelte av komponentene som OECDs konsensusdokument for mais anbefaler analyser av, ikke er utført (VKM 2005b). Dette gjelder parameterne vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, folinsyre, vit. C, niacin, xantofyller og β-karoten, chymotrypsinhemmer, hydroksaminsyrene DIMBOA og MBOA, og selen. Faggruppen konkluderte derfor med at det var blitt utført for få analyser av ernæringsmessige komponenter til å fastslå om den genmodifiserte maisen er vesentlig lik den umodifiserte utgangssorten. Faggruppen anså imidlertid ikke at analysene av disse komponentene var avgjørende for å vurdere mattrygghet for den aktuelle genmodifiserte maisplanten.

## 3.2 Valg av komparator og produksjon av plantemateriale for komparative analyser

### *1507x59122xMON810xNK603*

I henhold til dokumentasjon fra Pioneer Hi Bred Int. er den transgene maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 testet i feltforsøk i USA vekstsesongen 2008. Feltforsøkene for komparative analyser av ernæringsmessige, fenotypiske og agronomiske karakterer ble utført på til sammen seks lokaliteter i sentrale dyrkingsområder for mais i USA (Illinois (2), Iowa (2), Wisconsin og Minnesota).

Kryssingsskjema for F1-hybriden 1507x59122xMON810xNK603 som ble benyttet i studien, er vist i figur 5. Innavlede linjer av 1507, 59122 og NK603 ble utviklet ved tilbakekryssinger av hver av eventene til Pioneers innavlede maislinje PH09B, mens MON810 ble krysset inn i en annen genetisk

bakgrunn (PH581). Kryssinger av de innavlede linjene 1507 og NK603 resulterte i hybridene 1507xNK603, som etter to runder med selvbestøvning ble krysset med 59122. Trippelhybridene 1507x59122xNK603 ble videre selvbestøvet og S2-generasjonen krysset med en innavlet linje av MON810 (PH581).

I tillegg til F1-hybridene, inkluderte forsøkene en umodifisert, nær-isogen, F1-hybrid som komparator. Kontrollhybridene ble dannet ved kryssinger av de innavlede maislinjene PH09B og PH581.

Det bemerkes at søker ikke har benyttet referansesorter i feltforsøket fra 2008. I henhold til EFSA's retningslinjer skal feltforsøk for komparative vurderinger av ernæringsmessige og agronomiske karakterer inkludere minimum 3 referansesorter med "history of safe use" (EFSA 2011a).

Ved sammenligning med normalt variasjonsområde hos konvensjonelle maissorter har søker benyttet ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007), samt OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). I tillegg er det beregnet toleranseintervall for den enkelte parameter basert på data fra to studier gjennomført i henholdsvis 2003 (PHI-2003-031-annex 7) og 2007 (PHI-2007-032-annex 8). I disse forsøkene ble totalt 6 umodifiserte, kommersielle maissorter testet i feltforsøk på henholdsvis 6 og 5 lokaliteter i USA.

Testlinje og komparator ble sådd ut i fullstendig randomiserte blokkdesign med tre gjentak på hver lokalitet. Hver forsøksrute bestod av to 7,6 m lange rader, med en avstand mellom radene på 0,76 cm. Forsøksruter med testhybridene ble enten sprøytet med de tiltenkte herbicidene glyfosat og glufosinat-ammonium, eller behandlet med et konvensjonelt herbicidregime. Det ble foretatt to sprøytinger med glyfosat- og glufosinat-preparatene Roundup WeatherMax og Liberty i løpet av vekstsesongen. Sprøytingene ble utført på vekststadiene V4 og V7, med doseringer tilsvarende 1,06-1,15 lb ai/A av glyfosat og 0,36-0,45 av glufosinat-ammonium. Søker viser ellers til at øvrig dyrkingsregime var i henhold til vanlig praksis i den enkelte region der forsøkene var lokaliserte.

### Statistiske analyser

I forbindelse med de komparative vurderingene av 1507 x 59122 x MON810 x NK603 har søker foretatt to separate statistiske analyser:

- Konvensjonelt behandlet 1507 x 59122 x MON810 x NK603 sammenlignet med umodifisert, nær-isogen komparator.
- 1507 x 59122 x MON810 x NK603 sprøytet med tiltenkte herbicider sammenlignet med umodifisert, nær-isogen komparator.

Det er utført variansanalyse over og innen lokaliteter for hver enkelt karakter. For analyser over lokaliteter ble det benyttet en blandet variansanalysemodell, med forsøksledd (genotype) som fast effekt, og sted, blokk innen lokalitet og samspill sted x forsøksledd som tilfeldige effekter som standard.

For en gitt karakter, ble data analysert ved hjelp av følgende lineære, blandete modell:

$$y_{ijk} = \mu_i + \ell_j + r_{k(j)} + \varepsilon_{ijk}$$

$$\ell_j \sim iid N(0, \sigma_{Site}^2), r_{k(j)} \sim iid N(0, \sigma_{Block}^2)$$

der

where  $\mu_i$  denotes the mean of the  $i^{\text{th}}$  entry (fixed effect),  $\ell_j$  denotes the effect of the  $j^{\text{th}}$  site (random effect),  $r_{k(j)}$  denotes the effect of the  $k^{\text{th}}$  block within the  $j^{\text{th}}$  site (random effect) and  $\varepsilon_{ijk}$  denotes the residual for the observation obtained from the plot assigned to the  $i^{\text{th}}$  entry in the  $k^{\text{th}}$  block of the  $j^{\text{th}}$  site. Notation  $\sim iid N(0, \sigma_x^2)$  indicates random variables that are identically independently distributed (*iid*) as normal with zero mean and variance  $\sigma_x^2$ .

For generering av varianskomponentestimer har søker benyttet Residual Maximum Likelihood (REML). I de tilfeller der REML-estimatene for genotype-sted-varienskomponenten ( $\delta_{gxe}$ ) var null, ble deler av modellen med tilfeldige effekter endret til Compound Symmetry (CS)-modell, som tillater negativ kovarians.

Effekt av behandling/forsøksledd ble estimert ved hjelp av F-test, og parede t-tester ble kjørt mellom ubehandlede ledd (umodifisert kontroll og GM-mais usprøytet og sprøytet med glyfosat+GA). I tillegg er det kjørt deskriptiv statistikk (gj. snitt, standardfeil, min. og maks. verdi) for testlinjen og kontroll.

”LS means” er benyttet for å teste forskjeller i gjennomsnittsverdier mellom umodifisert kontroll og testhybriden 1507x59122xMON810xNK603. Søker har benyttet «False discovery rate» (FDR) (Benjamini & Hochberg 1995) for å korrigere p-verdiene fra den multiple testingen og dermed redusere problemet med falske positive effekter. Detekterte forskjeller ble vurdert signifikant hvis den FDR-justerte p-verdien var under 0,05. Ved påvisning av signifikante forskjeller mellom testhybrid og kontroll for en gitt parameter i variansanalysen over forsøkssteder, er det også foretatt analyser innen steder. I tillegg ble de respektive, individuelle verdiene sammenlignet med aktuelt toleranseintervall generert ut fra tidligere studier.

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  $\pm 20\%$ . Faggruppe for genmodifiserte organismer benytter denne anbefalingen som grunnlag for vurdering av forsøksresultatene.

### 3.3 Analyser av ernæringsmessige komponenter

#### 3.3.1 Fôrfraksjon

*Hovedkomponenter, fiber og mineraler*

Fôrfraksjonen er analysert for innhold av aske, fett, protein, vann, råfiber, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), fosfor, kalsium og karbohydrater.

Analyser over steder viser ingen signifikante forskjeller mellom umodifisert kontroll og testhybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 (henholdsvis sprøytet med tiltenkte herbicider glyfosat og glufosinat ammonium, og sprøytet med konvensjonelle herbicider) for noen av de analyserte komponentene (FDR-justert P-verdi<0,05) (tabell 10). Verdiene ligger innenfor toleranseintervallene basert på feltforsøk med umodifiserte maissorter i USA i 2003 og 2007, og innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007).

**Tabell 10.** Analyser av hovedkomponenter, fiber og mineraler i fôrfraksjon fra nær-isogen umodifisert kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glyfosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.

Proximates and Fiber composition (% Dry Weight)		Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
Crude Protein	Mean	7.97	8.09	7.90	3.35 - 14.6	3.14 - 15.9
	Range	6.24 - 9.64	6.21 - 10.0	5.39 - 9.64		
	CI	7.18 - 8.69	7.31 - 8.80	7.11 - 8.63		
	FDR		0.866	0.955		
	P-Value		0.581	0.746		
Crude Fat	Mean	3.10	3.14	3.02	1.17 - 3.98	0.296 - 6.7
	Range	2.36 - 4.01	2.35 - 4.61	2.09 - 3.69		
	CI	2.71 - 3.53	2.75 - 3.58	2.65 - 3.45		
	FDR		0.903	0.931		
	P-Value		0.78	0.611		
ADF	Mean	28.3	28.3	28.9	17.8 - 42.0	16.1 - 47.4
	Range	24.8 - 33.9	25.2 - 32.5	25.7 - 32.5		
	CI	26.7 - 29.9	26.7 - 29.9	27.3 - 30.5		
	FDR		0.975	0.822		
	P-Value		0.975	0.403		
Crude Fiber	Mean	22.2	22.3	23.3	13.4 - 32.6	19 - 62.8
	Range	15.5 - 25.6	18.4 - 26.4	20.7 - 25.9		
	CI	21.0 - 23.5	21.1 - 23.5	22.1 - 24.5		
	FDR		0.963	0.417		
	P-Value		0.875	0.0764		

Proximates and Fiber composition (% Dry Weight)		Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
NDF	Mean	49.2	49.0	50.9	30.8 - 71.4	20.3 - 63.7
	Range	41.6 - 53.1	44.1 - 53.4	47.6 - 54.4		
	CI	47.6 - 50.7	47.4 - 50.5	49.3 - 52.4		
	FDR		0.903	0.357		
	P-Value		0.788	0.0452		
Ash	Mean	4.84	4.88	4.72	0.773 - 8.52	1.3 - 10.5
	Range	2.53 - 6.43	3.08 - 6.06	3.01 - 6.26		
	CI	3.94 - 5.74	3.98 - 5.77	3.82 - 5.62		
	FDR		0.903	0.817		
	P-Value		0.744	0.273		
Carbohydrates	Mean	84.1	83.9	84.4	76.7 - 90.9	76.4 - 92.1
	Range	82.2 - 85.8	81.6 - 86.8	80.9 - 87.1		
	CI	82.9 - 85.3	82.7 - 85.1	83.2 - 85.6		
	FDR		0.866	0.822		
	P-Value		0.602	0.417		
Calcium	Mean	0.225	0.245	0.243	0 - 0.563	0.0714 - 0.6
	Range	0.0868 - 0.334	0.139 - 0.431	0.154 - 0.428		
	CI	0.172 - 0.278	0.192 - 0.298	0.190 - 0.296		
	FDR		0.281	0.383		
	P-Value		0.0356	0.0539		
Phosphorus	Mean	0.241	0.264	0.257	0.0198 - 0.465	0.0936 - 0.55
	Range	0.193 - 0.304	0.165 - 0.322	0.191 - 0.297		
	CI	0.209 - 0.273	0.231 - 0.296	0.225 - 0.289		
	FDR		0.274	0.437		
	P-Value		0.0226	0.0862		

### 3.3.2 Maiskorn

I maiskorn ble følgende parametere analysert; protein, fett, aske, vann, karbohydrater, råfiber, ADF, NDF, aminosyrer, fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, vitaminene B1, B2, B3, B5, B6, totalt E og  $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -, $\delta$ -tokoferol, folinsyre og  $\beta$ -karoten, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-kumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre, inositol, trypsinhemmer og raffinose, samt totalt 29 fettsyrer. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

*Hovedkomponenter og fiber*

Følgende hovedkomponenter er målt: protein, fett, aske, karbohydrater, råfiber, ADF og NDF. Analysene ble utførte under god laboratoriepraksis (GLP). Kombinerte analyser over forsøkssteder viste ingen signifikante forskjeller mellom umodifisert kontroll og testhybrid for verken hovedkomponenter eller fiber (tabell 11). Verdiene for samtlige komponenter ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

**Tabell 11. Analyser av hovedkomponenter og fiber i korn fra umodifisert, nær-isogen kontrollinje og 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glufosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.**

Proximates and Fiber composition (% Dry Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range	
Crude Protein	Mean	10.3	10.4	10.3	6.59 - 13.5	6 - 17.3
	Range	8.23 - 11.5	8.48 - 11.6	8.63 - 11.5		
	CI	9.48 - 11.1	9.59 - 11.2	9.40 - 11.1		
	FDR		0.874	0.965		
	P-Value		0.667	0.775		
Crude Fat	Mean	5.00	5.26	5.28	1.45 - 5.75	2.47 - 5.90
	Range	4.23 - 5.89	4.62 - 5.91	4.22 - 5.93		
	CI	4.72 - 5.28	4.98 - 5.54	5.00 - 5.56		
	FDR		0.274	0.204		
	P-Value		0.027	0.0172		
ADF	Mean	2.69	2.64	2.70	1.43 - 5.73	1.82 - 11.3
	Range	1.73 - 3.85	1.26 - 3.51	1.89 - 3.74		
	CI	2.09 - 3.28	2.05 - 3.24	2.10 - 3.29		
	FDR		0.866	0.973		
	P-Value		0.588	0.905		
Crude Fiber	Mean	1.91	1.92	1.92	0.941 - 3.73	0.49 - 5.5
	Range	1.51 - 2.56	1.52 - 2.51	1.47 - 2.34		
	CI	1.62 - 2.20	1.63 - 2.21	1.63 - 2.21		
	FDR		0.963	0.973		
	P-Value		0.908	0.845		
NDF	Mean	8.29	8.00	7.94	5.75 - 20.6	5.59 - 22.6
	Range	5.38 - 11.4	5.47 - 11.5	4.98 - 11.3		
	CI	6.33 - 10.2	6.04 - 9.96	5.98 - 9.89		
	FDR		0.631	0.632		
	P-Value		0.222	0.142		
Ash	Mean	1.41	1.52	1.49	0.531 - 2.16	0.616 - 6.28
	Range	0.925 - 1.80	1.09 - 1.84	1.02 - 1.90		
	CI	1.21 - 1.61	1.32 - 1.72	1.29 - 1.69		
	FDR		0.59	0.817		
	P-Value		0.162	0.272		
Carbo-hydrates	Mean	83.3	82.8	83.0	80.3 - 89.7	77.4 - 89.5
	Range	81.3 - 86.0	80.8 - 84.7	81.0 - 84.9		
	CI	82.1 - 84.5	81.6 - 84.0	81.8 - 84.2		
	FDR		0.569	0.817		
	P-Value		0.112	0.303		

*Fettsyresammensetning*

Fettsyresammensetningen er målt i henhold til OECDs konsensudokument for mais (OECD 2002). Av totalt 29 analyserte fettsyrer var 17 lavere enn påvisningsgrensene. Søknaden inkluderer derfor resultater fra analyser av følgende fettsyrer: lignocersyre (C24:0), behensyre (C22:0), gadolinsyre (C20:1), arakinsyre (C20:0), linolensyre (C18:3), linolsyre (C18:2 + C18:2 isomer), oljesyre (C18:1), stearinsyre (C18:0), heptadekansyre (C17:0), palmitolsyre (C16:1) og palmitinsyre (C16:0) (tabell 12).

Kombinerte analyser over forsøkssteder viste signifikante forskjeller mellom umodifisert kontroll og testhybriden 1507x59122xMON810xNK603 med hensyn på konsentrasjon av fettsyrene oljesyre (C18:1) og linolsyre (18:2) (tabell 12). Signifikante forskjeller ble funnet for begge herbicidregimer (henholdsvis  $p < 0,001$  og  $p < 0,01$  (FDR-justerte P-verdier)). Forskjellene som er målt er imidlertid mindre enn 20 %. Verdiene for begge fettsyrene ligger også innenfor toleranseintervallene som er oppgitt av søker, og innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensudokument for mais (2002). Variansanalyse innen steder viste ingen signifikante forskjeller mellom testlinje og komparator med hensyn på innhold av oljesyre og linolsyre på noen av de 6 forsøkslokalitetene.

**Tabell 12. Analyser av fettsyrer i korn fra umodifisert, nær-isogen kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glyfosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.**

Fatty Acids Composition (% Total Fatty Acids)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
Caprylic Acid (C8:0)	Mean	0	0	NC <sup>b</sup>	0.133-0.340
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA <sup>a</sup>	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		
Capric Acid (C10:0)	Mean	0	0	NC	NR <sup>c</sup>
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		
Lauric Acid (C12:0)	Mean	0	0	0 - 0.158 <sup>d</sup>	0 - 0.687
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		
Myristic Acid (C14:0)	Mean	0	0	0 - 0.0557 <sup>d</sup>	0 - 1.0
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		
Myrist oleic Acid (C14:1)	Mean	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		
Penta decanoic Acid (C15:0)	Mean	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		
Penta decenoic Acid (C15:1)	Mean	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA		
	FDR		NA		
	P-Value		NA		

Tabell 12 forts.

Fatty Acids Composition (% Total Fatty Acids)		Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
Palmitic Acid (C16:0)	Mean	13.6	13.5	13.6	5.51 - 18.4	7 - 20.7
	Range	12.2 - 14.8	12.4 - 14.7	12.5 - 15.2		
	CI	13.0 - 14.2	12.9 - 14.1	13.1 - 14.2		
	FDR		0.804	0.973		
	P-Value		0.449	0.913		
Palmitoleic Acid (C16:1)	Mean	0.118	0.119	0.124	0 - 0.337	0 - 1
	Range	0.101 - 0.149	0.106 - 0.133	0.0945 - 0.166		
	CI	0.107 - 0.130	0.107 - 0.130	0.113 - 0.135		
	FDR		0.963	0.817		
	P-Value		0.936	0.222		
Heptadecanoic Acid (C17:0)	Mean	0.0872	0.0901	0.0899	0 - 0.189	0 - 0.111
	Range	0.0760-0.0991	0.0723 - 0.101	0.0731 - 0.107		
	CI	0.0797-0.0947	0.0832 - 0.0971	0.0825 - 0.0972		
	FDR		0.804	0.822		
	P-Value		0.363	0.402		
Heptadecenoic Acid (C17:1)	Mean	0	0	0	0 - 0.104 <sup>d</sup>	0 - 0.1
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Heptadecadienoic Acid (C17:2)	Mean	0	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Stearic Acid (C18:0)	Mean	1.69	1.74	1.74	0.566-4.67	0 - 4.0
	Range	1.46 - 2.06	1.44 - 2.01	1.45 - 2.03		
	CI	1.58 - 1.80	1.63 - 1.85	1.63 - 1.85		
	FDR		0.804	0.817		
	P-Value		0.366	0.346		
Oleic Acid (C18:1)	Mean	24.1	26.5	26.0	10.4 - 65.6	17.4 - 50
	Range	22.4 - 26.3	24.2 - 29.0	24.1 - 27.4		
	CI	23.4 - 24.9	25.8 - 27.3	25.3 - 26.8		
	FDR		0.000609*	0.00209*		
	P-Value		<0.0001	<0.0001		
Linoleic Acid (C18:2)	Mean	58.0	55.6	55.8	30.4 - 81.7	34.0 - 70
	Range	54.9 - 60.5	53.4 - 57.5	53.3 - 57.4		
	CI	56.9 - 59.0	54.5 - 56.7	54.7 - 56.9		
	FDR		0.00084*	0.00209*		
	P-Value		<0.0001	<0.0001		



Tabell 12 forts.

Fatty Acids Composition (% Total Fatty Acids)		Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
(9,15) Isomer of Linoleic Acid (C18:2)	Mean	0.425	0.336	0.605	0 - 6.92	NR
	Range	0.233 - 0.758	0.152 - 0.580	0.179 - 1.93		
	CI	0.240 - 0.753	0.196 - 0.576	0.355 - 1.03		
	FDR		0.804	0.817		
	P-Value		0.432	0.256		
Linolenic Acid (C18:3)	Mean	1.05	1.09	1.09	0 - 3.34	0 - 2.25
	Range	0.918 - 1.25	0.869 - 1.61	0.889 - 1.46		
	CI	0.957 - 1.14	0.997 - 1.18	0.992 - 1.18		
	FDR		0.59	0.817		
	P-Value		0.185	0.248		
γ-Linolenic Acid (C18:3)	Mean	0	0	0	NC	0.387-0.568
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Nona decanoic Acid (C19:0)	Mean	0	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Arachidic Acid (C20:0)	Mean	0.454	0.454	0.454	0.159-0.849	0 - 2
	Range	0.428 - 0.502	0.414 - 0.474	0.410 - 0.493		
	CI	0.440 - 0.467	0.441 - 0.467	0.441 - 0.467		
	FDR		0.963	0.979		
	P-Value		0.907	0.938		
Eicosenoic Acid (C20:1)	Mean	0.332	0.325	0.327	0.213-0.370	0 - 1.92
	Range	0.309 - 0.364	0.292 - 0.348	0.219 - 0.522		
	CI	0.314 - 0.350	0.307 - 0.343	0.309 - 0.345		
	FDR		0.804	0.905		
	P-Value		0.484	0.573		
Eicosa dienoic Acid (C20:2)	Mean	0	0	0	0 - 0.351 <sup>d</sup>	0 - 0.533
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Eicosa trienoic Acid (C20:3)	Mean	0	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		

Tabell 12 forts.

Fatty Acids Composition (% Total Fatty Acids)		Control Maize	1507x59122xMON 810xNK603 Maize	1507x59122xMON 810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
Arachidonic Acid (C20:4)	Mean	0	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Heneicosanoic Acid (C21:0)	Mean	0	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Behenic Acid (C22:0)	Mean	0.203	0.195	0.209	0 - 0.566	0 - 0.5
	Range	0.177 - 0.244	0.163 - 0.219	0.167 - 0.303		
	CI	0.188 - 0.219	0.181 - 0.210	0.194 - 0.225		
	FDR		0.804	0.878		
	P-Value		0.437	0.532		
Erucic Acid (C22:1)	Mean	0	0	0	NC	0 - 0.3
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Tricosanoic Acid (C23:0)	Mean	0	0	0	NC	NR
	Range	0 - 0	0 - 0	0 - 0		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Lignoceric Acid (C24:0)	Mean	0.242	0.212	0.210	0 - 0.675	0 - 0.5
	Range	0.172 - 0.323	0.157 - 0.318	0.138 - 0.329		
	CI	0.198 - 0.287	0.168 - 0.257	0.166 - 0.255		
	FDR		0.281	0.237		
	P-Value		0.0344	0.0267		

<sup>a</sup> Statistical analysis was not available (NA).

<sup>b</sup> No tolerance interval could be calculated (NC).

<sup>c</sup> Analyte ranges were not reported (NR) in the published literature references.

<sup>d</sup> No tolerance interval could be calculated; these values are minimum/maximum ranges.

<sup>e</sup> Statistically significant difference, adjusted P-value <0.05.

### Aminosyrer

I henhold til søkers dokumentasjon er det analysert for innhold av totalt 18 essensielle og ikke-essensielle aminosyrer. Valget av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. Resultatene av variansanalysen over steder viser ingen signifikante forskjeller mellom testhybrid (begge herbicidregimer) og kontroll med hensyn på innhold av aminosyrer (tabell 13). Verdiene for alle komponentene ligger innenfor toleranseintervallene og innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

Tabell 13. Analyser av aminosyrer i korn fra umodifisert, nær-isogen kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glyfosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.

Amino Acids Composition (% Dry Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range	
Methionine	Mean	0.179	0.187	0.0724-0.490	0.10-0.468	
	Range	0.122 - 0.207	0.126 - 0.218			0.120 - 0.210
	CI	0.159 - 0.199	0.167 - 0.207			0.161 - 0.201
	FDR		0.588			0.938
	P-Value		0.141			0.677
Cystine	Mean	0.222	0.216	0.136-0.418	0.08-0.514	
	Range	0.120 - 0.270	0.116 - 0.287			0.161 - 0.268
	CI	0.185 - 0.259	0.179 - 0.253			0.176 - 0.250
	FDR		0.866			0.829
	P-Value		0.583			0.452
Lysine	Mean	0.304	0.308	0.112-0.551	0.05-0.668	
	Range	0.238 - 0.393	0.252 - 0.385			0.241 - 0.372
	CI	0.263 - 0.344	0.268 - 0.349			0.259 - 0.340
	FDR		0.804			0.846
	P-Value		0.471			0.5
Tryptophan	Mean	0.0694	0.0713	0.00876-0.127	0.0271-0.215	
	Range	0.0525-0.0832	0.0596 - 0.0818			0.0571 - 0.0819
	CI	0.0630-0.0757	0.0649 - 0.0777			0.0628 - 0.0756
	FDR		0.717			0.973
	P-Value		0.268			0.914
Threonine	Mean	0.362	0.365	0.176-0.578	0.224-0.666	
	Range	0.288 - 0.428	0.308 - 0.405			0.295 - 0.402
	CI	0.333 - 0.391	0.336 - 0.395			0.333 - 0.391
	FDR		0.804			0.973
	P-Value		0.485			0.918
Isoleucine	Mean	0.377	0.378	0.143-0.587	0.179-0.71	
	Range	0.272 - 0.458	0.302 - 0.440			0.297 - 0.414
	CI	0.339 - 0.415	0.340 - 0.416			0.334 - 0.410
	FDR		0.963			0.829
	P-Value		0.926			0.455
Histidine	Mean	0.302	0.305	0.180-0.362	0.137-0.434	
	Range	0.264 - 0.346	0.278 - 0.342			0.268 - 0.331
	CI	0.287 - 0.317	0.290 - 0.320			0.289 - 0.319
	FDR		0.59			0.822
	P-Value		0.188			0.397

Tabell 13 forts.

Amino Acids Composition (% Dry Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range	
Valine	Mean	0.505	0.507	0.498	0.159-0.749	0.21 - 0.855
	Range	0.382 - 0.606	0.418 - 0.578	0.403 - 0.560		
	CI	0.459 - 0.551	0.461 - 0.553	0.452 - 0.545		
	FDR		0.903	0.817		
	P-Value		0.775	0.344		
Leucine	Mean	1.45	1.46	1.44	0.659 - 1.95	0.642 - 2.49
	Range	1.07 - 1.83	1.17 - 1.73	1.15 - 1.61		
	CI	1.30 - 1.60	1.32 - 1.61	1.29 - 1.58		
	FDR		0.874	0.931		
	P-Value		0.677	0.638		
Arginine	Mean	0.410	0.413	0.408	0.253-0.551	0.119 - 0.64
	Range	0.326 - 0.499	0.350 - 0.484	0.349 - 0.481		
	CI	0.373 - 0.451	0.376 - 0.455	0.371 - 0.449		
	FDR		0.903	0.973		
	P-Value		0.728	0.822		
Phenylalanine	Mean	0.550	0.548	0.549	0.298-0.693	0.244-0.930
	Range	0.406 - 0.673	0.449 - 0.634	0.438 - 0.602		
	CI	0.500 - 0.601	0.498 - 0.598	0.498 - 0.599		
	FDR		0.941	0.973		
	P-Value		0.835	0.864		
Glycine	Mean	0.374	0.381	0.374	0.249-0.485	0.184-0.539
	Range	0.313 - 0.463	0.325 - 0.483	0.318 - 0.435		
	CI	0.340 - 0.413	0.345 - 0.420	0.339 - 0.413		
	FDR		0.607	0.989		
	P-Value		0.205	0.961		
Alanine	Mean	0.872	0.883	0.865	0.491 - 1.09	0.439 - 1.39
	Range	0.647 - 1.07	0.696 - 1.04	0.685 - 0.981		
	CI	0.781 - 0.963	0.791 - 0.974	0.773 - 0.956		
	FDR		0.835	0.931		
	P-Value		0.523	0.656		
Aspartic Acid	Mean	0.779	0.786	0.773	0.442-0.947	0.335 - 1.21
	Range	0.568 - 0.981	0.618 - 0.940	0.604 - 0.892		
	CI	0.693 - 0.864	0.701 - 0.872	0.687 - 0.858		
	FDR		0.835	0.931		
	P-Value		0.529	0.644		
Glutamic Acid	Mean	2.29	2.32	2.26	1.17 - 2.88	0.965 - 3.54
	Range	1.72 - 2.78	1.85 - 2.66	1.82 - 2.57		
	CI	2.07 - 2.51	2.10 - 2.54	2.04 - 2.48		
	FDR		0.804	0.829		
	P-Value		0.487	0.446		

Tabell 13 forts.

Amino Acids Composition (% Dry Weight)		Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range
Proline	Mean	0.955	0.975	0.955	0.454 - 1.64	0.462 - 1.63
	Range	0.759 - 1.14	0.806 - 1.10	0.786 - 1.08		
	CI	0.875 - 1.03	0.895 - 1.05	0.875 - 1.03		
	FDR		0.59	0.989		
	P-Value		0.168	0.975		
Serine	Mean	0.524	0.534	0.528	0.266-0.683	0.235 - 0.91
	Range	0.414 - 0.637	0.443 - 0.692	0.424 - 0.621		
	CI	0.479 - 0.570	0.489 - 0.580	0.483 - 0.574		
	FDR		0.717	0.931		
	P-Value		0.273	0.634		
Tyrosine	Mean	0.210	0.213	0.214	0.0707-0.505	0.103 - 0.79
	Range	0.161 - 0.265	0.165 - 0.261	0.162 - 0.260		
	CI	0.191 - 0.229	0.194 - 0.232	0.195 - 0.233		
	FDR		0.874	0.884		
	P-Value		0.67	0.548		

#### Mineraler

Innholdet av mineraler er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Konsentrasjonen av natrium var ved påvisningsgrensen eller lavere, både i umodifisert og modifisert mais.

Kombinerte analyser over forsøkssteder viste signifikante forskjeller mellom umodifisert kontroll og testhybriden 1507x59122xMON810xNK603 med hensyn på innhold av kalium i maiskorn (tabell 14). Signifikante forskjeller ble funnet for begge herbicidregimer (henholdsvis  $p < 0,01$  og  $p < 0,05$  (FDR-justerte P-verdier)). Forskjellene som er målt er imidlertid mindre enn 20 %. Samtlige målte verdier for kalsium ligger også innenfor toleranseintervallene som er oppgitt av søker, og innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002). Variansanalyse innen steder viste ingen signifikante forskjeller mellom testlinje og komparator med hensyn på innhold av kalium på noen av de 6 forsøkslokalitetene.

Tabell 14. Analyser av mineraler i korn fra umodifisert, nær-isogen kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glyfosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.

Minerals Composition (% Dry Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	ToI Interval	Lit. Range	
Calcium	Mean	0.00299	0.00308	0.00302	0.00127 - 0.00902	0.00127 - 0.100
	Range	0.00234 - 0.00388	0.00251 - 0.00390	0.00250 - 0.00351		
	CI	0.00263 - 0.00335	0.00272 - 0.00344	0.00266 - 0.00338		
	FDR		0.804	0.973		
	P-Value		0.482	0.836		
Copper	Mean	0.0000871	0.0000916	0.0000885	0 - 0.000662	0.000073 - 0.00185
	Range	<0.0000625 <sup>a</sup> -0.000117	<0.0000625 <sup>a</sup> -0.000118	<0.0000625 <sup>a</sup> -0.000122		
	CI	0.0000672-0.000107	0.0000718 - 0.000111	0.0000686 - 0.000108		
	FDR		0.59	0.938		
	P-Value		0.191	0.687		
Iron	Mean	0.00179	0.00186	0.00174	0.000857 - 0.00269	0.0001 - 0.010
	Range	0.00150 - 0.00223	0.00136 - 0.00259	0.00136 - 0.00240		
	CI	0.00149 - 0.00208	0.00157 - 0.00215	0.00145 - 0.00203		
	FDR		0.576	0.817		
	P-Value		0.13	0.349		
Magnesium	Mean	0.118	0.121	0.118	0.0381 - 0.195	0.0594 - 1.00
	Range	0.0895 - 0.149	0.0982 - 0.144	0.0977 - 0.149		
	CI	0.101 - 0.134	0.105 - 0.138	0.101 - 0.134		
	FDR		0.59	0.997		
	P-Value		0.186	0.997		
Manganese	Mean	0.000726	0.000690	0.000663	0.000246 - 0.00122	0.00007 - 0.0054
	Range	0.000477-0.000948	0.000514 - 0.000962	0.000468 - 0.000904		
	CI	0.000588-0.000864	0.000552 - 0.000828	0.000524 - 0.000801		
	FDR		0.569	0.204		
	P-Value		0.113	0.0117		
Phosphorus	Mean	0.301	0.326	0.315	0.127 - 0.472	0.147 - 0.750
	Range	0.220 - 0.379	0.262 - 0.388	0.246 - 0.395		
	CI	0.258 - 0.345	0.283 - 0.369	0.272 - 0.358		
	FDR		0.0614	0.39		
	P-Value		0.00346	0.0604		
Potassium	Mean	0.292	0.321	0.311	0.194 - 0.687	0.181 - 0.720
	Range	0.249 - 0.356	0.269 - 0.381	0.271 - 0.378		
	CI	0.254 - 0.331	0.282 - 0.360	0.272 - 0.349		
	FDR		0.00169 <sup>b</sup>	0.0475 <sup>b</sup>		
	P-Value		<0.0001	0.00201		

Minerals Composition (% Dry Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	ToI Interval	Lit. Range	
Sodium	Mean	0.000119	0.000115	0.0000888	0 - 0.00207	0 - 0.150
	Range	<0.0000625 <sup>a</sup> -0.000522	<0.0000625 <sup>a</sup> - 0.000618	<0.0000625 <sup>a</sup> -0.000379		
	CI	0.0000610 - 0.000230	0.0000592 - 0.000223	0.0000442 - 0.000178		
	FDR		0.963	0.829		
	P-Value		0.935	0.467		
Zinc	Mean	0.00172	0.00165	0.00161	0.00104 - 0.00271	0.00065 - 0.00372
	Range	0.00144 - 0.00205	0.00136 - 0.00204	0.00135 - 0.00200		
	CI	0.00154 - 0.00189	0.00147 - 0.00182	0.00144 - 0.00178		
	FDR		0.553	0.204		
	P-Value		0.0805	0.0146		

<sup>a</sup> < Lower Limit of Quantitation (LLOQ); indicates that the values of the sample or samples were detected below the assay LLOQ

<sup>b</sup> Statistically significant difference, adjusted P-value <0.05

### Vitaminer

I henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør følgende vitaminer analyseres: A, B1, B2, B6, C, E, folat (B9) og niacin. I følge dokumentasjonen fra søker er ikke innholdet av vitamin C målt, mens vitamin A er målt som  $\beta$ -karoten. Innholdet av vitaminene B2 og  $\beta$ -tokoferol var lavere enn påvisningsgrensene (LLOQ).

Kombinerte analyser over steder viste ingen signifikante forskjeller mellom testhybrid (begge herbicidregimer) og kontroll med hensyn på innhold av øvrige målte vitaminer (tabell 15). Verdiene for samtlige komponenter ligger innenfor toleranseintervallene som oppgis av søker, og innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002). Sukkermais er ansett som en god C-vitaminskilde (Warman & Havard 1998).

Tabell 15. Analyser av vitaminer i korn fra umodifisert, nær-isogen kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glufosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.

Vitamins Composition (mg/kg Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range	
Beta-Carotene	Mean	12.4	13.3	12.5	0 - 68.3	0.19 - 46.8
	Range	5.97 - 17.7	6.18 - 17.6	5.15 - 22.0		
	CI	8.32 - 16.5	9.24 - 17.4	8.46 - 16.6		
	FDR		0.804	0.973		
	P-Value		0.437	0.905		
Vitamin B1 (Thiamine)	Mean	3.91	3.84	3.75	0.414-6.64	1.26 - 40.0
	Range	2.78 - 5.08	2.84 - 5.15	3.25 - 4.71		
	CI	3.43 - 4.39	3.36 - 4.32	3.27 - 4.23		
	FDR		0.877	0.817		
	P-Value		0.692	0.342		
Vitamin B2 (Riboflavin)	Mean	<0.900 <sup>a</sup>	<0.900 <sup>a</sup>	<0.900 <sup>a</sup>	NC	0.25 - 5.6
	Range	<0.900 <sup>a</sup>	<0.900 <sup>a</sup>	<0.900 <sup>a</sup>		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
Vitamin B3 (Niacin)	Mean	13.8	14.5	14.5	0 - 51.7	9.3 - 70
	Range	10.6 - 21.6	11.2 - 20.5	9.79 - 22.5		
	CI	12.4 - 15.3	13.0 - 16.0	13.1 - 16.1		
	FDR		0.804	0.822		
	P-Value		0.458	0.412		
Vitamin B5 (Pantothenic Acid)	Mean	7.03	7.12	7.09	3.02 - 8.20	3.5 - 14
	Range	6.07 - 8.66	6.09 - 8.59	5.95 - 9.89		
	CI	6.49 - 7.56	6.58 - 7.65	6.56 - 7.63		
	FDR		0.874	0.955		
	P-Value		0.674	0.754		
Vitamin B6 (Pyridoxine)	Mean	5.63	5.81	5.55	1.83 - 11.1	3.68 - 11.3
	Range	3.51 - 7.83	3.93 - 8.94	3.16 - 7.05		
	CI	4.79 - 6.47	4.98 - 6.65	4.71 - 6.38		
	FDR		0.874	0.973		
	P-Value		0.658	0.837		
Vitamin B9 (Folic Acid)	Mean	0.592	0.670	0.702	0 - 2.30	0.147 - 683
	Range	0.424 - 0.812	0.351 - 1.24	0.492 - 1.25		
	CI	0.488 - 0.719	0.552 - 0.813	0.579 - 0.852		
	FDR		0.804	0.817		
	P-Value		0.344	0.2		

Vitamins Composition (mg/kg Weight)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range	
$\alpha$ -Tocopherol	Mean	7.98	7.80	7.62	2.18 - 28.2	1.5 - 68.7
	Range	4.13 - 13.4	1.04 - 13.4	3.91 - 12.6		
	CI	3.08 - 10.9	2.59 - 10.7	1.97 - 10.6		
	FDR		0.866	0.817		
	P-Value		0.61	0.313		
$\beta$ -Tocopherol	Mean	<0.500 <sup>a</sup>	<0.500 <sup>a</sup>	<0.500 <sup>a</sup>	0 - 1.50	0.58 - 22.8
	Range	<0.500 <sup>a</sup>	<0.500 <sup>a</sup>	<0.500 <sup>a</sup>		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
$\delta$ -Tocopherol	Mean	0.468	0.474	0.519	0 - 2.36	0.38 - 16.1
	Range	<0.500 <sup>a</sup> - 1.19	<0.500 <sup>a</sup> - 1.10	<0.500 <sup>a</sup> - 1.15		
	CI	0.0675-0.869	0.0820 - 0.866	0.126 - 0.912		
	FDR		0.975	0.949		
	P-Value		0.966	0.709		
$\gamma$ -Tocopherol	Mean	27.7	30.7	30.8	0 - 39.9	6.46 - 61.0
	Range	18.5 - 37.3	10.6 - 41.4	21.6 - 43.9		
	CI	20.2 - 33.6	24.1 - 36.1	24.2 - 36.2		
	FDR		0.553	0.417		
	P-Value		0.0857	0.0733		
Total Tocopherols	Mean	34.9	37.3	37.8	0 - 53.6	8.69 - 133
	Range	23.4 - 50.7	11.6 - 55.2	27.5 - 57.7		
	CI	26.1 - 43.7	28.5 - 46.1	29.0 - 46.6		
	FDR		0.745	0.817		
	P-Value		0.294	0.209		

<sup>a</sup> < Lower Limit of Quantitation (LLOQ); indicates that the values of the sample or samples were detected below the assay LLOQ

#### Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Nivået av furfural var lavere enn påvisningsgrensen (LLOQ), og er ikke oppgitt.

Kombinerte analyser over steder viste ingen signifikante forskjeller mellom testhybrid (begge herbicidregimer) og kontroll med hensyn på innhold av sekundære metabolitter og anti-næringsstoffer (tabell 16). Verdiene for alle komponentene ligger innenfor toleranseintervallene for referansesorten som inngikk i studien, og innenfor typiske verdier som er rapportert i ILSI Crop Composition Database (ILSI 2007) og OECDs konsensusdokument for mais (2002).

**Tabell 16.** Analyser av sekundære metabolitter og antinæringsstoffer i korn fra umodifisert, nær-isogen kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glyfosat+ glufosinat-ammonium). Fra feltforsøk i USA 2008.

Secondary Metabolites and Anti-Nutrients Composition (% Dry Weight or as Indicated)	Control Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize	1507x59122x MON810xNK603 Maize Treated with Glyphosate and Glufosinate	Tolerance Interval	Literature Range	
Inositol	Mean	0.0183	0.0204	0.0190	0 - 0.0461	0.00890 - 0.377
	Range	0.0116 - 0.0238	0.0118 - 0.0288	0.0122 - 0.0274		
	CI	0.0135 - 0.0231	0.0155 - 0.0252	0.0142 - 0.0239		
	FDR		0.274	0.817		
	P-Value		0.0256	0.357		
Furfural	Mean	<0.000100 <sup>a</sup>	<0.000100 <sup>a</sup>	<0.000100 <sup>a</sup>	NC	0 - 0.000634
	Range	<0.000100 <sup>a</sup>	<0.000100 <sup>a</sup>	<0.000100 <sup>a</sup>		
	CI	NA	NA	NA		
	FDR		NA	NA		
	P-Value		NA	NA		
<i>p</i> -Coumaric Acid	Mean	0.0136	0.0141	0.0145	0.000341 - 0.0387	0.003 - 0.0576
	Range	0.00842 - 0.0216	0.00761 - 0.0198	0.00876 - 0.0220		
	CI	0.00946 - 0.0177	0.0100 - 0.0183	0.0104 - 0.0186		
	FDR		0.794	0.535		
	P-Value		0.324	0.113		
Ferulic Acid	Mean	0.136	0.131	0.138	0.0553 - 0.309	0.02 - 0.389
	Range	0.0602 - 0.205	0.0874 - 0.188	0.0871 - 0.194		
	CI	0.0989 - 0.173	0.0934 - 0.168	0.101 - 0.175		
	FDR		0.804	0.955		
	P-Value		0.443	0.744		
Raffinose	Mean	0.127	0.151	0.162	0 - 0.398	0.020 - 0.320
	Range	<0.0800 <sup>a</sup> - 0.218	<0.0800 <sup>a</sup> - 0.250	<0.0800 <sup>a</sup> - 0.237		
	CI	0.0912 - 0.164	0.116 - 0.187	0.127 - 0.198		
	FDR		0.569	0.237		
	P-Value		0.12	0.0251		
Phytic Acid	Mean	1.07	1.17	1.13	0.418 - 1.41	0.111 - 1.57
	Range	0.615 - 1.43	0.852 - 1.46	0.794 - 1.61		
	CI	0.862 - 1.27	0.965 - 1.38	0.923 - 1.33		
	FDR		0.569	0.817		
	P-Value		0.105	0.316		
Trypsin Inhibitor (TIU <sup>b</sup> /mg)	Mean	4.84	4.70	5.20	1.60 - 4.89	1.09 - 7.18
	Range	2.01 - 7.69	2.16 - 7.55	2.41 - 7.93		
	CI	3.41 - 6.27	3.27 - 6.13	3.78 - 6.63		
	FDR		0.903	0.846		
	P-Value		0.782	0.494		

<sup>a</sup> < Lower Limit of Quantitation (LLOQ); indicates that the values of the sample or samples were detected below the assay LLOQ

<sup>b</sup> Abbreviation: TIU = Trypsin Inhibitor Units

### 3.4 Agronomiske egenskaper

I henhold til søkers dokumentasjon er det foretatt registreringer av totalt 14 morfologiske og agronomiske parametere hos maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og umodifisert kontroll i feltforsøk vekstsesongen 2008. På grunn av manglende variasjon i data fra tre av de observerte karakterene (pollenvitalitet (morfologi 120 min), stengel- og rotlegde), ble det ikke utført statistiske analyser for disse parametrene.

Kombinerte analyser over lokaliteter viste ingen signifikante forskjeller mellom testhybriden og nær-isogen kontroll for karakterene plantetetthet høst (vekststadium R6), frøplantevitalitet, tidlighet (antall dager til blomstring og pollenspredning), plantebestandets beskaffenhet ("stay green"), resistens mot skadegjørere (sjukdom, insekter) og kolbehøyde (tabell 17). Tilsvarende resultater ble funnet for begge herbicidregimer. Når det gjelder parameteren plantetetthet vår (V2-V4) ble det påvist signifikant flere oppspirte planter på forsøksruter med hybrid 1507x59122xMON810xNK603 (både sprøytet med tiltenkte herbicider og med konvensjonelle herbicider) sammenlignet med umodifisert kontroll ( $p < 0,05$ ). Det ble videre detektert signifikant større plantehøyde hos konvensjonelt behandlede planter av 1507x59122xMON810xNK603 sammenlignet med umodifisert kontroll. Verdiene ligger imidlertid innenfor toleranseintervallene for denne parameteren. Det ble ikke funnet tilsvarende forskjell i plantehøyde mellom komparator og testhybrid fra forsøksruter sprøytet med glyfosat og glufosinat-ammonium.



**Tabell 17. Analyser av agronomiske og fenotypiske karakterer registrert i feltforsøk med umodifisert, nær-isogen kontrollinje og testhybrid 1507x59122xMON810xNK603 (sprøytet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glyfosat+ glufosinat-ammonium) i USA vekstsesongen 2008.**

Agronomiske/ fenotypiske karakterer		Umodifisert kontroll	1507x59122x MON810x NK603 behandlet med konvensjonelle herb.	1507x59122x MON810x NK603 behandlet med tiltenkte herbicider	Toleranse- intervall
Plante- tetthet vår (V2-V4)	Gj.snitt	52	57	57	40-60
	Var.	42-58	50-61	50-61	
	CI	50-55	55-59	55-59	
	FDR		0,0436 <sup>a</sup>	0,0432 <sup>a</sup>	
	P-verdi		0,00513	0,00254	
Plante- Tetthet høst (R6)	Gj.snitt	49	54	53	36-60
	Var.	32-56	28-60	25-59	
	CI	38-56	44-59	43-59	
	FDR		0,142	0,190	
	P-verdi		0,0334	0,0629	
Vitalitet frøplante	Gj.snitt	8	8	8	3-9
	Var.	4-9	5-9	5-9	
	CI	6-9	6-9	6-9	
	FDR		0,661	0,814	
	P-verdi		0,622	0,622	
Tidlig/ blomstr.	Gj.snitt	1320	1340	1350	826-1870
	Var.	1220-1420	1220-1450	1220-1450	
	CI	1240-1400	1260-1420	1270-1430	
	FDR		0,173	0,128	
	P-verdi		0,0553	0,0301	
Tidspk. pollen- spredn.	Gj.snitt	1360	1370	1380	827-1880
	Var.	1240-1470	1240-1480	1240-1480	
	CI	1270-1440	1290-1460	1290-1460	
	FDR		0,142	0,113	
	P-verdi		0,0307	0,0133	

Agronomiske/ fenotypiske karakterer		Umodifisert kontroll	1507x59122x MON810x NK603 behandlet med konvensjonelle herb.	1507x59122x MON810x NK603 behandlet med tiltenkte herbicider	Toleranse- intervall
Legde (stengel)	Gj.snitt	0	0	0	0-20
	Var.	0-1	0-1	0-1	
	CI	NA	NA	NA	
	FDR		NA	NA	
	P-verdi		NA	NA	
Legde (rot)	Gj.snitt	0	0	0	0-8
	Var.	0-2	0-0	0-4	
	CI	NA	NA	NA	
	FDR		NA	NA	
	P-verdi		NA	NA	
"Stay green"	Gj.snitt	4	4	4	1-9
	Var.	1-8	1-7	2-7	
	CI	2-6	2-5	2-5	
	FDR		0,173	0,538	
	P-verdi		0,0612	0,317	
Sjukdom	Gj.snitt	8	8	8	1-9
	Var.	6-9	6-9	6-9	
	CI	7-9	7-9	7-9	
	FDR		0,384	1,00	
	P-verdi		0,249	1,00	
Insekts- angrep	Gj.snitt	8	8	8	3-9
	Var.	7-9	8-9	7-9	
	CI	8-9	8-9	8-9	
	FDR		0,384	1,00	
	P-verdi		0,249	1,00	

Tabell 17 forts.

Agronomiske/ fenotypiske karakterer		Umodifisert kontroll	1507x59122x MON810x NK603 behandlet med konvensjonelle herb.	1507x59122x MON810x NK603 behandlet med tiltenkte herbicider	Toleranse- intervall
Plante- høyde	Gj.snitt	262	273	267	114-393
	Var.	239-297	254-305	244-296	
	CI	242-281	254-293	248-287	
	FDR		0,00552 <sup>a</sup>	0,128	
	P-verdi		0,000325	0,0256	
Kolbe- høyde	Gj.snitt	100	103	99	47-153
	Var.	77-124	78-130	80-125	
	CI	82-118	85-121	81-117	
	FDR		0,319	1,00	
	P-verdi		0,131	0,855	

### 3.5 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Analyser av ernæringsmessige komponenter er i hovedsak utført i tråd med OECDs konsensudokument for mais (OECD 2002). Det er påvist signifikante forskjeller mellom testhybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og umodifisert kontroll i enkeltparametere. Verdiene for de analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, samt innenfor toleranseintervallene for de umodifiserte referansesortene som er inkludert i søkers dokumentasjon.

Faggruppen påpeker at søker ikke har foretatt analyser av vitamin C. Det understrekes at konsensudokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter. Faggruppen vektlegger imidlertid at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr og at mais til human konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Daglig inntak av sukkermais vil bidra med 0,5 % av daglig anbefaling for vitamin C ved inntak lik medianen (data fra Den Norske mor barn studien). Ved maisinntak på 17,5 g/dag (97,5 % persentilen) vil ca 2,6 % av daglig anbefaling for vitamin C dekkes. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at et eventuelt avvikende nivå av vitamin C i maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 har liten ernæringsmessig betydning i Norge.

Feltforsøk over en vekstsesong i USA, viser små eller ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 (sprøytet med tiltenkte herbicider eller konvensjonell herbicider) og umodifisert, nær-isogen kontroll med hensyn på morfologiske og agronomiske karakterer.

## **4 Dokumentasjon av toksisitet, allergisitet og næringsverdi**

### **4.1 Sammendrag av tidligere vurderinger av foreldrelinjer**

#### **4.1.1 1507**

EFSA's GMO-panel konkluderte i sin risikovurdering med at maislinjen 1507 er like trygg som umodifisert, nær-isogen kontroll og kommersielle maissorter. Det vurderes også som usannsynlig at Cry-proteinet i maislinjen vil medføre økt allergent potensiale sammenlignet med konvensjonell mais. GMO-panelet konkluderer derfor med at det er lite sannsynlig at tiltenkt bruk av maislinjen 1507 og avledete produkter vil føre til negative effekter på human- og dyrehelse (EFSA 2005a,b).

VKM risikovurderte maislinjen 1507 som næringsmiddel og fôrvare i 2004, og konkluderte i sin uttalelse med at «på bakgrunn av ovenstående gjennomgang av medfølgende og tidligere innsendt dokumentasjon finner faggruppen det lite sannsynlig at eksponering for PAT- proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig (VKM 2004a). Lengden på fôringsforsøket på rotte er som anbefalt av FAO/WHO for å avdekke helsemessige forskjeller som følge av fôring med modifisert og umodifisert organisme. Fôringsforsøkene på broilere og rotte viser at henholdsvis 42 og 90 dagers fôring gir ingen forskjeller mellom kontroll- og modifisert mais. Notifikasjonen inneholder tilstrekkelig dokumentasjon til å vise at fôring med 25 µg CRY1F toksin fra bakterie per dag i 90 dager ikke fører til påvisbar helseskade hos rotter».

#### **4.1.2 59122**

EFSA's GMO-panel konkluderte i sin risikovurdering med at maislinjen 59122 er like trygg som umodifisert, nær-isogen kontroll og kommersielle maissorter. Det vurderes også som usannsynlig at Cry-proteinene i maislinjen vil medføre økt allergent potensiale sammenlignet med konvensjonell mais. GMO-panelet konkluderer derfor med at det er lite sannsynlig at tiltenkt bruk av maislinjen 59122 og avledete produkter vil føre til negative effekter på human- og dyrehelse (EFSA 2007b).

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning av maislinjen 59122 til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer i Norge, konkluderte flertallet i VKMs faggruppe for GMO med at dersom en ser bort fra adjuvansproblematikken, at det er lite trolig at bruk av maislinjen 59122 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais (VKM 2008a). Faggruppen fant imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos 59122, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. En samlet faggruppe påpekte kunnskapshull knyttet til adjuvans generelt, og om Cry-proteinene i 59122 kan virke som adjuvant.

#### **4.1.3 MON810**

VKM risikovurderte maislinjen MON810 med hensyn på mulige helseeffekter i 2007 (VKM 2007a), og konkluderte i sin uttalelse med at «Flere studier viser at proteinet Cry1Ab ikke er akutt toksiske.

Monsanto har utført sub-kroniske studier på rotter fôret med maiskorn fra MON810. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais fra disse hybridene, ikke fører til påvisbare helseeffekter på dyrene. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for Cry1Ab-proteinet og *cry1Ab*-genet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelige. 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 Cry1Ab-protein».

I 2010 vurderte en *ad hoc*-gruppe under Faggruppen for genmodifiserte organismer en publisering av Vendômois et al. (2009) knyttet til mulige helseeffekter av maislinjene MON810, NK603 og MON863. Arbeidet ble utført på oppdrag av Mattilsynet, og vurderingen ble også gjennomgått og godkjent av VKMs Hovedkomité.

Studien til Vendômois et al. (2009) er ikke utført med egne fôringsforsøk, men baserer seg på en omfattende re-analyse av data fra Monsanto's 90-dagers fôringsforsøk på rotter. Gruppen hevder i artikkelen at deres analyser klart avslørte at fôring med de tre maislinjene ga klare bieffekter som var kjønns- og ofte dose-relaterte, i hovedsak lokalisert til lever og nyre. Artikkelen var en videreføring av tidligere arbeid utført av gruppen (Seralini et al. 2007), tidligere vurdert m.a av EFSA (EFSA 2007c).

*Ad hoc*-gruppen har hatt tilgang til data fra fôringsforsøkene utført på de tre genmodifiserte maislinjene til Monsanto (Monsanto 2001a, 2001b, 2002), men har ikke selv utført noen statistiske analyser. Gruppen påpekte i sin vurdering at alle Monsanto's forsøk er utført iht. de internasjonalt aksepterte og standardiserte OECD retningslinjene 408 (OECD 1998), 90 dagers toksisitetsstudie på rotter. Monsanto's valg av dosegrupper og gruppestørrelser er i henhold til disse retningslinjene. Dette innebærer at utvalgsstørrelser og målevariabler er iht. gjeldende internasjonale standarder for slike dyreforsøk. Rapporteringen av rådata er i følge god laboratoriepraksis (GLP), og er dermed også etter den strengeste internasjonale standard for dyreforsøk. Det formelle grunnlaget for forsøkene er derfor uproblematisk. I henhold til *ad hoc*-gruppen viser resultatene at de kliniske, klinisk kjemiske, hematologiske og patologiske observasjonene ikke gir grunn til å hevde at det fins noen kliniske relevante forskjeller av om dyr er fôret med GM mais eller kontrollfôr. Gruppen konkluderte med at det ikke er dokumentert helseskade på rottene som skyldes fôring med de genmodifiserte maislinjene.

#### 4.1.4 NK603

VKM risikovurderte maislinjen NK603 med hensyn på mulige helseeffekter i 2005 (VKM 2005b). Vedlagte toksisitetsstudier inkluderte fôringsstudier med kylling og gris, akutte fôringsstudier på mus, og sub-kroniske fôringsforsøk med rotte. Faggruppen konkluderte i sin uttalelse med at «på bakgrunn av gjennomgang av søkerens dokumentasjon finner Faggruppen det lite sannsynlig at eksponering for CP4 EPSPS-proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig. Det konkluderes med at den genmodifiserte maisen har samme ernæringsverdi som utgangslinjen og de umodifiserte referansesortene som var inkludert i studien. Faggruppen mener at NK603 ikke medfører endret helserisiko som mat- og fôrvare i forhold til annen mais».

I tillegg til dette arbeidet ble NK603 vurdert av VKM i forbindelse med revurderingen av statistiske analyser utført av Vendômois et al. (2009) (VKM 2010). Se avsnitt 4.1.3.

## 4.2 Toksikologiske vurderinger av 1507x59122xMON810xNK603

### *42-dagers fôringsforsøk på broiler*

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere med 1507x59122xMON810xNK603 (vedlegg Annex 16a og 16b). Det ble foretatt fôringsstudier på hann- og hunnfugl, Ross 708. Forsøket ble satt opp med 6 grupper à 120 hann- og hunnfugler per gruppe, totalt 720 dyr. Studien ble utført i henhold til prinsippene for U.S. EPA FIFRA (40 CFR part 160) Good Laboratory Practice Standards. Dyrene ble fôret med maismel fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603, 1507x59122xMON810xNK603 sprøytet med henholdsvis glyfosat og glufosinat-ammonium, ikke-transgen nær-isogen kontrollmais 091 og de kommersielt tilgjengelige umodifiserte sortene 33H25, 33M15 og 33D11.

Fôret ble undersøkt for en rekke ernæringsmessige komponenter, mykotoksiner, mineraler, samt konsentrasjon av Cry1F-, Cry34Ab-, Cry35Ab-, Cry1Ab-, PAT- og CP4 EPSPS-protein. Startfôret (dag 0-21) inneholdt 63 % mais, vekstfasefôret (dag 22-35) inneholdt 67,5 % mais, og fôret i slutfôringsfasen (dag 36-42) inneholdt 74 % mais (likt for alle gruppene). Gjennomsnittlig mengde i fôret av Cry1F var 1,4 til 1,6 -, Cry34Ab var 20 til 27 -, Cry35Ab var 0,53 til 0,59-, Cry1Ab var 0,15 til 0,18 -, PAT var 0,072 til 0,087 - og CP4 EPSPS-protein var 6,1 til 9,1 mg/kg.

Følgende parameter ble undersøkt: mortalitet, vektøkning, fôreffektivitet, vekt av skrott, bryst, lår, vinger, lever, nyre og abdominalt fett (tabell 18). I henhold til søker ble det ikke påvist statistiske signifikante forskjeller mellom hanner og hunner fôret med henholdsvis GM-mais, kontrollmais og de umodifiserte referansesortene.

Tabell 18. Analyse av vekt, mortalitet og vekt av organer.

Parameter	Near-isoline Control maize	Conventional herbicide-treated 1507x59122x MON810xNK603 Maize <sup>1</sup>	Intended herbicide-treated 1507x59122x MON810xNK603 Maize <sup>2</sup>	Tolerance Interval <sup>3</sup>	
<b>GROWTH PERFORMANCE</b>					
Initial weight, g	47.1 <sup>4</sup> (46.1 – 48.0) <sup>5</sup>	46.9 (46.2 – 48.9)	46.9 (46.1 – 48.1)	44.8 – 49.5	
Final weight, g	1729.9 (1554.2–1804.6)	1721.1 (1645.0 – 1827.1)	1744.4 (1610.8 – 1887.3)	1510.6 – 1979.3	
Gain, g	1682.9 (1507.9–1756.9)	1674.2 (1598.5 – 1778.3)	1697.4 (1564.4 – 1839.2)	1464.7 – 1930.9	
Mortality, %	2.50 (0 – 10) <sup>6</sup>	1.67 (0 – 10)	1.67 (0 – 10)	--- <sup>7</sup>	
Feed:Gain <sup>8</sup>	1.871 (1.799 – 1.935)	1.875 (1.800 – 1.934)	1.873 (1.810 – 1.936)	1.693 – 2.049	
<b>PRE-CHILL ORGAN YIELDS<sup>9</sup></b>					
Kidney, %	Overall	2.10	2.09	2.13	
	Males	2.12 (1.33 – 2.80)	2.12 (1.30 – 2.84)	2.16 (1.35 – 2.83)	0.73 – 3.44
	Females	2.07 (1.32 – 2.83)	2.06 (1.32 – 2.84)	2.10 (1.35 – 2.82)	0.75 – 3.42
Liver, %	Overall	3.59	3.58	3.56	
	Males	3.59 (2.63 – 4.42)	3.55 (2.66 – 4.43)	3.64 (2.67 – 4.41)	2.02 – 5.02
	Females	3.59 (2.63 – 4.44)	3.62 (2.64 – 4.40)	3.49 (2.62 – 4.43)	1.92 – 5.07
<b>POST-CHILL CARCASS AND PARTS YIELDS<sup>10</sup></b>					
Carcass, %	Overall	70.78	71.36	71.13	
	Males	70.87 (65.74 – 76.28)	71.00 (65.54 – 76.33)	71.42 (65.96 – 76.37)	61.86 – 79.80
	Females	70.69 (65.77 – 76.19)	71.72 (65.71 – 76.04)	70.84 (65.52 – 76.47)	61.75 – 81.30
Breast, %	Overall	26.82	26.58	26.43	
	Males	26.65 (22.64 – 29.94)	26.81 (22.92 – 31.26)	26.54 (23.31 – 30.20)	20.75 – 32.50
	Females	26.99 (22.94 – 30.71)	26.36 (23.84 – 30.48)	26.32 (22.28 – 30.62)	19.99 – 32.97
Thigh, %	Overall	15.89	15.99	15.77	
	Males	15.82 (13.68 – 19.10)	15.99 (13.34 – 18.73)	15.69 (13.03 – 18.56)	11.72 – 19.93
	Females	15.97 (13.42 – 18.58)	15.98 (13.65 – 18.64)	15.85 (13.04 – 19.09)	11.63 – 20.11
Leg, %	Overall	14.47	14.34	14.25	
	Males	14.57 (12.05 – 16.60)	14.57 (12.08 – 16.97)	14.37 (12.00 – 17.04)	10.69 – 18.05
	Females	14.37 (11.98 – 16.87)	14.10 (11.94 – 17.24)	14.14 (12.13 – 17.12)	10.50 – 17.82
Wing, %	Overall	10.54	10.56	10.54	
	Males	10.55 (9.07 – 12.22)	10.68 (8.96 – 12.01)	10.47 (9.20 – 12.24)	8.48 – 12.68
	Females	10.53 (9.13 – 12.15)	10.44 (9.21 – 12.13)	10.62 (9.25 – 12.28)	7.90 – 12.89
Abdominal fat, %	Overall	1.51	1.48	1.53	
	Males	1.49 (0.84 – 2.17)	1.48 (0.88 – 2.17)	1.53 (0.88 – 2.11)	0.55 – 2.45
	Females	1.53 (0.89 – 2.20)	1.47 (0.82 – 2.14)	1.54 (0.82 – 2.22)	0.43 – 2.49

<sup>1</sup> Local practice on the use of conventional herbicide. <sup>2</sup> Tank mixture of glyphosate-glufosinate herbicides. <sup>3</sup> Lower and upper limits of a 95% tolerance interval on 99% of the observed performance trait values from birds fed 33H25, 33M15, and 33D11 reference diets. <sup>4</sup> Mean. <sup>5</sup> Range denotes the lowest and highest individual values observed in the treatment group. <sup>6</sup> Range denotes the lowest and highest mortality values (%) observed within a pen in each treatment group. <sup>7</sup> Tolerance interval not generated for mortality. <sup>8</sup> Feed:Gain calculated as g of feed intake per g of body weight gain. <sup>9</sup> Calculated as percent of live bird weight. <sup>10</sup> Carcass yield calculated as percent of live weight; parts yield calculated as percent of post-chill carcass weight.

### 4.3 Allergenitet

I henhold til søkers dokumentasjon er inntaket av mais i enkelte regioner i Europa om lag 150 g per person per dag (tabell 19). Endogene allergener (lipid transfer protein, trypsin inhibitor) i mais er rapportert (Pastorello et al. 2000, 2003). Det er mulig at Cry-proteiner kan øke permeabiliteten i tarmepitelet (VKM 2012). Den aktuelle maislinjen inneholder 4 forskjellige Cry-proteiner, og muligheten for kombinatoriske adjuvanseffekter på tarmepitelet kan ikke utelukkes.

**Tabell 19. Estimert inntak av mais i ulike regioner i Europa (g/person/dag).**

**Kilde: Søknad EFSA/GMO/NL/2011/92.**

Kluster	Land	Inntak av mais (g/person/dag)
B	Kypros, Hellas, Israel, Italia, Libanon, Portugal, Spania, Tyrkia, Forente arabiske emirater	148,4
D	Albania, Armenia, Aserbajan, Hviterussland, Bosnia og Herzegovina, Bulgaria, Georgia, Iran, Kasakhstan, Kirgisistan, Moldova, Romania, Russland, Serbia og Montenegro, Tadsjikistan, Makedonia, Turkmenistan, Ukraina, Uzbekistan	31,8
E	Østerrike, Belgia, Kroatia, Tsjekkiske republikk, Danmark, Frankrike, Tyskland, Ungarn, Irland, Luxemburg, Malta, Nederland, Polen, Slovenia, Slovakia, Sveits, Storbritannia	33,3
E	Estland, Finland, Island, Latvia, Litauen, Norge, Sverige	7,5

### 4.4 Ernæringsmessige vurderinger av maishybriden som mat og fôr

Søker har dokumentert at de ernæringsmessige egenskapene er vesentlig lik mellom genmodifisert mais og kontrollmais (PH09BxPH581 F1 hybrid).

### 4.5 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Akuttstudier på mus av de enkelte Cry-proteiner er utført. Dosene varierer imidlertid fra 576 mg til 2700 mg/kg kroppsvekt. Standarddose i henhold til OECD guideline 401 er 2000 mg/kg kroppsvekt, eller til toksisk effekt. Faggruppen påpeker, via innspill til EFSA-nett, at der ikke er utført akuttstudier på kombinasjoner av Cry-proteinene for å se på eventuelle kombinerte effekter som addisjon eller synergisme. Det påpekes også at søker burde ha utført 90-dagers subkronisk fôringsforsøk med maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt fôringsforsøk på relevante produksdyr (både oppdrettsfisk og pattedyr).

Den aktuelle maislinjen inneholder 4 forskjellige Cry-proteiner, og muligheten for kombinatoriske adjuvanseffekter på tarmepitelet kan ikke utelukkes.



## 5 Miljørisikovurdering

Søknad om godkjenning av maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt øvrige sub-kombinasjoner av foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603 i form av doble og triple «stacker», omfatter bruksområdene fôrvarer, næringsmidler, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking.

Miljørisikovurderingen av de transgene maishybridene er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og ulike industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning.

### 5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

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

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

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

Insektresistens og herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten i områder med målorganismen tilstede eller på arealer der de aktuelle herbicidene benyttes. Overlevelse og spredning av mais til andre habitater i Europa er imidlertid hovedsakelig begrenset av dårlig konkurranseevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sykdom og liten toleranse for lave temperaturer. Undersøkelsene av fenotypiske karakterer som er foretatt av søker viser ingen forskjeller mellom den insektresistente maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene. Det er ingen indikasjoner på at de introduserte egenskapene hos 5307 vil medføre økt fitness, og økt evne til overvintring eller etablering av ugraspopulasjoner utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

### 5.2 Potensiale for genoverføring

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

Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA. Mais har ikke viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, og vertikal genoverføring vil være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

### 5.2.1 Horisontal genoverføring

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

Ut fra dagens vitenskapelige innsikt med hensyn til barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer er det lite som tyder på at transgenene i 1507 x 59122 x MON810 x NK603 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, Rizzi et al. 2012). Ved oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood et al. 2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist GM DNA i feces. Nielsen et al. (2000) og De Vries & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det påvist svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier.

Disse mengdene må imidlertid multipliseres med skalaen for dyrking, som er svært omfattende. I studiene til De Vries & Wackernagel var forutsetningen for overføring sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og andre naturlig forekommende bakterier er usikkert (Bensasson et al. 2004).

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selekterbare fordeler til eksponerte mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr. Det påpekes imidlertid at det er begrensinger i metodikk (Nielsen & Townsend 2004).

### 5.2.2 Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og konvensjonelt foredlete maissorter vil avhenge av omfanget av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, håndtering og prosessering. Det er imidlertid lite sannsynlig at sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt. Dyrkingsomfanget av mais i Norge er dessuten svært begrenset. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig.

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

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

### 5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Den transgene maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 inneholder *cry*-genene *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1* og *cry1Ab*. *Cry1F* og *cry1Ab*, fra foreldrelinjene 1507 og MON 810, koder for  $\delta$ -endotoksiner som gir maisplantene resistens mot angrep fra enkelte skadegjørere i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis *Ostrinia nubilalis* (europeisk maispyralide) og *Sesamia* ssp. I Norge er det kun rapportert om enkeltfunn av maispyralide i Vestfold, Telemark, Vest- og Aust-Agder (<http://nhm.uio.no/norlep/>), men arten er ikke rapportert som skadegjører (Meadow 2007). Det er ikke gjort observasjoner av *Sesamia*-arter i Norge.

Proteinene Cry34Ab1 og Cry35Ab, som uttrykkes i foreldrelinjen 59122, virker sammen som et binært toksin og gir plantene resistens mot angrep fra arter i slekten *Diabrotica* som *D. virgifera virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm'). Cry34Ab1-proteinet er den aktive komponenten, men for å oppnå maksimal beskyttelse er det nødvendig med tilstedeværelse av begge proteinene. En antar at Cry34Ab1 bindes til spesifikke reseptorer på overflaten/membranen til insektets tarmceller, mens Cry35Ab1 virker ved å danne porer i cellemembranene.

Med unntak av *D. virgifera virgifera*, er det ikke påvist *Diabrotica*-arter i Europa (Crop Protection Compendium 2007). *D. virgifera virgifera* er en betydelig skadegjører i mais på det amerikanske kontinent, men ble først påvist i Europa (Serbia) i 1992. Den siste 15-årsperioden har arten etablert seg i flere land i Sentral-Europa, og det er også rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Frankrike, Italia, Nederland og Storbritannia (Crop Protection Compendium 2007). Planteskadegjøreren har allerede medført betydelige avlingstap i enkelte regioner, og spredningen skjer svært raskt, spesielt i områder med intensiv maisdyrking. Insektet overvintrer i planterøttene, og områder med monokulturer av mais og arealer der det ikke praktiseres vekstskifte er spesielt utsatte. Det har ikke vært rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Norge (<http://www.faunaeur.org/distribution.php>).

Tatt i betraktning at tiltenkt bruksområde for maishybridene ikke omfatter dyrking, 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 i Norge.

### 5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Sporadiske spillplanter av maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt øvrige hybrider basert på disse foreldrelinjene, 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 eller avledete produkter, legger faggruppen til grunn at mesteparten av Cry-proteinene denatureres av enzymaktivitet (proteaser) i fordøyelseskanaalen, og at små mengder av disse proteinene forblir intakte i feces. Flere fôringsforsøk med storfe med transgen mais som uttrykker Cry1Ab-protein har vist rask nedbryting av DNA og rekombinant protein etter fôrintak (Guertler et al. 2010; Lutz et al. 2005; Paul et al. 2010; Wiedemann et al. 2006). Det forventes også en ytterligere nedbryting av proteinene i gjødsel på grunn av mikrobielle prosesser. Dette medfører at svært lite Cry-proteiner blir spredd med husdyrgjødsel på dyrket mark, noe som igjen minimerer faren for eksponering av potensielt sensitive ikke-målorganismer i jord- og vannmiljø. Spredning av Cry-toksinet via gjødsel antas derfor ikke å gi signifikante miljøeffekter.

## 5.5 Miljøovervåkingsplan

I følge direktiv 2001/18/EF, annekse VII er formålet med miljøovervåkingsplanen 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.

Søknad EFSA/GMO/DE/2011/95 omfatter ikke dyrking, og potensiell miljøeksponering 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. Miljørisikovurderingen som er presentert av søker identifiserer ingen endret risiko for miljø i forhold til annen mais. Pioneer Hi-Bred Int. har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohåndtering eller en særskilt plan for overvåking av 1507 x 59122 x MON810 x NK603, og øvrige omsøkte sub-kombinasjoner av utgangslinjene.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603 anser VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av maislinjen.

## 5.6 Vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

Søknaden gjelder godkjenning av maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt øvrige sub-kombinasjoner av foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603, for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maishybridene. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais.

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

## 6 Vurdering av søkers dokumentasjon, kunnskapshull

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, og øvrige sub-kombinasjoner av utgangslinjene er basert på søkers dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige faglig ekspertise og andre vitenskapelige publikasjoner i vurderingen.

Faggruppen finner at dokumentasjonen er tilstrekkelig for å foreta en foreløpig risikovurdering av den genmodifiserte maislinjen i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven og genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, samt i henhold til kravene i EUs forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF.

Faggruppen påpeker imidlertid at søker ikke har utført akuttstudier på kombinasjoner av Cry-proteinene for å se på eventuelle kombinerte effekter som addisjon eller synergisme. Det påpekes også at søker burde ha utført 90-dagers subkronisk fôringsforsøk med maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt fôringsforsøk på relevante produksdyr (både oppdrettsfisk og pattedyr).

## **7 Innspill til EFSA GMO Extranet søknad EFSA/GMO/NL/2011/92**

### **D,07.08**

#### **Toxicology**

The applicant has performed acute testing separately for each Cry protein. However, the doses vary from 576 to 2700 mg/kg bw. Standard test dose according to OECD guideline 401 is up to 2000 mg/kg bw or to a toxic effect occurs. Moreover, the applicant has not performed acute studies using the combination of all Cry proteins to detect possible combinatorial effects as being either additive or synergistic. Relevant feeding studies with the maize hybrid in domestic animals including farm fish and mammals have not been performed. A 90-days subchronic oral feeding study, according to OECD guideline 408, should also have been performed on the maize hybrid.

### **D,07.09**

#### **Allergenicity**

According to Table 30 in the application, EFSA/GMO/NL/2011/92, maize consumption is as high as 150 g/person/day in some European countries, for instance Italy. Endogenous allergens (lipid transfer protein and trypsin inhibitor) in maize have been reported in human serum samples from persons with maize allergy (Pastorello et al.2000, 2003). There is a possibility that Cry proteins may increase intestinal epithelial permeability and thus allow potential bystander allergens to induce an allergic reaction. The quadruple maize hybrid contains four different Cry proteins. It cannot be excluded that the combination of Cry proteins in this manner may exert an adjuvant effect on the intestinal epithelium by increasing its permeability (The Norwegian Scientific Committee for Food Safety 2012).

## Foreløpig vurdering basert på tilgjengelig datagrunnlag

### Molekylær karakterisering

F<sub>1</sub>-hybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom de innavlede maislinjene 1507, 59122, MON810 og NK603. Southern-analyser indikerer at antall, struktur og organisering av de innsatte genkonstruksjonene i maishybriden er ekvivalent med de som finnes i de respektive foreldrelinjene.

Nivåene av Cry1F-, Cry34Ab-, Cry35Ab1-, PAT-, Cry1Ab- og CP4 EPSPS-protein i frø og vegetativt vev er sammenlignbare med uttrykk av tilsvarende proteinprodukter i foreldrelinjene. På bakgrunn av tilstedeværelse av to kopier av *pat*-genet i 1507 x 59122 x MON810 x NK603, er konsentrasjonen av PAT-proteinet imidlertid signifikant høyere i bladvev fra hybridene sammenlignet med foreldrelinjene 1507 og 59122.

### Komparative analyser

Analyser av ernæringsmessige komponenter er i hovedsak utført i tråd med OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Det er påvist signifikante forskjeller mellom testhybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og umodifisert kontroll i enkeltparametere. Verdiene for de analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, samt innenfor toleranseintervallene for de umodifiserte referansesortene som er inkludert i søkers dokumentasjon.

Faggruppen påpeker at søker ikke har foretatt analyser av vitamin C. Det understrekes at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter. Faggruppen vektlegger imidlertid at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Daglig inntak av sukkermais vil bidra med 0,5 % av daglig anbefaling for vitamin C ved inntak lik medianen (data fra Den Norske mor barn studien). Ved maisinntak på 17,5 g/dag (97,5 % persentilen) vil ca 2,6 % av daglig anbefaling for vitamin C dekkes. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbejdet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at et eventuelt avvikende nivå av vitamin C i maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 har liten ernæringsmessig betydning i Norge.

Feltforsøk over en vekstsesong i USA, viser små eller ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maishybriden 1507 x 59122 x MON810 x NK603 (sprøytet med tiltenkte herbicider eller konvensjonell herbicider) og umodifisert, nær-isogen kontroll med hensyn på morfologiske og agronomiske karakterer.

### Toksisitet og allergisitet

CP4EPSPS- og PAT- proteinene, som uttrykkes som følge av genmodifiseringen, har ingen likheter med kjente toksiner og allergener, eller egenskaper som tilsier at det vil virke som et allergen eller toksin. Innholdet av disse proteinene i korn er ca 0,01 % av totalt protein, og utgjør således en svært liten del av det totale proteininnholdet. Faggruppen finner det lite sannsynlig at eksponering av CP4EPSPS- og PAT-proteinene i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelig.

Akuttstudier på mus av de enkelte Cry-proteiner er utført. Dosene varierer imidlertid fra 576 mg til 2700 mg/kg kroppsvekt. Standarddose i henhold til OECD guideline 401 er 2000 mg/kg kroppsvekt, eller til toksisk effekt. Faggruppen påpeker, via innspill til EFSA-net, at der ikke er utført akuttstudier

på kombinasjoner av Cry-proteinene for å se på eventuelle kombinerte effekter som addisjon eller synergisme. Det påpekes også at søker burde ha utført 90-dagers subkronisk fôringsforsøk med maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt fôringsforsøk på relevante produksdyr (både oppdrettsfisk og pattedyr).

Den aktuelle maislinjen inneholder 4 forskjellige Cry-proteiner, og muligheten for kombinatoriske adjuvanseffekter på tarmepitelet kan ikke utelukkes.

Faggruppen har ikke vurdert problematikken knyttet til eventuelle rester av glufosinat og glyfosat, AMPA (metabolitt fra metabolismen av glyfosat) eller andre nedbrytningsprodukter fra disse i mat- og fôrprodukter av 1507 x 59122 x MON810 x NK603. Slike vurderinger er ikke en del av faggruppen for GMOs mandat, men utføres av VKMs Faggruppe for plantevernmidler. Faggruppe for GMO legger imidlertid til grunn at produkter, der verdiene ligger under grenseverdiene for akseptabelt daglig inntak, ikke innebærer endret helseserisiko i forhold til annen mais.

### **Miljørisiko**

Søknaden gjelder godkjenning av maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603, samt øvrige subkombinasjoner av foreldrelinjene 1507, 59122, MON810 og NK603 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maishybridene. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais.

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

Risikovurdering av de genmodifiserte maishybridene vil bli ferdigstilt av faggruppen når endelig dokumentasjon fra søker foreligger.



## Referanser

- Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Royal Statist Soc* 57: 289-300
- Bensasson D, Boore JL, Nielsen KM (2004) Genes without frontiers. *Heredity* 92: 483-489
- Borovkov IG, Jennings JC, Lirette RP (2001) Amended report for MSL16776: Confirmation of the genomic DNA sequence flanking the 5' and 3' ends of the insert in YieldGard corn event MON 810. Monsanto Technical Report MSL 17074
- CERA (2011) Center for Environmental Risk Assessment. GM Database for safety information. [http://cera-gmc.org/index.php?action=gm\\_crop\\_database](http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database)
- Chen E, Stacy C (2007) Modified Cry3A toxins and nucleic acid sequences coding therefore. US patent No 7,276,583. Washington DC: US Patent Office.
- Christensen AH, Sharrock RA, Quail PH (1992) Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology* 18: 675-689.
- Codex (2003) Codex Alimentarius Commission, Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Fifth Session, Rome, Italy, 30 June-5 July, 2003.
- Crop Protection Compendium (2007) <http://www.cabicompendium.org/cpc/home.asp>
- de Vries J, Wackernagel W (2002) Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 2094-2099.
- Depicker A, Stachel S, Dhaese P, Zambryski P, Goodman HM (1982) Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular Applied Genetics* 1: 561-573.
- EFSA (2003a) Opinion of the Scientific Panel on genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-003). *EFSA Journal* 10: 1-13
- EFSA (2003b) Opinion of the Scientific Panel on genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food regulation (EC) No 258/97 by Monsanto (Question No EFSA-Q-2003-002). *EFSA Journal* 9: 1-14
- 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](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html)
- EFSA (2005a) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) on an application (reference EFSA-GMO-NL-2004-02) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for food use, under Regulation (EC) No EFSA/GMO/NL/2011/92 - Maishybrid 1507 x 59122 x MON810 x NK603

- 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Reference EFSA-Q-2004-087). The EFSA Journal 3: 182
- EFSA (2005b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) related to notification (reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds (Reference EFSA-Q-2004-072). The EFSA Journal 3: 181
- EFSA (2005c) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-BE-2004-07) for the placing on the market of insect-protected glyphosate-tolerant genetically modified maize MON863 x MON810 x NK603, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 256: 1-25
- 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](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html)
- EFSA (2007a) Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants contained stacked transformation events. Question No EFSA-Q-2003-005D. The EFSA Journal 512:1-5
- EFSA (2007b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) on an application (reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International Inc. and Mycogen Seeds (Reference EFSA-Q-2005-045). The EFSA Journal 5: 470.
- EFSA (2007c) EFSA review of statistical analyses conducted for the assessment of the MON863 90-day rat feeding study.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/19r.pdf>
- EFSA (2009a) Use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) and the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). The EFSA Journal 1034: 1-82.  
[http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo\\_biohaz\\_st\\_ej1108\\_ConsolidatedARG\\_en.pdf?ssbinary=true](http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo_biohaz_st_ej1108_ConsolidatedARG_en.pdf?ssbinary=true)
- EFSA (2009b) Applications (references EFSA-GMO-NL-2005-22, EFSA-GMO-RX-NK603) for the placing on the market for the genetically modified glyphosate tolerant maize NK603 for cultivation, food and feed uses, import and processing and for renewal of the authorisation of maize NK603 as existing products, both under regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 1137:1-50.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1137.pdf>
- EFSA (2009c) Applications (EFSA-GMO-RX-MON810) for the renewal of authorisation for the continued marketing of (1) existing food and food ingredients produced from genetically modified insect resistant maize MON810; (2) feed consisting of and/or containing maize MON810, including the use of seed for cultivation; and of (3) food and feed additives, and feed materials produced from maize MON810, all under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 1149: 1-85.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1149.htm>

- EFSA (2009d) Application (Reference EFSA-GMO-CZ-2006-33) for the placing on the market of the insect-resistant and glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 88017 x MON 810, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 1192:1-27
- EFSA (2010a) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. Scientific option from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). EFSA Journal 8 (11):1-111.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1879.pdf>
- EFSA (2010b) Scientific opinion on application (EFSA-GMO-CZ-2008-62) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize MON 89034 x 1507 x MON 88017 x 59122 and all sub-combinations of the individual events as present in its segregating progeny, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No1829/2003 from Dow AgroSciences and Monsanto. EFSA Journal 8(9): 1781
- EFSA (2011a) Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. Scientific option from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). The EFSA Journal 9(5): 2150.  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2150.pdf>
- EFSA (2011b) Scientific Opinion updating the evaluation of the environmental risk assessment and risk management recommendations on insect resistant genetically modified maize 1507 for cultivation. The EFSA Journal 9 (11):2429  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2429.pdf>
- FAO/WHO (2000). Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- FAO/WHO (2001) Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on foods derived from biotechnology. 22-25 January 2001. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations  
<http://www.fao.org/es/esn/gm/allergygm.pdf>
- Freeze HH (2002) Phosphomannose isomerase. I: Taniguchi N, Honke K, Fukada M red. Handbook of glycosyltransferases and related genes. Edition 1. Springer-Verlag, Tokyo and New York. S. 595-599.
- FSANZ (2008) APPLICATION A1001. Food derived from insect-protected corn line 5307. Approval Report. Food Standards Australia New Zealand.  
[http://www.foodstandards.gov.au/\\_srcfiles/A1001%20GM%20Corn%20AppR%20FINAL.pdf](http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/A1001%20GM%20Corn%20AppR%20FINAL.pdf)
- Geiser M, Schweizer S, Grimm C (1986) The hypervariable region in the genes coding for entomopathogenic crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*: nucleotide sequence of the *kurhd1* gene of subsp. *kurstaki* HD. Gene 48: 109-118
- Guimaraes VD, Drumare MF, Ah-Leung S, Lereclus D, Bernard H, Creminon C, Wal JM, Adel-Patient K (2008) Comparative study of the adjuvanticity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab protein and cholera toxin on allergic sensitisation and elicitation to peanut. Food and Agricultural Immunology, 19, DOI 10.1080/09540100802495651|PII 09540100906477739.
- Hallauer AR (2000) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA

- Hernández M, Pla M, Esteve T, Prat S, Puigdomènech P, Ferrando A. (2003). A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON 810 in maize YieldGard® based on the 3'-transgene integration sequence. *Transgenic Research* 12: 179-189
- Hoeckema A, Hirsch P, Hooykaas P, Schilperoort R (1983) A binary plant vector strategy based on separation of vir- and T-region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti-plasmid. *Nature* 303: 179-180
- Hohn T, Stavolone L, De Haan P et al. (2007) Cestrum yellow leaf curling virus promoters. US Patent No7, 166,770. Washington DC : US Patent Office.
- Holck A, Va M, Didierjean L, Rudi K (2002) 5'-Nuclease PCR for quantitative event-specific detection of the genetically modified MON 810 MaisGard maize. *Eur Food Res Technol* 214: 449-453
- ILSI (2007) International Life sciences Institute Crop Composition Database Version 3.0. URL: <http://www.cropcomposition.org>
- Koziel MG, Desai NM, Lewis KS et al. (1997) Synthetic DNA sequence having enhanced insectical activity in maize. Ciba-Geigy, assignee. US Patent No. 5,625,136. Washington, DC: US Patent Office.
- La Paz JL, Pla M, Papazova N, Puigdomènech P, Vicient CM (2010a) Stability of the MON 810 transgene in maize. *Plant Mol Biol* 74:563-571
- La Paz JL, Vicient CM, Puigdomènech P, Pla M (2010b) Characterization of polyadenylated *cryIA(b)* transcripts in maize MON810 commercial varieties. *Anal Bioanal Chem* 396:2125-2133
- Lid J, Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. ISBN: 82-521-6029-8. 1230s
- Lutz B, Wiedemann S, Einspanier R, Mayer J, Albrecht C (2005) Degradation of Cry1Ab Protein from Genetically Modified Maize in the Bovine Gastrointestinal Tract. *J Agric Food Chem* 53: 1453-1456
- Moreno-Fierros, L., Ruiz-Medina, E.J., 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
- Murray EE, Lotzer J, Eberle M (1989) Codon usage in plant genes. *Nucleic Acids Research* 17: 477-498
- Negretto D, Jolley M, Beer S et al. (2000) The use of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic maize plants (*Zea mays* L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell Reports* 19: 798-803
- 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. *Nature Biotechnology* 22: 204-209.
- Nielsen KM, van Elsas JD, Smalla K (2000) Transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 (pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Applied Environmental Microbiology* 66: 1237-1242

- 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) 1: 96-149
- Nielsen KM, Townsend JP. (2004) Monitoring and modeling horizontal gene transfer. Nature Biotechnology 22(9): 1110-1114
- OECD (1998) OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring. Number 1. ENV/MC/CHEM (98)17.  
[http://www.olis.oecd.org/olis/1998doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/\\$FILE/01E88455.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/1998doc.nsf/LinkTo/NT00000C5A/$FILE/01E88455.PDF)
- OECD (2002) Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites, 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
- Ooms G, Hooykaas PJJ, van Veen RM, et al. (1982) Octopine Ti-Plasmid Deletion Mutants of *Agrobacterium tumefaciens* with Emphasis on the Right Side of the T-Region. Plasmid 7: 15-29.
- Pastorello et al. (2000) The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. J. Allergy Clin. Immunol. 106:744-751
- Pastorello et al. (2003) Lipid-transfer protein is the major maize allergen maintaining IgE-binding activity after cooking at 100 degrees C, as demonstrated in anaphylactic patients and patients with positive double-blind, placebo-controlled food challenge results. J. Allergy Clin. Immunol. 112:775-783
- 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
- Paul V, Guertler P, Wiedemann S, Meyer HHD (2010) Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize (MON810) in relation to total dietary feed proteins in dairy cow digestion. Transgenic Res 19: 683-689
- Rizzi AN, Raddadi C, Sorlini L, Nordgård L, Nielsen KM, Daffonchio D (2012) The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals - implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs. Crit. Rev. Food Science Nutr. 52:142-161
- 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
- Rosati A, Bogani P, Santarlaschi L, Buiatti M (2008) Characterisation of 3' transgene insertion site and derived mRNAs in MON810 YieldGard maize. Plant Molecular Biology 67: 271-281
- Scanlon NK, Masucci JD, Jennings JC (2007) Amended report for MSL 18784: additional southern blot and sequencing analysis of YieldGard cornborer corn MON 810. Monsanto Technical Report, MSL 0020709.

- Schubbert GW, 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
- SCP (1998) Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the genetically modified, insect resistant maize lines notified by the Monsanto Company. Notification C/F/95/12/02  
[http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out02\\_en.html](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out02_en.html)
- Sekar V, Thompson DV, Maroney MJ et al. (1987) Molecular cloning and characterization of the insecticidal crystal protein gene of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 84: 7036-7040
- Seralini GE, Cellier D, Spiroux de Vendômois J (2007) New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol* 52: 596-602.
- 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.
- US EPA 40 CFR PART 160. USA Environmental Protection Agency Good Laboratory Practices - 40 CFR Part 160  
<http://www.epa.gov/compliance/monitoring/programs/fifra/glp.html>
- van Frankenhuyzen K, Nystrom C (2002) The *Bacillus thuringiensis* toxin specificity database.  
[http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)
- van Wijk F, Knippels L (2007) Initiating mechanisms of food allergy: oral tolerance versus allergic sensitization. *Biomed Pharmacother* 61: 8–20
- 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, R.I., 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
- Vendômois JS, Roullier F, Cellier D, Sèralini GE (2009) A Comparison of the Effects of Three GM Corn Varieties on Mammalian Health. *International Journal of Biological Sciences* 5: 706-726
- VKM (2004a) Vurdering av genmodifisert insekts- og herbicidtolerant mais (C/ES/01/01) til bruk som fôrvare. Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for

- mattrygghet 10.05.2004. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. <http://www.vkm.no/dav/f52584e3a1.pdf>
- VKM (2004b) Risikovurdering maislinje 1507 (EFSA/GMO/NL/2004). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 14.11.2004. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2005b) Report from an Ad Hoc Group appointed by the Norwegian Scientific Panel on Genetically Modified Organisms and Panel on Biological Hazards – An assessment on potentially long-term health effects caused by antibiotic resistance marker genes in genetically modified organisms based on antibiotic usage and resistance patterns in Norway. Opinion 05/302-1-final. Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, Norway. 62 p.
- VKM (2005c) Uttalelse vedrørende Monsanto's genmodifiserte åkermais NK603 (notifikasjon C/ES/00/01). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 8.3.2005. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2007a) Uttalelse om Monsanto's genmodifiserte mais MON810. Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 30.1.2007. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. <http://www.vkm.no/dav/f2921900e0.pdf>
- VKM (2007b) Miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje MON810. Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 9.11.2007. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge <http://www.vkm.no/dav/cdc63a5681.pdf>
- VKM (2008a) Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais 59122 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. Og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/NL/2005/12). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 19.9.2008. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. <http://www.vkm.no/dav/0fa3175665.pdf>
- VKM (2008b) Miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid 1507 x 59122 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. Og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/NL/2005/28). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 9.05.2008. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. <http://www.vkm.no/dav/82bfabbc6f.pdf>
- VKM (2010) Vurdering av ny publikasjon om mulige helseeffekter av genmodifisert glyfosattolerant maislinje NK603 og de to insektsresistente maislinjene MON810 og MON863. Uttalelse fra *ad hoc*-gruppe under Vitenskapskomiteen for mattrygghet 30.4.2010. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. [http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content\\_6500&Main\\_6177=6500:0:31\\_2296&Content\\_6500=6187:1820066::0:6295:5::0:0](http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6500&Main_6177=6500:0:31_2296&Content_6500=6187:1820066::0:6295:5::0:0)
- VKM (2012) Helse- og miljørisikovurdering av Cry-proteiners adjuvanseffekt. Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 25.4.2012. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. [http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content\\_6504&Main\\_6177=6504:0:31\\_2365&Content\\_6504=6187:1914443::0:6271:1::0:0](http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6504&Main_6177=6504:0:31_2365&Content_6504=6187:1914443::0:6271:1::0:0)
- Walker DR, Walker AK, Wood ED, Bonet T, Talevera ME, Farnandez FE et al. (2006) Gametic selection by glyphosate in soybean hemizygous for the CP4 EPSPS transgene. *Crop Science* 46: 30-35

Warman PR, Havard KA (1998) Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown potatoes and sweet corn. *Agric, Ecosyst Environment* 68: 207–216.

Wiederman S, Lutz B, Kurtz H, Schwarz FJ, Albrecht C (2006) In situ studies on the time-dependent degradation of recombinant corn DNA and protein in the bovine rumen. *Journal of Animal Science* 84: 135-144



# Vedlegg 1

Tabell 1. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry1F- og PAT-protein i pollen, blad, stilk, rot og frø fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og foreldrelinjen 1507. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.

Tissue (Growth Stage)	Conventional herbicide-treated MON810xNK603x1507/1507			Conventional herbicide-treated 1507				Intervetted herbicide-treated 1507x59122xMON810xNK603		
	Cry1F	PAT		Cry1F	PAT			Cry1F	PAT	
Pollen (R1)	Mean <sup>a</sup>	26	<0.26 <sup>b</sup>	26	<0.26 <sup>b</sup>			29	<0.26 <sup>b</sup>	
	Range	19 - 34	<0.26 <sup>b</sup>	26 - 35	<0.26 <sup>b</sup>			22 - 36	<0.26 <sup>b</sup>	
	CI	26 - 33	NA <sup>c</sup>	26 - 35	NA			22 - 37	NA	
	FDR			0.923	0.913	NA	NA			
	P-Value			0.788	0.998	NA	NA			
Leaf (R1)	Mean	17	29	19		8.4		20	32	
	Range	11 - 25	20 - 43	13 - 29		5.1 - 13		13 - 35	23 - 52	
	CI	9.8 - 31	22 - 39	11 - 33		6.3 - 11		11 - 35	24 - 43	
	FDR			0.883	0.643	0.000338 <sup>d</sup>	0.000235 <sup>d</sup>			
	P-Value			0.485	0.599	<0.0001	<0.0001			
Stalk (RA)	Mean	7.4	0.30	7.6		0.16		6.7	0.27	
	Range	6.4 - 9.4	0.22 - 0.56	6.0 - 9.4		<0.046 <sup>b</sup> - 1.1		4.2 - 8.8	0.17 - 0.46	
	CI	5.9 - 9.3	0.074 - 1.2	6.1 - 9.6		0.039 - 0.62		5.4 - 8.4	0.068 - 1.1	
	FDR			0.923	0.491	0.762	0.491			
	P-Value			0.684	0.184	0.283	0.325			
Seed (R2)	Mean	3.6	0.39	3.6		0.14		4.4	1.4	
	Range	1.3 - 8.6	<0.069 <sup>b</sup> - 2.4	1.4 - 8.9		<0.069 <sup>b</sup> - 0.68		2.6 - 7.5	<0.069 <sup>b</sup> - 4.2	
	CI	1.5 - 9.1	0.13 - 2.7	1.4 - 9.0		0.028 - 0.69		1.9 - 11	0.31 - 6.4	
	FDR			0.982	0.491	0.782	0.396			
	P-Value			0.948	0.348	0.242	0.0815			
Grain (R3)	Mean	4.1	0.975	3.7		<0.069 <sup>b</sup>		3.9	0.999	
	Range	2.3 - 9.7	<0.069 <sup>b</sup> - 0.15	<0.069 <sup>b</sup> - 8.9		<0.069 <sup>b</sup>		1.8 - 4.8	<0.069 <sup>b</sup> - 0.36	
	CI	3.4 - 9.8	NA	3.1 - 4.3		NA	NA	3.2 - 4.7	NA	
	FDR			0.885	0.901	NA	NA			
	P-Value			0.487	0.794	NA	NA			

<sup>a</sup> Geometric mean; all data are in ng per mg tissue dry weight  
<sup>b</sup> Results below the sample LLOQ were assigned a value equal to the LLOQ for calculation purposes  
<sup>c</sup> Statistical analysis was not available (NA)  
<sup>d</sup> Statistically significant difference, adjusted P-Value <0.05

Tabell 2. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry34Ab1-, Cry35Ab1- og PAT-protein i pollen, blad, stilk, rot og frø fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og foreldrelinjen 59122. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.

Tissue (Growth Stage)	Conventional herbicide-treated MON810xNK603x59122			Conventional herbicide-treated 59122				Intervetted herbicide-treated 1507x59122xMON810xNK603			
	Cry 34Ab1	Cry 35Ab1	PAT	Cry 34Ab1	Cry 35Ab1	PAT		Cry 34Ab1	Cry 35Ab1	PAT	
Pollen (R1)	Mean <sup>a</sup>	39	<0.12 <sup>b</sup>	<0.12 <sup>b</sup>	61	<0.12 <sup>b</sup>		39	<0.12 <sup>b</sup>	<0.12 <sup>b</sup>	
	Range	44 - 72	<0.12 <sup>b</sup>	<0.12 <sup>b</sup>	50 - 90	<0.12 <sup>b</sup>		47 - 79	<0.12 <sup>b</sup> - 0.62	<0.12 <sup>b</sup>	
	CI	52 - 85	NA <sup>c</sup>	NA	54 - 88	NA	NA	52 - 87	NA <sup>c</sup>	NA	
	FDR				0.923	0.643	NA	NA			
	P-Value				0.487	0.382	NA	NA			
Leaf (R1)	Mean	85	75	29	82		70	18	99	78	
	Range	66 - 110	57 - 96	20 - 43	60 - 110		49 - 100		53 - 190	42 - 130	
	CI	53 - 140	48 - 120	22 - 39	51 - 130		45 - 110		62 - 160	50 - 120	
	FDR				0.923	0.431	0.762	0.296	0.0232 <sup>d</sup>	0.00726 <sup>d</sup>	
	P-Value				0.839	0.285	0.238	0.0728	0.00160	0.000751	
Stalk (RA)	Mean	51	16	0.30	53		22		56	16	
	Range	44 - 60	13 - 20	0.22 - 0.56	44 - 82		15 - 34		40 - 68	12 - 22	
	CI	44 - 60	13 - 20	0.074 - 1.2	45 - 62		18 - 28		48 - 66	12 - 20	
	FDR				0.923	0.491	0.123	0.8834	0.782	0.491	
	P-Value				0.529	0.251	0.9127	0.9115	0.236	0.189	
Seed (R2)	Mean	29	8.3	0.39	27		10		34	13	
	Range	3.7 - 57	2.4 - 29	<0.069 <sup>b</sup> - 2.4	7.8 - 54		3.8 - 18		1.2 - 57	0.6 - 19	
	CI	4.0 - 180	3.1 - 24	0.13 - 2.7	4.3 - 180		3.7 - 29		5.5 - 210	4.6 - 35	
	FDR				0.923	0.491	0.889	0.491	0.325	0.491	
	P-Value				0.914	0.230	0.307	0.326	0.839	0.356	
Grain (R3)	Mean	29	1.3	0.975	30		1.3		32	1.30	
	Range	14 - 54	0.69 - 2.2	<0.069 <sup>b</sup> - 0.15	17 - 60		0.88 - 2.0		12 - 51	0.31 - 2.2	
	CI	22 - 38	0.81 - 2.1	NA	22 - 39		0.88 - 2.0		24 - 42	0.15 - 1.9	
	FDR				0.923	0.581	0.923	0.491	NA	NA	
	P-Value				0.721	0.561	0.766	0.288	NA	NA	

<sup>a</sup> Geometric mean; all data are in ng per mg tissue dry weight  
<sup>b</sup> Results below the sample LLOQ were assigned a value equal to the LLOQ for calculation purposes  
<sup>c</sup> Statistical analysis was not available (NA)  
<sup>d</sup> Statistically significant difference, adjusted P-Value <0.05

Tabell 3. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for Cry1Ab-protein i pollen, blad, stilk, rot og frø fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og foreldrelinjen MON810. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.

Tissue (Growth Stage)		Conventional Isabelle-treated 1507-59122-MON810 xNK603	Conventional Isabelle-treated MON810		Isabelle Isabelle-treated 1507-59122-MON810 xNK603
		CRY1Ab	CRY1Ab		CRY1Ab
Pollen (R1)	Mean <sup>a</sup>	<0.16 <sup>b</sup>	<0.16 <sup>b</sup>		0.17
	Range	<0.16 <sup>b</sup>	<0.16 <sup>b</sup>		<0.16 <sup>b</sup> -0.39
	CI	NA <sup>c</sup>	NA		NA
	FDR		NA	NA	
	P-Value		NA	NA	
Leaf (R1)	Mean	24	22		22
	Range	17-33	13-38		17-29
	CI	15-38	14-35		14-35
	FDR		0.023	0.018	
	P-Value		0.464	0.918	
Stalk (R1)	Mean	5.9	6.6		5.6
	Range	4.6-7.2	4.8-7.8		3.4-7.8
	CI	4.3-8.1	4.8-9.0		4.8-7.6
	FDR		0.762	0.283	
	P-Value		0.164	0.0077	
Root (R1)	Mean	4.5	5.2		6.5
	Range	1.4-9.9	1.4-7.5		3.8-11
	CI	1.9-11	2.1-12		2.6-13
	FDR		0.883	0.431	
	P-Value		0.481	0.349	
Grain (R6)	Mean	0.23	0.23		0.23
	Range	0.096-0.54	0.064-0.39		0.093-0.42
	CI	0.15-0.34	0.17-0.37		0.15-0.35
	FDR		0.762	0.431	
	P-Value		0.143	0.229	

<sup>a</sup> Geometric mean; all data are in ng per mg tissue dry weight

<sup>b</sup> Results below the sample LLOQ were assigned a value equal to the LLOQ for calculation purposes

<sup>c</sup> Statistical analysis was not available (NA)

Tabell 4. Gjennomsnittlige konsentrasjoner og variasjonsområder for CP4 EPSPS-protein i pollen, blad, stilk, rot og frø fra 1507 x 59122 x MON810 x NK603 og foreldrelinjen NK603. Resultater fra feltforsøk i USA vekstsesongen 2008.

Tissue (Growth Stage)		Conventional herbicide-treated 1507 x 59122 x MON810 x NK603	Conventional herbicide-treated NK603	Intended herbicide-treated 1507 x 59122 x MON810 x NK603
		CP4 EPSPS	CP4 EPSPS	CP4 EPSPS
Pollen (R1)	Mean <sup>a</sup>	260	260	440
	Range	230 - 290	230 - 290	340 - 520
	CI	250 - 270	250 - 270	420 - 470
	FDR		0.984	0.00631 <sup>b</sup>
	P-Value		0.984	0.000435
Leaf (R1)	Mean	170	170	190
	Range	150 - 200	110 - 240	130 - 270
	CI	130 - 230	150 - 230	140 - 260
	FDR		0.923	0.431
	P-Value		0.763	0.360
Stalk (R1)	Mean	62	62	30
	Range	52 - 74	48 - 86	44 - 72
	CI	51 - 74	52 - 75	49 - 71
	FDR		0.923	0.431
	P-Value		0.763	0.244
Root (R1)	Mean	30	30	48
	Range	15 - 66	49 - 69	30 - 69
	CI	16 - 55	16 - 61	26 - 120
	FDR		0.923	0.431
	P-Value		0.822	0.175
Grain (R2)	Mean	8.5	12	13
	Range	3.9 - 17	7.3 - 20	6.3 - 20
	CI	7.2 - 16	9.9 - 14	11 - 16
	FDR		0.125	0.431
	P-Value		0.0174	0.257

<sup>a</sup> Geometric mean; all data are in ng per mg tissue dry weight

<sup>b</sup> Statistically significant difference, adjusted P-Value <0.05