



VKM Report 2014: 10

Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (C/F/95/12/07)

Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

Rapport fra Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) 2014: 10

Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (C/F/95/12/07)

Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

Dato: 17. oktober 2014

Dok. nr.: 14/305- endelig

ISBN: 978-82-8259-146-1

Foto: iStock Photo

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.

Takk til

Monica Sanden, Nasjonal Institutt for ernærings- og sjømatforskning (NIFES), takkes for viktige bidrag til denne risikovurderingen.

Vurdert av

Faggruppe for genmodifiserte organismer

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

Koordinatorer i sekretariatet

Arne Mikalsen, Merethe Aasmo Finne, Anne-Marthe Jevnaker og Ville Erling Sipinen

Sammendrag

I forbindelse med forberedelse til implementering av EU-forordning 1829/2003 i norsk rett, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) bedt av Miljødirektoratet (tidligere Direktoratet for naturforvaltning (DN)) og Mattilsynet om å utarbeide endelige helse- og miljørisikovurderinger av alle genmodifiserte organismer (GMOer) og avledete produkter som inneholder eller består av GMOer som er godkjent under forordning 1829/2003 eller direktiv 2001/18, og som er godkjent for ett eller flere bruksområder som omfattes av genteknologiloven. Miljødirektoratet og Mattilsynet har bedt VKM om endelige risikovurderinger for de EU-godkjente søknader hvor VKM ikke har avgitt endelige risikovurderinger. I tillegg er VKM bedt om å vurdere hvorvidt det er nødvendig med oppdatering eller annen endring av de endelige helse- og miljørisikovurderingene som VKM tidligere har levert.

Den genmodifiserte maislinjen T25 (Unik kode ACS-ZMØØ3-2) ble godkjent til dyrking, frøavl, import, videreforedling, mat og fôr under EUs tidligere utsetningsdirektiv (direktiv 90/220/EF) i 1998. Maislinjen ble også godkjent til bruk som avledete næringsmidler og næringsmiddelingsredienser under den forenklede prosedyren i Novel Foodsforordningen (EF) Nr. 258/97, og notifisert som eksisterende produkt (prosesserte næringsmidler, tilsetningsstoffer til næringsmidler, fôrvarer og tilsetningsstoffer til fôr) under forordning 1829/2003/EF. Godkjenningen av T25 gikk ut i 2007, og Bayer CropScience leverte to nye søknader om videre godkjenning av maislinjen for alle bruksområder (EFSA/GMO/RX/T25 og EFSA/GMO/NL/2007/46) samme år. I 2013 ble begge søknadene endret til ikke å omfatte dyrking i EU. VKM har vurdert maislinjen i henhold til tiltenkt bruksområde i EU/EØS-området, dvs. til import, prosessering, mat og fôr.

Maislinjen ble første gang vurdert av VKMs faggruppe for GMO i 2007 i forbindelse med vurdering av markedsadgang i Norge (VKM 2007a, b). Risikovurderingene ble utført på oppdrag fra Mattilsynet og Miljødirektoratet, og inkluderte vurderinger av potensielle helse- og miljøeffekter ved bruk av T25 som næringsmiddel, fôrvare og til dyrking. VKM har også utarbeidet foreløpige risikovurderinger av maislinjen i forbindelse med EFSAAs offentlige høring av søknadene EFSA/GMO/RX/T25 og EFSA/GMO/NL/2007/46 i 2008 og 2009 (VKM 2008, 2009). VKM har også risikovurdert maishybriden NK603 x T25, der T25 inngår som en av foreldrelinjene (VKM 2011). Etablering av nye, reviderte retningslinjer for helse- og miljørisikovurderinger av genmodifiserte planter og publisering av ny vitenskapelig litteratur har medført at VKM har valgt å utarbeide en revidert helse- og miljørisikovurdering av mais T25.

Risikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen 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 miljøkravene i 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 2006a, 2010, 2011a,b,c) 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, potensielle 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 VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer. Vurderinger av mulige plantevernmiddelester i den genmodifiserte planten som følge av endret sprøytemiddelbruk faller per i dag utenfor VKMs ansvarsområde og er derfor heller ikke vurdert av faggruppen.

Den genmodifiserte maislinjen T25 har fått innsatt en genkonstruksjon med en enkeltkopi av *pat*-genet fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicerer 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. T25 plantene vil derfor tolerere høyere doser av sprøytemiddelet glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras. T25 inneholder en delvis deletert, trunkert og ikke funksjonell versjon av β -lactamase (*ampR*) genen, som ikke uttrykkes i maisplantene.

Molekylær karakterisering

Data fra den molekylære karakteriseringen indikerer at det introduserte genet og egenskapen er intakt integrert i maisens genom og at dette er stabilt nedarvet over generasjoner. Adekvate bioinformatikk- og sekvensanalyser er utført av integreringssete i plantens genom, og innsatt og flankerende DNA. Southern blot hybridisering indikerer at bare en kopi av *pat*-genet er integrert i maisgenomet, og oppdaterte databasesøk har ikke avdekket potensielle ny åpne leserammer med sekvenslikhet til kjente toksiner eller allergener. VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer den molekylære karakteriseringen av mais T25 som akseptabel.

Komparative analyser

Analysene av hovedkomponenter for T25 fôrmais ble generert fra 15 forskjellige lokaliteter i Europa i 1999 og 2000, mens analysene for T25 sukkermais er fra 14 forskjellige lokaliteter i USA i 2002 og 2003. Feltstudiene viste statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter både i T25 fôr- og sukkermais sammenliknet med korresponderende, umodifisert kontroll med hensyn på ernæringsmessige egenskaper. Forskjellene var imidlertid ikke konsistente over forsøksfelt og variasjonsområdene for de undersøkte parameterne ligger innenfor det normale variasjonsområdet til konvensjonelle maissorter. Basert på vurdering av tilgjengelig data, konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik dens konvensjonelle motpart, med unntak av de introduserte egenskapene. Med unntak av forskjeller i blomstringstidspunkt, viser undersøkelser av agronomiske karakterer ingen signifikante forskjeller mellom T25 og kontrollinjer. Resultatene viser ingen indikasjon på at de innsatte genene i T25 har medført utilsiktede endringer i egenskaper knyttet til vekst og utvikling hos maisplantene.

Helserisiko

Akutte toksisitetstester av ny-uttrykte proteiner har ikke indikert toksiske effekter. Denne typen studier har begrenset vitenskapelig verdi for risikovurderinger av mat og fôr avledet fra genmodifiserte planter og er derfor ikke vektlagt i denne risikovurderingen. EFSA fraråder å bruke akutte- og repetertdose-toksisitetsstudier i risikovurderinger av genmodifiserte planter fordi disse ikke gir noen tilleggsinformasjon.

Føringsstudier utført på rotter, broiler og melkekyr har ikke indikert helseskadelige effekter av mais T25. Disse studiene indikerer også at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais. PAT-proteinet viser ingen likhetstrekk til kjente toksiner eller allergener, og er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Ut fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at PAT-proteinet vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat basert på mais T25 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Miljørisiko

Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen av maislinjen T25 avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes av GMO-panelet til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinje T25 antas det ikke å være risiko for utilsiktede effekter på ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO med at mais T25 er ernæringsmessig, ekvivalent med konvensjonell mais. Det er lite trolig at PAT proteinet vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat og fôr basert på mais T25 sammenliknet med konvensjonelle maissorter. Likeledes finner faggruppen finner at mais T25, ut fra dagens kunnskap og omsøkt bruk, er sammenlignbar med konvensjonell mais når det gjelder mulig miljørisiko i Norge.

Nøkkelord

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maislinje T25, fôrmais, sukkermais, C/F/95/12/07, EFSA/GMO/NL/2007/46, EFSA/GMO/RX-T25, herbicidtoleranse, PAT, glufosinat-ammonium, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF, direktiv 2001/18/EF

Forkortelser og ordforklaringer

Allel	Et bestemt gen kan foreligge i ulike varianter (alleler). Allelene kan være dominante (bestemmende for fenotypen) eller recessive (vikende).
ALS	Acetolactatsyntase-enzym
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 ₁ , BC ₂ etc: betegnelse på 1. og 2. tilbakekryssingsgenerasjon, etc.
BLASTn	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av nukleotidsekvenser.
BLASTP	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av aminosyresekvenser i proteiner.
BLASTx	Algoritme som benyttes for oversetting fra kodende nukleotidsekvenser til aminosyresekvenser.
bp	Basepar
<i>B.t.</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Codex	FAO/WHO-organ som etablerer globale handelsstandarder for mat.
DG JRC-EURL	Directorate-General Joint Research Centre - European Union Reference Laboratory
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-ammonium	Bredspektret herbicid (ugrasmiddel)
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
HGT	Horisontal genoverføring
Konstitutiv	Cellulær produksjon av et molekyl med konstant hastighet og som ikke reguleres av indre og ytre stimuli.
Konstitutivt gen	Et gen hvis aktivitet bare avhenger av hvordan promoteren til genet binder RNA polymerase.
Lokus	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
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	Phosphinothricin Acetyl-transferase protein
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.
USDA	United States Department of Agriculture
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USA's miljøvernmyndigheter
Utviklingsstadier hos mais:	
	<u>Vegetative stadier</u>
	VE: oppspiring
	V1: 1. blad
	V2: 2. blad
	V(n): n'te blad
	VT: synlige hannblomsterstand (tassel)
	<u>Reproduktive stadier</u>
	R1: synlige hunnblomster
	R2: 'blister'
	R3: melkmodning
	R4: deigmodning
	R5: dent
	R6: fysiologisk moden
Western-blot	Metode for overføring av proteiner til en membran som binder protein.
WHO	World Health Organisation. Verdens helseorganisasjon, organ under FN

Innholdsfortegnelse

Bidragstyttere	3
Vurdert av.....	3
Sammendrag	4
Nøkkelord.....	6
Forkortelser og ordforklaringer	7
Innholdsfortegnelse	9
Bakgrunn	10
Oppdrag fra Miljødirektoratet og Mattilsynet	11
Risikovurdering	13
1 Innledning	13
2 Molekylær karakterisering	14
2.1 Transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon	14
2.2 Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen i T25	15
2.3 Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener og åpne leserammer (ORF).....	17
2.4 Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA	18
2.5 Konklusjon	19
3 Komparative analyser	19
3.1 Valg av komparator og produksjon av materiale for komparative analyser.....	19
3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter	19
3.3 Agronomiske karakterer.....	21
3.4 Konklusjon	22
4 Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet	22
4.1 Toksisitet.....	22
4.2 Ernæringsstudier på produksjonsdyr som også vurderer helseeffekter av mais T25	23
4.3 Allergisitet.....	25
4.4 Konklusjon	25
5 Miljøriskovurdering	26
5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen	26
5.2 Potensiale for genoverføring	26
5.2.1 Horisontal genoverføring (HGT)	27
5.2.2 Vertikal genoverføring	27
5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer.....	28
5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer.....	28
5.5 Konklusjon	28
6 Overvåking	29
7 Kunnskapshull	30
8 Konklusjoner	31
Referanser	33
Vedlegg	37

Bakgrunn

I forbindelse med forberedelse til implementering av EU-forordning 1829/2003 i norsk rett, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) bedt av Miljødirektoratet (tidligere Direktoratet for naturforvaltning (DN)) og Mattilsynet om å utarbeide endelige helse- og miljørisikovurderinger av alle genmodifiserte organismer (GMOer) og avledete produkter som inneholder eller består av GMOer som er godkjent under forordning 1829/2003 eller direktiv 2001/18, og som er godkjent for ett eller flere bruksområder som omfattes av genteknologiloven. Miljødirektoratet og Mattilsynet har bedt VKM om endelige risikovurderinger for de EU-godkjente søknader hvor VKM ikke har avgitt endelige risikovurderinger. I tillegg er VKM bedt om å vurdere hvorvidt det er nødvendig med oppdatering eller annen endring av de endelige helse- og miljørisikovurderingene som VKM tidligere har levert.

Maislinje T25 ble opprinnelig godkjent som genmodifisert organisme i EU under det tidligere utsetningsdirektivet (direktiv 90/220/EF), med bruksområder dyrking, frøavl, import, videreforedling, mat og fôr. Søknaden ble anbefalt og fremmet av franske myndigheter, og sendt på høring til EU/EØS-landene i mai 1996, med frist på 60 dager for kommentarer og innspill. EUs tidligere Vitenskapskomité for planter ('Scientific Committee on Plants') ga sin uttalelse til søknaden i februar 1998, og en oppdatert vurdering 20. juli 2001 (SCP 1998, 2001). Godkjenning for omsetning av maislinje T25 ble gitt 22. april 1998, og omfattet både den genmodifiserte maislinjen, og alle avledete sorter (innavlede linjer, hybrider) produsert ved hjelp av konvensjonell foredlingsmetodikk.

Maislinje T25 ble videre godkjent under den forenklede prosedyren i Novel Foodsforordningen (EF) Nr. 258/97 til bruk som avledete næringsmidler og næringsmiddelingsredienser, og notifisert som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF, artikkel 8 og 20, med bruksområder prosesserte næringsmidler, tilsetningsstoffer til næringsmidler, fôrvarer (både i prosessert form og som levende organisme), samt tilsetningsstoffer til fôr.

Godkjenningen av T25 gikk ut 18. april 2007, og Bayer CropScience leverte i den forbindelse en søknad om fornyet godkjenning under Forordning (EF) No. 1829/2003 om genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer (artiklene 3(1) og 15(1)), og i overensstemmelse med direktiv 2001/18/EF, del C. Søknaden omfattet næringsmidler og næringsmiddelingsredienser produsert fra T25, fôr som inneholder eller består av eller er produsert fra T25, og dyrking (EFSA/GMO/RX-T25). En søknad om godkjenning av maislinje T25 til import, prosessering, mat, fôr og dyrking ble levert samme år (EFSA/GMO/NL/2007/46). EFSA arrangerte offentlige høringer av søknadene i henholdsvis 2008 og 2009. I 2013 ble bruksområdet for begge søknadene endret til ikke å omfatte dyrking av T25 i EU. EFSA leverte en felles vurdering av søknadene EFSA/GMO/RX-T25 og EFSA/GMO/NL/2007/46 i 2013 (EFSA 2013a). VKM har derfor vurdert maislinjen i henhold til tiltenkt bruksområde i EU/EØS-området, dvs. til import, prosessering, mat og fôr.

I Norge ble maislinjen T25 første gang vurdert av Nasjonalt folkehelseinstitutt i 1996 med hensyn på risiko for allergi, effekter ved direkte håndtering, bruk som næringsmiddel og miljømessige forhold av helsemessig betydning. I forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av T25 som annen mais under direktiv 90/220/EF, vurderte VKMs Faggruppe for genmodifiserte organismer helse- og miljøaspekter knyttet til dyrking og bruk av maislinjen som næringsmiddel og fôrvarer i 2007 (VKM 2007a, b). VKM har også utarbeidet foreløpige risikovurderinger av maislinjen i forbindelse med EFSA's offentlige høring av søknadene EFSA/GMO/RX/T25 og EFSA/GMO/NL/2007/46 i 2008 og 2009 (VKM 2008; VKM 2009). VKM har også risikovurdert maishybriden NK603 x T25, der T25 inngår som en av foreldrelinjene (VKM 2011). Etablering av nye, reviderte retningslinjer for helse- og miljørisikovurderinger av genmodifiserte planter og publisering av ny vitenskapelig litteratur har medført at VKM har valgt å utarbeide en revidert helse- og miljørisikovurdering av mais T25.

Oppdrag fra Miljødirektoratet og Mattilsynet

Miljødirektoratet (tidligere Direktoratet for Naturforvaltning) har det overordnede ansvaret for behandling av søknader om utsetting av genmodifiserte organismer (GMO). Dette innebærer blant annet å koordinere søknadsbehandlingen, samt å foreta helhetlig vurdering og anbefaling til Miljøverndepartementet i forbindelse med norsk sluttbehandling av søknadene. Direktoratet har ansvar for å vurdere miljørisiko ved utsetting av GMO, samt å vurdere produktets innvirkning på bærekraft, samfunnsnytte og etikk i henhold til genteknologiloven.

Mattilsynet er ansvarlig for å vurdere risiko for menneske- og dyrehelse ved utsetting av GMO i henhold til genteknologiloven og matloven. Mattilsynet forvalter i tillegg regelverk for avlede produkter fremstilt på grunnlag av GMO, samt landbruksfaglige vurderinger i henhold til eget sektorlovverk.

Miljødirektoratet

I forbindelse med forberedelse til implementering av EU-forordning 1829/2003 i norsk rett, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM), i brev av 13. juni 2012 (ref. 2008/4367/ART-BI-BRH), bedt av Miljødirektoratet om å utarbeide endelige miljørisikovurderinger av alle genmodifiserte organismer (GMOer) og avledete produkter som inneholder eller består av GMOer som er godkjent i EU under forordning 1829/2003 eller direktiv 2001/18, og som er godkjent for ett eller flere bruksområder som omfattes av genteknologiloven. Direktoratet har bedt VKM om endelige risikovurderinger for de EU-godkjente søknader hvor VKM ikke har avgitt endelig miljørisikovurdering. I tillegg har Miljødirektoratet bedt VKM vurdere hvorvidt det er nødvendig med oppdatering eller annen endring av de endelige miljørisikovurderingene som VKM tidligere har levert

Grunnlaget for vurdering av søkers miljørisikovurdering er nedfelt i lov om framstilling 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 2006a, 2010a, 2011), og OECDs veiledningsdokumenter være nyttige i forbindelse med utarbeidelse av norske risikovurderinger.

I henhold til oppdraget skal vurderingen primært fokusere på risiko for miljø i Norge, og skal omfatte produktets potensielle miljørisiko ved eventuelle endringer i landbrukspraksis. Oppdraget omfatter både direkte miljøeffekter av bruk av tiltenkt plantevernmidler i den genmodifiserte kulturen under norske forhold, og miljørisiko som følge av endret agronomi og mulige langsiktige endringer i bruksmønster av plantevernmidler.

Mattilsynet

I forbindelse med forberedelse til implementering av EU-forordning 1829/2003 i norsk rett har Miljødirektoratet bedt Mattilsynet om vurderinger av alle genmodifiserte organismer (GMOer) og avledete produkter som inneholder eller består av GMOer som er godkjent under forordning 1829/2003 eller direktiv 2001/18, og som er godkjent for ett eller flere bruksområder som omfattes av genteknologiloven. På den bakgrunnen har Mattilsynet, i brev av 13. februar 2013 (ref. 2012/150202), bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) om å utarbeide endelige vitenskapelige risikovurderinger av 39 GMOer og avledete produkter som inneholder eller består av genmodifiserte organismer, innen Mattilsynets sektoransvar. VKM er bedt om endelige risikovurderinger for de EU-godkjente søknader hvor VKM ikke har avgitt endelig risikovurdering. I tillegg er VKM bedt om å

vurdere hvorvidt det er nødvendig med oppdatering eller annen endring av de endelige risikovurderingene som VKM tidligere har levert.

Oppdraget fra Mattilsynet inkluderer vitenskapelige vurderinger av helserisiko av genmodifiserte organismer til bruk som mat og fôr, samt avledete, prosesserte ikke-spiredyktige næringsmidler og fôrvarer.

VKM er også bedt om å vurdere den landbruksrelaterte miljørisikoen for genmodifiserte planter i de tilfeller søknaden gjelder en art 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 søknader om dyrking skal følgende vurderes: (i) Miljørisiko som følge av andre, nye egenskaper i den genmodifiserte planten enn i dagens sortsmateriale og (ii) Miljørisiko som følge av endret dyrkingspraksis ved dyrking av den genmodifiserte planten (bl.a. plantevernmiddelbruk og jordarbeiding) i forhold til dagens vanlige driftsopplegg. Dette gjelder både direkte og sekundære effekter av endret dyrkingspraksis.

Hvis søknaden omfatter dyrking, er VKM videre bedt om å vurdere risiko knyttet til sameksistens. Dette omfatter potensialet for spredning av transgener 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. Vurderingen skal også inkludere risiko ved bruk av aktuelle virkemidler som har til hensikt å muliggjøre sameksistens. Vurderingen skal omfatte tiltak eller operasjoner som pågår fram til og med høsting. VKM skal bare vurdere sameksistens når søknaden gjelder en art som er relevant for dyrking i Norge.

Vurderinger av søkers overvåkningsplaner er ikke en del av Mattilsynets oppdrag. Vurderinger av mulige plantevernmiddelrester i den genmodifiserte planten som følge av endret sprøytemiddelbruk faller per i dag utenfor VKMs ansvarsområde og er derfor heller ikke vurdert av faggruppen

Risikovurdering

1 Innledning

Den genmodifiserte maislinjen T25 er utviklet for å gi toleranse for herbicider med virkestoffet glufosinat-ammonium. Bakgrunnen for toleransen er introduksjon av *pat*-genet, som er isolert fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*, og som koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT). Enzymet acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, som er virkestoff i fosfinotricin-herbicider av typen Finale og Basta. *Pat*-genet er syntetisk i den forstand at det har endret nukleotidkoden fra bakterien (70 % identisk), for å redusere GC innholdet som søker hevder er lavere i planter, samtidig som en beholder aminosyrekoden.

Herbicider som er basert på glufosinat-ammonium gir en irreversibel hemming av plantenes eget enzym glutaminsyntetase. Enzymet deltar i assimilasjonen av nitrogen og katalyserer omdanning av glutamat og ammonium til aminosyren glutamin. Ved sprøyting med fosfinotricin-herbicider vil inkorporeringen av nitrogen i planten blokkeres, og planten vil normalt dø etter kort tid på grunn av akkumulering av ammonium til et nivå som er toksisk for plantene. Når det introduserte *pat*-genet uttrykkes i de transgene maisplantene vil det aktive stoffet acetyleres og plantenes eget enzym glutaminsyntetase vil ikke inhiberes. Syntesen av glutamat og detoksifiseringen av ammonium går derfor som normalt, og de transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av glufosinat sammenlignet med konkurrerende ugras.

Risikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen T25 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 miljøkravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EU-forordning 1829/2003/EF, utsettingsdirektiv 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, 2011a,b,c) 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 VKM's 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 VKM's faggruppe for genmodifiserte organismer.

2 Molekylær karakterisering

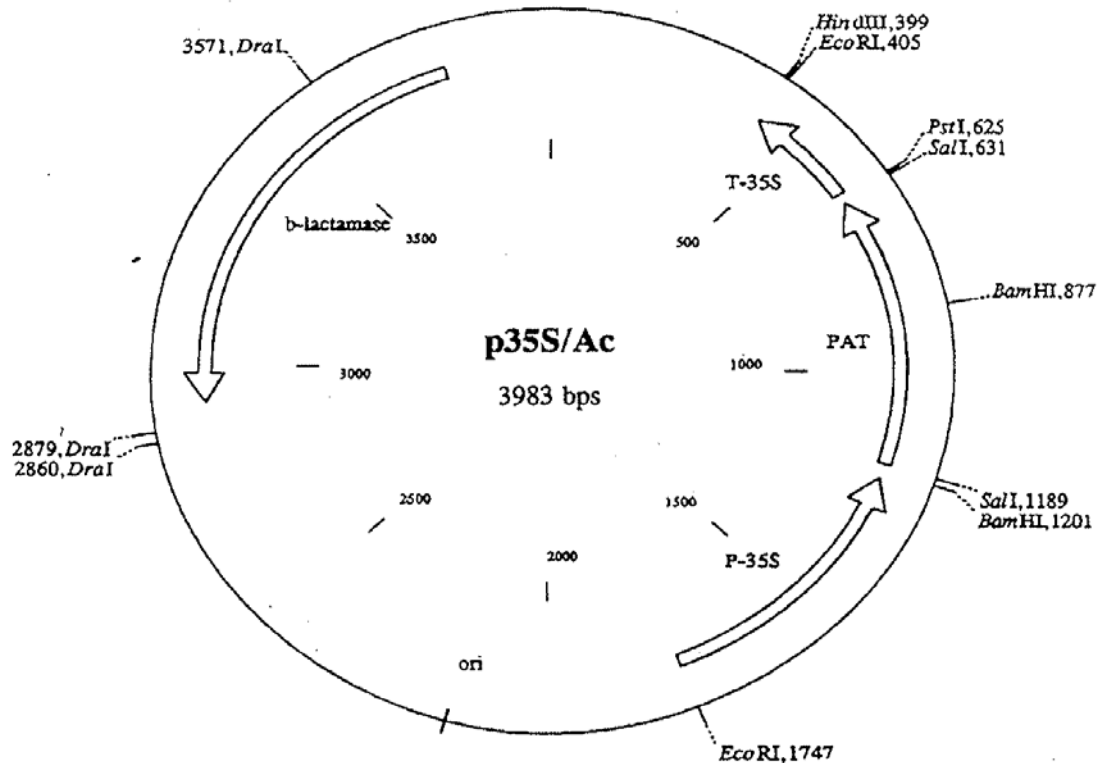
Den genmodifiserte maislinjen T25 fra Bayer CropScience (AgrEvo GmbH), har fått overført et syntetisk *pat*-gen, derivert fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme Tü 494. Transformeringen er gjort ved direkte DNA/plasmid opptak til protoplastkulturer (cellekulturer hvor plantenes cellevegger er fjernet) ved å perforere maiscellers cellemembraner vha polyethylenglycol (PEG) som muliggjør overføring av genetisk materiale.

2.1 Transformasjonsprosess og vektorkonstruksjon

Genetiske elementer fra pUC/Ac brukt til transformering av T25

Genetisk element	Posisjon i vektor	Str (kb)	Funksjon og beskrivelse av klonede genfragmenter
pUC18 vektor	1747-411	2.63 ¹	Vektor som bærer DNAet en ønsker å overføre til maisen ved transformering/ genmodifisering. Vanlig høykopi <i>E. coli</i> plasmid brukt til kloning av DNA.
<i>ori-pUC</i>	2164-2714	0.55	Replikasjonsorigo som dirigerer replikasjon av plasmidet i <i>E. coli</i> som del av oppgitt vektor over.
<i>β-lact.</i>	3782-2922	0.86	Trunkert gen for ampicillin-resistens ved uttrykk av <i>β-lactamase</i> fra <i>E. coli</i> . Genet skal bare uttrykkes i bakterier fra en prokaryot promoter. Fragmentet er en del av tidligere oppgitt vektor over.
<i>P-35S</i>	1746-1217	0.52	Blomkål mosaikk virus (<i>CaMV</i>) promoter fra vektor pDH51.
<i>pat</i>	1188-637	0.53	Et syntetisk <i>pat</i> -gen fra fra <i>Streptomyces viridochromogenes</i>
<i>T-35S</i>	618-412	0.20	3' terminator delen av <i>35S</i> gen

- 1) Det er ikke entydig hvordan denne oppgitte posisjon i vektor 1747 – 399, gir et fragment på 2.63 kb. Ifølge vektorkonstruksjon av plasmidet er totallengden 3983, som tilsier at vektor regnes fra klonet *P35S* til slutten av vektor og til posisjon 399 hvor *T35S* er klonet. Dette tar imidlertid ikke hensyn til hevdet delesjon av deler av vektorens *ampR* resistensgen.



Figur 1. Oppdatert figur av vektor under Vedlegg.

Beskrivelse av gener i plasmidet pUC/Ac (også kalt p35S/Ac avledet fra plasmidet pDH519)

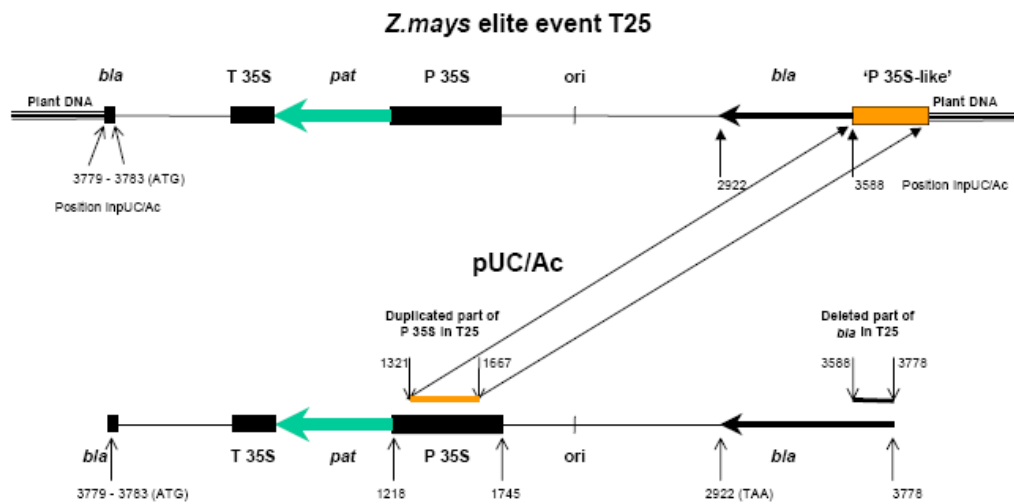
- *P35S* promoteren binder RNA polymerase og initierer transkripsjon, men uttrykkes ikke som RNA eller protein. *T35S* terminerer transkripsjonen, men uttrykkes ikke i endelig mRNA eller protein (Franck *et al.* 1980).
- *ori-pUC* området er replikasjonsgenet for pUC plasmidet, og dets funksjon er at plasmidet kan replikeres i *E. coli*. Replikasjon fra dette origo er begrenset til Enterobakterier og fungerer ikke i eukaryote celler.
- *β-lactamase* - vektoren inneholder et ampicillin resistensgen, som gir resistens mot beta-lactam antibiotika (penicillin, ampicillin, etc). Genene uttrykkes ikke i maisplanten T25 og genproduktet er ikke til stede (Eckes 1994; van Wert 1994). *Pat* genet er opprinnelig isolert fra *Streptomyces viridochromogenes* (Hara *et al.* 1991). Genet har to funksjoner i den genmodifiserte organismen. Det fungerer både som selektiv markør, som gjør at en kan skille transgene celler fra ikke transgene i vevskulturen under regenerering av transgene linjer, og gir de transformerte plantene en økt toleranse mot fosfotricin-herbicerider.

2.2 Karakterisering av geninnsettingen og genkonstruksjonen i T25

Den genmodifiserte maislinjen T25 uttrykker *pat* genet fra *Streptomyces viridochromogenes* stamme

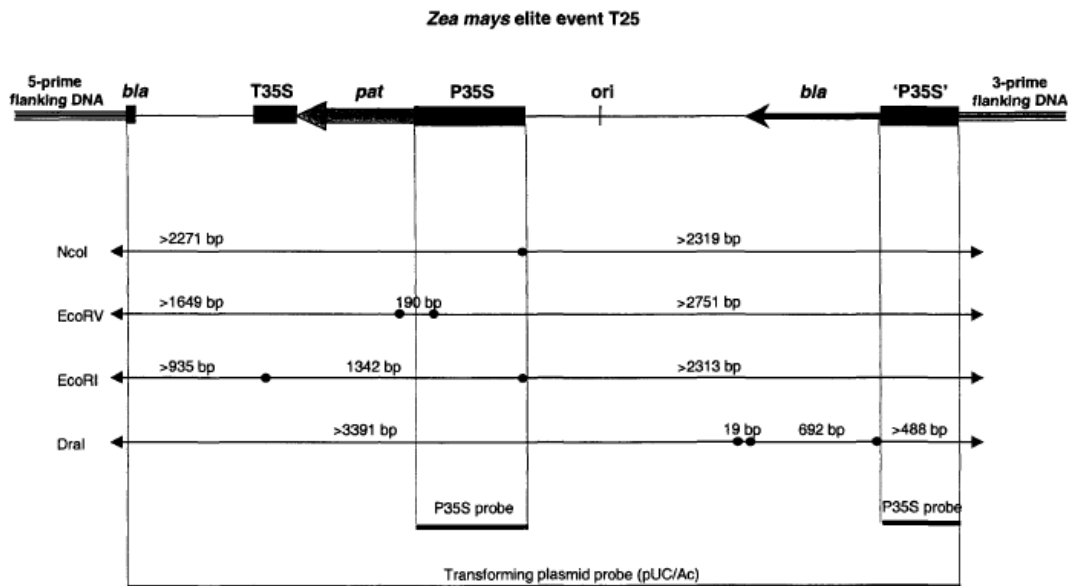
Tü 494 (Wohlleben et al. 1988). Hele plasmidet er sekvensert, godt karakterisert og vist seg å bli stabilt nedarvet. Opprinnelig informasjon og beskrivelse av transgener innsatt i T25 er korrigert i fornyet søknad om markedsføring av T25 for perioden 2007 til 2017. Informasjon fra begge søknadene er inkludert i risikovurderingen.

I fornyet søknad brukes Southern blot og PCR resultater som dokumentasjon fra Bayer CropScience for å beskrive den innsatt genkonstruksjon i GM planten. Southern blot hybridisering indikerer at bare en kopi av *pat*-genet er integrert i maisgenomet. Videre analyser av GM-planten viser at insertet består av P35S-*pat*-T35S ekspresjonskassetten og ved 3'-enden et fragment som består av deler av P35S promoteren lenket til et fragment av *ampR*-genet. Dette *ampR*-fragmentet består av sekvenser fra bp 80 til bp 433 fra P35S, samt sekvenser fra bp 196 til bp 861 fra *ampR*-genet. De første 5 bp av *ampR*-genet, som inneholder ATG transkripsjonstartkodon er satt inn i 5'-enden av insertet (figur 2) PCR-data indiker at pUC/Ac-sekvenser, fra bp 3814 til 3555 har blitt integrert i maisgenomet (figur 2). Sekvenser fra bp 3588 til bp 3778 er i henhold til Bayer CropScience ikke integrert i maisgenomet. I henhold til Bayer CropScience betyr dette at ca. 25 % av 5'-enden til *ampR*-genet mangler i insertet (figur 2). Nyere PCR- og sekvenseringsanalyser, fra 2002, viser at dette insertet har vært til stede i de tidligste T25-plantene. Ny informasjon i ny søknad fra 2007 viser også vha Southern hybridisering at det er to kopier av 35S promoter i T25, og at den andre kopien ligger foran β -lactamase gen. Det hevdes likevel å ikke ha noen funksjonell betydning. Resistensgenet er ufullstendig pga en delesjon og gir ikke noe funksjonelt genprodukt. I respons til kommentarer på notifiseringen hevder søker at det er ett *pat* gen integrert i T25, siden egenskapen nedarves som en mendelsk karakter. Dette er ikke tilstrekkelig dokumentasjon, da det typisk innsettes flere kopier av transgenkonstrukt i såkalte hotspots i genomer etter transformering. Det en kan hevde ut fra denne nedarvingen er at transgenet eller transgenene er integrert i et locus, eller sitter forholdsvis tett sammen på genomet.



Figur 2. Schematisk framstilling av T25 og pUC/Ac and pUC/Ac

I den fornyingssøknaden er det lagt ved dokumentasjon på undersøkelser av fravær av andre pUC/AC-plasmidsekvenser i maisgenomet. Undersøkelsene er utført ved Southern-blot med P35S-sekvenser og hele T-DNAet som prober. P35S-proben, 540 bp, ble syntetisert v.h.a. PCR (se figur 3).



Figur 3. Hybridiseringsstrategi

Figure 2: Hybridization strategy

Genomisk T25 DNA ble kuttet med fire forskjellige restriksjonszymer, NcoI, EcoRV, EcoRI og DraI. Bayer CropScience hevder at de påviste DNA-fragmentene på Southern-blottene er i henhold til sekvensene på insertet. I en publisert karakterisering av insertet i T25 (Collonnier et al. 2005), beskrives rearrangement og duplisering av deler av insertet. Collonnier et al. viser at integreringstedet i T25 er i et område som har høy homologi med Huck retrotransposon familien, som representerer en sannsynlighet for ustabil integrering.

AmpR genet er ikke funksjonelt da 25 % av genet er deletert. Bayer CropScience har lagt ved dokumentasjon fra 1999 som viser at det ikke kan påvises mRNA fra det trunkerte *ampR*-genet med Northern-blot. Analysene som er gjort med mRNA fra blad av hybridene LH82 x T25 tyder på at det trunkerte *ampR*-genet ikke uttrykkes. Bayer har også utført analyser med ¹⁴C-penicillin på bladedekstrakt fra T25 for å påvise β-laktamaseaktivitet. Det ble ikke påvist β-laktamaseaktivitet.

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

I dokumentasjonen fra 2007/2008 viser søker til at nivået av uttrykk av PAT-protein ble målt i et veksthusforsøk i Belgia i 2006. Forsøket bestod av T25 og en nær-isogen kontrollinje, totalt 160 planter. De transgene plantene ble behandlet med glufosinat-ammonium rett før prøvetaking. Det ble tatt prøver av blad, stilk og røtter på to ulike vekststadier (V5-6, modning). Prøver fra 10 planter fra hver gruppe ble analysert vha ELISA.

Det ble detektert PAT-protein i alle undersøkte vev og utviklingsstadier. Dette er som forventet siden genet er under kontroll av den konstitutive promotoren 35S. Nivået av PAT-protein i blad og stilk økte over tid, mens nivået i rotprøvene var tilnærmet konstant. Uttrykket av proteinet var høyest i grønt vev i begge vekststadier. Det ble vist en reduksjon av uttrykk av PAT-protein som andel av totalt løselig protein over tid i prøvene fra blad og stilk. Ifølge søker varierte konsentrasjonen i bladvev fra 3,06-1,58 %, stilk 0,58 -0,28 % og rotvev 0,67 – 0,54 %.

I et veksthusforsøk fra 1999 ble fosfinotricin acetyltransferase-aktiviteten undersøkt i prøver av pollen, blad, røtter og stilk ved måling av acetylering av L-¹⁴C-Glufosinate til ¹⁴C-N-acetyl-glufosinat (HPLC). Prøvene ble tatt av T25-planter under blomstring. I tillegg ble PAT-aktiviteten i frø undersøkt. Den høyeste enzym-aktiviteten ble funnet i stilk og blad, henholdsvis 50,9 mU/mg protein og 41,3 mU/mg protein. Tilsvarende ble det målt 5,3 og 0,682 mU/mg protein i røtter og frø. Det ble ikke påvist PAT-aktivitet i pollen

I 2003 ble det foretatt analyser av sekvensene i 5'- og 3'-enden av insertet. Det ble sekvensert henholdsvis 308 bp og 150 bp. For disse flankerende sekvensene ble det påvist høy grad av sekvenslikhet (90-97 %) til flere maisgener samt til *Huck-2* retrotransposonsekvenser. Bayer har også lagt ved dokumentasjon på åpne leserammer (ORF). Det ble påvist 6 ORF i området rundt forbindelsen mellom insertet og genomisk mais-DNA. Bayer har ikke påvist at disse ORFene har regulatoriske sekvenser som er nødvendige for transkripsjon og translasjon. Bayer hevder at sannsynligheten for ekspresjon fra insertet av andre proteiner enn PAT er usannsynlig. Uten vedlagt dokumentasjon kan vi ikke si noe sikkert her angående *pat*, utover at genet uttrykkes og gir et forholdsvis lavt proteinprodukt. 35S promoteren er ikke så sterkt regulert i enfrøbladete planter som i tofrøbladete, som kan være noe av årsaken til at en observerer et noe beskjedent PAT- produkt i T25. Dette er likevel tilstrekkelig til å gi glufosinat-toleranse. Videre dokumenterer søker at *ampR*- genet ikke kan detekteres på Northern blot, som regnes som sannsynlig pga delesjonen av gensekvensen.

Oppdatert informasjon

På grunn av begrenset informasjon og variable rapporterte nivåer av PAT proteinet oppgitt i Technical dossier, har EFSA tidligere bedt Bayer CropScience om ytterligere informasjon om PAT-nivåer og fordelingen av PAT i de ulike delene av planten gjennom dens livsløp. EFSA ba også om at nivåene skulle bli oppgitt som µg/g tørrvekt. Til dette har Bayer CropScience svart at uttrykket av *pat*-genet er underlagt CaMV 35S, en organ-uspesifikk og kontinuerlig aktiv promoter, og at *pat*-genet derfor vil være mer eller mindre jevnt uttrykt i hele planten til enhver tid. Bayer CropScience påpeker at PAT-proteinet ved flere anledninger har blitt vurdert som trygt i mat for både mennesker og dyr, og henviser til en rekke andre GMO-søknader (EFSA 2005, 2006b, 2007, 2008, 2011d, 2013b).

Bayer CropScience legger til at den omsøkte bruken av mais T25 og glufosinat-ammonium-produkter ikke lenger gjelder slik det står beskrevet i den originale søknaden (dyrkingssøknaden er trukket), og at deres svar på EFSAs forespørsler bør ses i lys av dette (Ref. 2012-08-31 AI6 Response to EFSA).

Søker har gjengitt data for PAT-nivåer i korn fra planter sprøytet med og uten glufosinat, fra søknadene EFSA-GMO-NL-2007-46 og EFSA-GMO-RX-T25, og inkludert benevnning µg/g tørrvekt. Se tabell 1 under Tilleggsinformasjon.

2.4 Nedarving og stabilitet av genkonstruksjonen/innsatt DNA

Søker viser til resultater av Southern analyse og spaltingsdata innen og over generasjoner for å vise genetisk og fenotypisk stabilitet. I tillegg henvises det til resultater fra analyser av proteinuttrykk over flere generasjoner og kontinuerlig overvåking av fenotypisk stabilitet over en rekke generasjoner i forbindelse med kommersiell dyrking av maislinjen. *Pat*-genet i T25 nedarves som ett locus, og uttrykkes stabilt, uavhengig av genotype, generasjon og miljø.

2.5 Konklusjon

Data fra den molekylære karakteriseringen indikerer at det introduserte genet og egenskapen er intakt integrert i maisens genom og at dette er stabilt nedarvet over generasjoner. Adekvate bioinformatikk- og sekvensanalyser er utført av integreringssete i plantens genom, og innsatt og flankerende DNA. Southern blot hybridisering indikerer at bare en kopi av *pat*-genet er integrert i maisgenomet, og oppdaterte databasesøk har ikke avdekket potensielle ny åpne leserammer med sekvenslikhet til kjente toksiner eller allergener. VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer den molekylære karakteriseringen av mais T25 som akseptabel.

3 Komparative analyser

3.1 Valg av komparator og produksjon av materiale for komparative analyser

I henhold til søkers dokumentasjon er det gjennomført feltforsøk med den genmodifiserte maislinjen T25 og umodifisert kontroll over to vekstsesonger i representative områder for kommersiell maisdyrking i Europa (tabell 1, vedlegg). Forsøkene ble utført på tre lokaliteter i Frankrike i 1999 og til sammen 12 lokaliteter i Tyskland, Spania og Frankrike i 2000 (4 lokaliteter i hvert land). Forsøkene var designet som randomiserte blokker, med henholdsvis fire og tre replikasjoner i 1999 og 2000. Testlinjene som ble benyttet i disse forsøkene var T25-eventen krysset inn i fire ulike genetiske bakgrunner av fôrmais (to i 1999 og to i 2000). I samtlige forsøk ble forsøksruter med T25 enten behandlet med glufosinat-ammonium eller med konvensjonelle sprøyteregimer, tilsvarende som for umodifisert kontroll.

Dokumentasjonen fra søker inkluderer også feltforsøk med T25-eventen krysset inn i sortsmateriale av sukkermais. Forsøkene ble gjennomført på 14 ulike steder i USA i 2002 og 2003, og bestod av randomiserte blokkdesign med fire gjentak. Tilsvarende sprøyteregime som i de europeiske feltforsøkene.

Statistiske analyser

For fôrmais ble det fra 15 ulike dyrkingssteder tatt 135 prøver og det ble utført 92 forskjellige komponentanalyser. For sukkermais, ble det fra 14 forskjellige dyrkingssteder tatt 126 prøver, som ble analysert for 64 ulike komponenter. Den første statistiske analysen var en utvidet t-test som ble utført for å beregne sannsynligheten for ekvivalens eller vesentlig likhet, mellom non-GM, og genmodifisert T25. Det ble også utført to ulike ANOVA analyser, en med behandling som faktor, og den andre med behandling og dyrkingssted som faktorer, begge etterfulgt av en t-test. Tema Nord (1998) angir at spredningen i enkeltparametere skal være sammenlignbare for genetisk modifisert plante og umodifisert plante, og at spredningen i enkeltverdier bør ligge innenfor $\pm 20\%$.

3.2 Analyser av ernæringsmessige komponenter

Ulike næringsstoffer

For å vurdere om genmodifisert mais T25 er vesentlig lik den nær-isogene maislinjen er det foretatt analyser av protein, fett, aske, karbohydrater, total fiber (TDF), aminosyrer, fettsyrer, mineraler, vitaminer, vann og antinæringsstoffet fytinsyre. Flertallet av de valgte analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Analyser av ADF (acid detergent fibre) og NDF (neutral detergent fibre) mangler og det ikke analysert for innhold av vitamin C, B6,

folat (T25 sukkermais) og vitamin A (fôrmais). Vitamin C og folat er ansett som viktige vitaminer i sukkermais og står oppført i OECDs konsensusdokument. Det ble påvist statistisk signifikante forskjeller ($p < 0.05$) mellom innholdet av proksimater i fôrmais T25 og umodifisert mais i en til fem av de 15 lokalitetene for noen av komponentene som er analysert i korn, se tabell 3 under vedlegg. Verdiene ligger imidlertid innenfor de publiserte verdiene funnet i litteraturen for andre maissorter.

Fettsyresammensetning i maiskorn

Analysen av fettsyrer er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. Søker opplyser at det ble analysert for 15 fettsyrer i T25 fôrmais og 27 fettsyrer i T25 sukkermais. I de tilfeller der 2/3 av de analyserte verdiene av fettsyrer var under eller ved deteksjonsgrensen, ble fettsyrene ekskludert fra de statistiske analysene. Dette gjelder to fettsyrer i fôrmais og 16 fettsyrer i T25 sukkermais.

Det ble funnet statistisk signifikante forskjeller på innholdet av palmitinsyre og linolensyre ($p < 0.05$) mellom T25 åkermais og komparator dyrket i Europa i 1999 og 2000 (tabell 5, vedlegg). Analysen på det enkelte dyrkingssted viste at disse forskjellene ikke ble observert på et flertall av dyrkingsstedene. For de øvrige analyserte fettsyrene ble det ikke påvist signifikante forskjeller mellom T25 fôrmais og kontroll, og T25 sukkermais og kontroll se tabell 6 (vedlegg). Mengdene av alle påviste fettsyrer ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn

Innholdet av essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert i henhold til OECDs konsensusdokument. Resultatene viser at det ikke er statistisk signifikante forskjeller mellom fôr og sukkermais og tilhørende kontrollinjer i flertallet av lokalitetene, se tabell 7 og tabell 8 (vedlegg). Analyser av frie aminosyrer viser ingen signifikante forskjeller mellom T25 fôr-, sukkermais og tilhørende kontrollinjer. Verdiene for alle aminosyrer ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer

I henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør følgende vitaminer analyseres; B1, B2, B6, vitamin E (α -, β -, γ - og δ - tokoferol samt α -tokotrienol), folat/folinsyre, niacin, vitamin A og vitamin C. Søker har analysert for følgende vitaminer som ikke står i konsensusdokumentet, nemlig β -karoten (prekursor for vitamin A), pantotensyre og kolin i T25 sukkermais. Innholdet av vitamin A var lavere enn påvisningsgrensen i sukkermais. Analyser over alle lokalitetene viser for færre enn 5 lokaliteter signifikante forskjeller mellom T25 sukkermais og kontroll, se tabell 11 (vedlegg). For vitamin B2 ble det funnet forskjeller på 25,2 % mellom testlinjen og kontroll på én av lokalitetene. For de øvrige lokalitetene var forskjellen mindre enn 20 %. For kolin er forskjellene over alle lokaliteter mindre enn 20 %. Når det gjelder fôrmais ble det ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom T25 og kontroll for de målte vitaminene i flertallet av lokalitetene, se tabell 10 (vedlegg).

Mineraler

Med unntak av selen, er OECDs konsensusdokument for mais fulgt med hensyn på mineraler. I tillegg har søker målt innholdet av klorid i fôrmais. Natriuminnholdet var lavere enn påvisningsgrensen. På noen av lokalitetene er det funnet statistisk signifikante forskjeller mellom T25 fôrmais og kontroll for kopper, kalsium, kalium og jern, se tabell 11 (vedlegg). I analysen over alle steder for fôrmais er kopperinnholdet i T25 høyere enn i den isogene linjen, både i glufosinat sprøytet og usprøytet mais og forskjellen er statistisk signifikant ($p < 0.5$). Forskjellen er uten biologisk og ernæringsmessig betydning, og er innenfor de gjennomsnittsverdier man finner i litteraturen for ikke genmodifisert mais.

Det er påvist statistiske forskjeller ($p < 0.05$) mellom T25 sukkermais og kontroll innenfor lokaliteter og mellom lokaliteter for noen av mineralene tabell 4 (vedlegg). Kalsium, jern, mangan og kopper i sukkermais er i analysen over alle steder sammenlagt signifikant forskjellige ($p < 0.05$) (resultat ikke vist). Forskjellene er små, har ikke ernæringsmessig betydning, og nivåene er innenfor

litteraturverdiene. For innhold av fosfat, kalium, magnesium og sink i sukkermais viser de statistiske analysene over alle lokaliteter ingen signifikante forskjeller mellom test- og kontrollinjen.

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer er ikke målt i henhold til OECDs konsensusdokument. Når det gjelder fôrmais er det kun analysert for innhold av fytinsyre, se tabell 13 (vedlegg). Det ble påvist statistisk signifikante forskjeller på tre av 15 lokaliteter. I T25 sukkermais er det målt for fytinsyre og trypsinhemmer, men mengdene av begge var lavere enn påvisningsgrensen.

Sukkerarter og stivelse

I T25 sukkermais og kontroll er det målt for stivelse, fruktose, galaktose, glukose, laktose, maltose, staktyose og sukrose. Mengdene av galaktose, laktose og staktyose var lavere enn påvisningsgrensene. Sukrose og fruktose er påvist på noen av lokalitetene, men ikke på alle. På enkelte lokaliteter ble det for alle de andre parameterne funnet forskjeller som var større enn 20 %. For stivelse og sukkerartene er det beregnet ekvivalens på de fleste lokalitetene, se tabell 13 (vedlegg). Statistisk analyse over alle lokalitetene viser signifikante forskjeller mellom komparator og T25 for fruktose, glukose, maltose og sukrose ($p > 0.05$), se tabell 15 (vedlegg). Gjennomsnittverdiene for stivelse og sukrose er lavere enn litteraturverdiene, mens for glukose, fruktose og maltose er gjennomsnittsverdiene høyere enn litteraturverdiene både for komparator og mais T25 (tabell 15, vedlegg). Søker hevder at dette mest sannsynlig skyldes endringer i sukkerinnhold pga lagring av sukkermais før analyse.

3.3 Agronomiske karakterer

En rekke kommersielle innavlede linjer er tilbakekryssset med T25, og disse er testet i felt med ikke-transgene nær-isogene linjer. Søker opplyser at det er gjennomført feltforsøk med T25 og avkomstlinjer i USA (fra 1992), Frankrike (fra 1992), Tyskland (fra 1994), Italia (fra 1994), Storbritannia (fra 1995) og Ungarn (fra 1999). Formålet med de fleste av forsøkene har vært å teste herbicidtoleranse under ulike sprøyteregimer og ulike konsentrasjoner av GA. I tillegg er det foretatt registreringer av reproduksjonsegenskaper, morfologi, agronomiske karakterer og resistens mot sjukdommer og skadedyr i noen av disse forsøkene.

I fornyingssøknad EFSA/GMO/RX/T45 er det presentert resultater fra fire feltforsøk med maislinjen T25 i sørlige og nordlige deler av Frankrike i 2000. I tillegg viser søker til feltforsøk med T25 på to lokaliteter i Canada i 1995. Dokumentasjonen knyttet til sistnevnte forsøk er imidlertid svært mangelfull og forsøkene er ikke gjennomført i henhold til gjeldende retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter da søknaden ble levert (EFSA 2006a). Forsøksruter der testlinjen T25 er behandlet med tiltenkt herbicid er mellom annet ikke inkludert i forsøket.

De franske forsøkene var designet som fullstendig randomiserte blokker med 4 gjentak. I disse forsøkene ble kontroll-linjer behandlet med et konvensjonelt sprøyteregime, og sammenlignet med T25 behandlet med henholdsvis konvensjonelle herbicider og glufosinat-ammonium. Det ble benyttet 4 ulike ikke-transgene kontroll-linjer, tilpasset de ulike dyrkingsbetingelsene i nordlige og sørlige deler av Frankrike. Totalt ble det foretatt registreringer av 6 ulike kvantitative karakterer, dvs. blomstring (antall dager etter såing), plantehøyde, plantetetthet, avling, kolbelengde og – diameter. I tillegg ble det gjort observasjoner av andre morfologiske karakterer, samt resistens mot sjukdommer og skadedyr. Variansanalysen viser signifikante forskjeller ($p < 0.01$) mellom testlinje og komparator med hensyn på blomstring, og genotype x sted-samspill for denne karakteren. På to av lokalitetene ble det funnet signifikant tidligere blomstring hos kontrollinjene sammenlignet med T25 (opp til 5 dagers forskjell). Det ble også registrert forskjeller i avling mellom testlinje og komparator på to av feltene, men med motsatt fortegn. For de øvrige karakterene ble det ikke funnet signifikante forskjeller mellom T25 og de konvensjonelle kontrollinjene.

Avledete hybridsorter av T25 har inngått i offisiell sortsprøving i en rekke europeiske land. I perioden 1999 til 2002 ble maislinjen testet i verdiprøving i Frankrike, Spania, Tyskland, Nederland og Ungarn. I følge søker ble det ikke påvist forskjeller i agronomiske karakterer mellom hybridsortene av T25 og ikke-transgene kontrollsorter (data ikke tilgjengelig).

Bayer CropScience viser også til at maislinjen har vært kommersielt dyrket i en rekke land siden 1995, og en kan derfor anta at eventuelle uventede pleiotropiske effekter, manifestert gjennom endringer i mottagelighet for sykdommer og skadedyr, morfologiske og utviklingsmessige endringer eller gjennom endret respons på dyrkingsmessige regimer er blitt identifisert gjennom denne perioden. Ikke-tilsiktede endringer kan også først komme til syne ved spesifikke genotype x miljø- samspill.

3.4 Konklusjon

Analysene av hovedkomponenter for T25 fôrmais ble generert fra 15 forskjellige lokaliteter i Europa i 1999 og 2000, mens analysene for T25 sukkermais er fra 14 forskjellige lokaliteter i USA i 2002 og 2003. Feltstudiene viste statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter i T25 fôr og sukkermais sammenliknet med korresponderende kontroller med hensyn på ernæringsmessige egenskaper, men disse forskjellene var ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de analyserte komponentene lå innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen, med unntak av gjennomsnittsverdiene for stivelse og sukrose i sukkermais, som var lavere enn litteraturverdiene, men verdiene for glukose, fruktose og maltose var høyere enn gjennomsnittsverdiene fra litteraturen. Disse forskjellene anses ikke å ha ernæringsmessig betydning. Basert på vurdering av tilgjengelig data, konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik dens konvensjonelle motpart, med unntak av de introduserte egenskapene.

Med unntak av forskjeller i blomstringstidspunkt, viser undersøkelser av agronomiske karakterer ingen signifikante forskjeller mellom T25 og kontrollinjer. Resultatene viser ingen indikasjon på at de innsatte genene i T25 har medført utilsiktede endringer i egenskaper knyttet til vekst og utvikling hos maisplantene.

4 Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet

4.1 Toksisitet

PAT-protein

Kennel (2003) ved Bayer CropScience har utført en akutt-toksisk studie på mus med intravenøs eksponering av PAT-proteinet. Forsøket er utført i henhold til OECDs retningslinjer 420 (limit test) og god laboratoriepraksis (GLP). Seks grupper á 5 hunnmus i hver gruppe ble eksponert for henholdsvis PAT-protein, aprotinin (negativ kontroll) og melittin (positiv kontroll). Mengden var 1 og 10 mg protein/kg kroppsvekt. Alle dyrene ble daglig observert for kliniske tegn på forgiftning over en periode på 15 dager. Ved avslutning av forsøket ble alle dyrene avlivet, og bukhuile, toraks, samt en rekke organer og vev ble undersøkt makroskopisk. Det ble ikke påvist økt mortalitet eller toksiske effekter på dyrene som ble eksponert for PAT og aprotinin. De akutte toksisitetsstudiene utført av Bayer CropScience indikerer ingen toksiske effekter av PAT-proteinet, selv ved høye administrerte doser av renfremstilt protein.

Føringsforsøkene med renfremstilt protein er gjort i henhold til OECDs retningslinjer 407 og i henhold til retningslinjer for god laboratoriepraksis (GLP) (Sveitsiske-retningslinjer og Japans MAFF-

retningslinjer). Studien skiller seg fra OECDs retningslinjer ved at undersøkelsen strekker seg bare over 14 dager. Det er ikke funnet noen testrelaterte endringer hos rottene ved fôring med henholdsvis 7619 og 7965 mg/kg kroppsvekt/dag for hann og hunnrotter (Pfister et al. 1999).

90 dagers subkronisk toksisitetsstudie på rotter

Bayer CropScience hadde ikke utført 90 dagers subkronisk toksisitetsstudie på gnagere ved søketidspunktet, men har i ettertid etterkommet krav fra EFSA, og ferdigstilte i 2012 en rapport om en 90-dagers fôringsstudie med mais T25 utført i 2011 på Wistar rotter i henhold til OECDs retningslinje 408 (OECD 1998) [(E.E.C. Directive 2001/59/EC, Method B.26 (August 2001), Japanese M.A.F.F. notification 12 Nousan N°8147 guideline (November, 2000), and U.S. E.P.A. OPPTS Series 870, Health Effects, Testing Guidelines, N°870.3100 (August, 1998)]. In addition, this study took into account several recommendations described by EFSA in the peer-reviewed publication on animal feeding trials (EFSA 2008)].

Grupper á 10 og 10 hann- og hunn-rotter fikk fôr med innslag av enten 11 % (+22 % non-GM) eller 33 % korn fra mais T25, 33 % ikke-transgen motpart til mais T25 (mais B73), eller 33 % av en kommersiell maissort/referansesort (Hybrid 8223) (Totis 2012_M-423551-01-1; T25 corn 90-day toxicity study in the rat by dietary administration). De ulike diettene var ernæringsmessig balansert i forhold til hverandre. Alt fôret ble kontrollert for blant annet pesticidrester, mykotoksiner, tungmetaller og bakterier. Dyrene ble huset fem dyr/bur/kjønn innad i de ulike behandlingsgruppene. Det ble utført daglige observasjoner av dyrene, detaljerte kliniske undersøkelser, målinger av fôrintak, makroskopiske og mikroskopiske undersøkelser av organene, samt klinisk patologisk undersøkelser av urin og blod fra alle dyr.

Studien viser ingen biologisk relevante observasjoner av målte parametere som overlevelse, kliniske symptomer, synsundersøkelser og fysiske undersøkelser som kroppsvekt, fôrintak, hematologi, klinisk kjemi, urinanalyser, organvekt, makro- og mikroskopisk patologi knyttet til mais T25 i fôret sammenlignet med konvensjonell motpart. Det konkluderes også i rapporten at mais T25 er ernæringsmessig ekvivalent med kommersiell mais og ikke innebærer noen økt helserisiko sammenliknet med kommersiell mais. EFSA påpeker at de ikke har vurdert studien ettersom søkeren har ansett hvert dyr som eksperimentell enhet og ikke burene slik de burde, og at statistiske beregninger derfor ikke er mulig (EFSA 2013a).

4.2 Ernæringsstudier på produksjonsdyr som også vurderer helseeffekter av mais T25

90 dagers subkronisk toksisitetsstudie på rotter

I Bayer CropScience sin rapport om 90-dagers fôringsstudie med mais T25 utført i 2011 på Wistar rotter konkluderes det med at mais T25 er ernæringsmessig ekvivalent med kommersiell mais og ikke innebærer noen økt helserisiko sammenliknet med kommersiell mais.

42 dagers fôringsforsøk på broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 280 dyr, fordelt i to grupper (Leeson 1996). Dyrene ble fôret med henholdsvis mais fra T25 og en umodifisert kommersiell maishybrid. I disse forsøkene utgjorde andelen mais i fôret i tidlig vekstfase (0-18 dager) 56,9 %, i mellomvekstfasen (19-32 dager) 61 % og i avslutningsfasen (33-42 dager) 66,1 %. Fôringsforsøket ble utført i 1996, dvs. før EUs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter ble publisert. Det ble ikke påvist vesentlige endringer ved fôring med maiskorn fra T25 og tradisjonell kontroll. Det var ingen statistisk signifikant forskjell på kroppsvekt, fôrintak, fôrutnyttelse eller dødelighet mellom broilerne som fikk mais T25 og de som fikk kommersiell ikke transgen mais ($p < 0.05$).

EFSA påpeker at de har ikke vurdert denne studien fordi det ble brukt kommersiell ikke-transgen mais som fôr til kontrollgruppen, og ikke en nær-isogen linje av T25, videre er det er brukt få eksperimentelle enheter, og de statistiske analysene er utført med parametriske tester (t-test) (EFSA 2013a).

Oppdatert informasjon

42 dagers fôringsforsøk på broiler

Bayer CropScience har utført nye studier med ROSS 708 broilere. Studiet ble ferdigstilt i 2010, hvor 210 en dag gamle broilere av hvert kjønn ble gitt fôr med 40 % mais fra enten mais T25, ikke-transgen isogen komparator til mais T25 (kontroll), eller en kommersiell referansesort av mais, over en periode på 42 dager (Stafford 2012). Alt fôr var ernæringsmessig balansert for energi, nitrogeninnhold og essensielle aminosyrer, og tilpasset vekstfasene, tidlig vekstfase (0-7 dager), mellomvekstfasen (8-21 dager), og avslutningsfasen (22-42dager). Kyllingene ble fordelt på de tre fôringsgruppene (T25, kontroll og referanse), med 14 bur i hver fôrgruppe (7 bur med hvert kjønn) med 10 kyllinger/bur; tilsammen 140 kyllinger/gruppe (totalt 420 broilere).

Det ble utført daglige observasjoner av kyllingene, vedrørende helse og overlevelse/mortalitet. Kroppsvekt, vektøkning, fôrintak og fôrutnyttelse (fôrintak/vektøkning) ble målt eller beregnet ukentlig i løpet av studien. Videre ble fôrets effekt på slaktevekt og – utbytte (brystmuskel, lår, legg, vinge) og vekt av fettputen på magen sammenlignet mellom gruppene. Det ble også utført klinisk patologiske undersøkelser ved studiens slutt eller ved avlivning. Dyr som døde underveis i studien ble obdusert.

Kroppsvekt ved studiens slutt var 2,51 og 2,78 kg i T25, 2,44 and 2,84 kg i kontrollgruppen, og 2,43 og 2,76 kg i referansegruppen for respektive hunner og hanner. Ratio for fôrutnyttelse (fôrintak/vektøkning) var 1,75 og 1,72 i T25 gruppen, 1,79 og 1,69 i kontrollgruppen og 1,77 og 1,72 i referansegruppen for respektive hunner og hanner. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i kroppsvekt, vektøkning, fôrintak eller fôrutnyttelse mellom behandlingsgruppene når det gjelder hunner og hanner. Studien viser ingen biologisk relevante observasjoner av målte parametere knyttet til mais T25 i fôret. Studien indikerer at mais T25 er ernæringsmessig ekvivalent med kommersiell mais (Stafford 2010).

12 ukers fôringsforsøk på kyr

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 12-ukers fôringsforsøk på Holstein kyr, 60 dyr, fordelt på 4 grupper (Phipps et al. 2005). Kyrne ble fôret med maisensilasje fra T25, umodifisert nær-isogen kontrollinje og to umodifiserte referanselinjer (Fabius og Antares). Hensikten med forsøket var å studere om genmodifiseringen kan påvirke næringsverdi, fôrintak, melkeproduksjon, innhold av ernæringsmessige komponenter (bl.a. mineraler og aminosyrer) i ensilasje, samt å bestemme om transgent DNA og PAT-protein overføres til melk.

Det var ingen signifikant forskjell mellom de ulike fôringsgruppene når det gjelder utbytte av melk, sammensetning av melk eller utbytte av ulike komponenter i melk. Inntak av tørrstoff i gruppen som fikk den genmodifiserte T25 maisen, var ikke signifikant forskjellig fra de kommersielle variantene. Inntaket av tørrstoff for den nær-isogene maisvarianten var signifikant lavere i forhold til T25 ($p=0.013$), men ikke forskjellig fra de kommersielle variantene. Det kunne ikke påvises endringer i ernæringsmessig komponenter, med unntak av at tørrstoffinnholdet i ensilasje fra transgen plante var signifikant lavere enn for de tre umodifiserte maisplantene.

I melk ble det analysert for *pat*-gen, *pat*-tDNA, PAT-protein og endogent *alkoholdehydrogenase*-gen fra mais. Det ble ikke påvist verken *pat*-gen, *pat*-tDNA eller *alkoholdehydrogenase*-gen fra mais over påvisningsgrensen (2,5 ng genomisk DNA/ml melk). PAT-protein ble ikke påvist over påvisningsgrensen på 3 ng PAT protein/ml melk. Det ble konkludert med at det ikke var vesentlige

ernæringsmessige forskjeller mellom transgen mais og de tre umodifiserte maisene, og at verken *pat*-tDNA eller PAT-protein overføres til melk.

4.3 Allergenitet

PAT-protein

Generelt er proteiner som er matallergener varme- og syrestabile, selv om det er en del unntak. De er stabile både overfor mage- og tarmsafter, samt at de ofte er hovedprotein-komponenter i matvaren. Typiske mengder er fra 1 til 80 % av proteininnholdet. Mengden av PAT-proteinet i maiskorn er ca. 0,02 % av totalt protein. Nedbrytning av PAT har blitt testet i simulert mage(SGF)- og tarmsaft(SIF). Nedbrytning av PAT i SGF (pH 2) er hurtig. PAT-proteinet degraderer fullstendig innen 30 sekunder. I SIF (pH 7,5) ble PAT fragmentert i løpet av sekunder. Fragmentene var fullstendig degradert innen 5 minutter. Påvisningen av PAT-protein og fragmenter fra proteinet er utført med Western-blot ved bruk av antistoff mot proteinet. Det antas derfor at proteinet også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal. Det er utført søk for aminosyresekvenshomologi for PAT-proteinet til aminosyresekvenser i databaser som inneholder aminosyresekvenser til kjente allergener og toksiner. Det er ikke funnet homologi til slike proteiner. Det er foretatt undersøkelse av glykosylering av PAT-proteinet. PAT-proteinet er renfremstilt fra blad fra den genmodifiserte bomullsplanten. Analyse av eventuelle bundne suktermolekyler på PAT proteinet ble foretatt med GlycoProfile™III fluorescent detection kit. Det ble ikke påvist suktermolekyler på PAT proteinet.

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

Oppdatert informasjon

På forespørsel fra EFSA har Bayer CropScience utført nye databasesøk i henhold til EFSA's nye retningslinjer (EFSA 2011a), inkludert bruken av oppdaterte databaser for kjente allergener og toksiner. De nye søkene har ikke ført til endring av tidligere konklusjoner. Oversikt over hvilke databaser som ble brukt er gjengitt i tabell 17, vedlegg (Ref. 2012-08-31 AI6 Response to EFSA).

4.4 Konklusjon

Føringsstudier utført på rotter, broiler og melkekyr indikerer ikke helseskadelige effekter av mais T25. Disse studiene indikerer at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais. PAT-proteinet viser ingen likhetstrekk til kjente toksiner eller allergener, og er heller ikke rapporterte å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at PAT-proteinet vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat basert på mais T25 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

5 Miljørisikovurdering

5.1 Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

Mais (*Zea mays* L.) er en ettårig kulturplante fra grasfamilien *Poacea*, som har gjennomgått langvarig og systematisk foredling. Planten krever omfattende kultiveringstiltak, og er generelt ikke i stand til spredning og overlevelse utenfor dyrket mark (Eastham & Sweet 2002). Frøene er ubeskyttede, sitter godt festet til kolben, omsluttet av modifiserte blad. Planten er uten evne til naturlig frøspredning, og eventuell frøspredning er primært knyttet til høsting, transport og prosessering av maislinjen.

Overlevelse og spredning av mais i Europa er begrenset av en kombinasjon av manglende frøkvile, høye temperaturkrav for spiring, lav frosttoleranse, dårlig konkurransevne, og mottagelighet for ulike plantepatogener og herbivorer (van de Wiel et al. 2011). Frøplantene er svært sensitive for lave temperaturer og kan ikke overleve temperaturer under 0 °C i mer enn 6-8 timer etter at vekstpunktet er kommet over bakken (OECD 2003). Observasjoner gjort på kolber, kolbefragmenter og maiskorn som tapes i åkeren under høsting, indikerer at korn kan overleve og overvintre in sørlige deler av Europa, og resultere i spillplanter i påfølgende kultur (e.g. Gruber et al. 2008). Spillplantene har imidlertid vist seg å være mindre vitale og blomstre asynkront med den øvrige maiskulturen (Palaudelmás et al. 2009). Frekvensene for krysspollinering var svært variable blant spillplantene, mest sannsynlig på grunn av tap av hybridstyrke og uniformitet. Totalt sett ble krysspollinering til naboplanter estimert til å være svært lav.

Til tross for omfattende dyrking av mais over mange år, er etablering og overlevelse av mais utenfor dyrking i Europa sjelden (BEETLE Report 2009). Enkeltplanter av mais finnes av og til forvillet på avfallsplasser, vegkanter og annen brakkmark, men arten etablerer ikke populasjoner utenfor jordbruksområder og er ikke en invaderende art i naturlige habitater (Eastham & Sweet 2002; Devos et al. 2009). Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med (OECD 2003).

VKM vurderer det som svært lite sannsynlig at av den tilførte egenskapen vil medføre økt risiko for etablering, spredning og overlevelse av mais T25. Herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten på arealer der det benyttes herbicider med virkestoff glufosinat-ammonium. Glufosinat-ammonium har helseklassifisering for både akutte og kroniske skadevirkninger på pattedyr, inkludert mennesker, og ble trukket fra det norske markedet i 2008. I EU er virkestoffet under utfasing og er kun tillat benyttet fram til 2017.

Undersøkelse av agronomiske og fenotypiske karakterer, som er foretatt av søker i feltforsøk i Nord- og Sør-Amerika og Europa, viser små forskjeller mellom den herbicidtolerante maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn. Det er ingen indikasjoner på at den introduserte egenskapen i T25 og avkomstlinjer 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. I tillegg vil utilsiktet innblanding av genmodifisert materiale i såvare representere en mulig spredningsvei for transgener mellom ulike dyrkingssystemer

5.2.1 Horisontal genoverføring (HGT)

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 (Nielsen et al. 2000; De Vries & Wackernagel 2002, vurdert in EFSA 2004, 2009; Bensasson et al. 2004; 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 T25 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 egenskaper til de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanaal, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selekterbare fordeler til eksponerte mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at *pat*-genet fra T25 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanaalen hos mennesker eller dyr. Det påpekes imidlertid at det er begrensinger i metodikk (Nielsen & Townsend 2004).

5.2.2 Vertikal genoverføring

Tatt i betraktning det tiltenkte bruksområdet for maislinje T25, vil potensialet for vertikal genoverføring være begrenset til utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, handtering og prosessering av maisen.

Omfanget av krysspollinering mellom maislinjen T25 og konvensjonelt foredlete maissorter vil være betinget av omfanget av utilsiktet frøspill under transport og prosessering, og vellykket etablering og blomstring av de transgene maisplantene. Overlevelse og spredning av mais utenfor dyrking i Europa er imidlertid begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for soppsjukdommer og liten toleranse for lave temperaturer. Som for andre maissorter kan genmodifisert mais overleve og spire påfølgende vekstsesong i milde vintre i sørlige områder av Europa. Arten er imidlertid ikke persistent og etablerer ikke ugraspopulasjoner utenfor dyrking.

VKM finner det lite sannsynlig at eventuelle sporadiske enkeltplanter av maishybriden vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt av mais. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig. Observasjoner av spillplanter i felt i Spania etter dyrking av genmodifiserte sorter, viste at spillplantene var lite vitale, sjelden utviklet kolber og produserte lite pollen (Palau-del-más et al. 2009).

Siden maislinjen T25 ikke har endrete egenskaper knyttet til overlevelse og spredning, er VKMs GMO-panel av den oppfatning at sannsynligheten for ikke-tilsiktete miljøeffekter av genspredning fra T25 ikke vil være forskjellig fra konvensjonell mais i Norge. VKM vurderer sannsynligheten for krysspollinering mellom dyrkede maissorter og spillplanter fra T25 til å være svært lav.

5.3 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for mais T25, som ikke inkluderer dyrking, og fravær av målorganismer, vurderer VKMs GMO-panel at potensielle samspill med målorganismer ikke er et tema for denne risikovurderingen.

5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for mais T25, som ikke inkluderer dyrking, vurderer VKMs GMO-panel at potensielle samspill med ikke-målorganismer ikke er et tema for denne risikovurderingen.

5.5 Konklusjon

Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde for maislinjen T25 er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen T25 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

6 Overvåking

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

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

I og med at søker har trukket bruksområdet dyrking, vil potensiell miljøeksponering av den transgene maislinjen T25 være avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning. Miljørisikovurderingen som er presentert av søker i fornyingssøknad EFSA/GMO/RX/T25 og søknad EFSA/GMO/NL/2007/46 identifiserer ingen endret risiko for miljø i forhold til annen mais. Bayer CropScience AG har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohåndtering eller en særskilt plan for overvåking av T25.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for T25 anser VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av maislinjen.

7 Kunnskapshull

Toleranse overfor bredspektrede herbicider vil kunne innebære høyere konsentrasjoner, og endrede blandinger (cocktails) av plantevernmiddelrester i genmodifiserte planter sammenliknet med konvensjonelt dyrkede planter. Toksisiteten til summen av rester i slike cocktails er vanskelig å forutse ut i fra egenskapene til enkeltkomponentene og er forbundet med høy usikkerhet grunnet muligheten for additive og/eller synergistiske interaksjoner mellom de ulike enkeltkomponentene/restene i slike blandinger.

Det er også tenkelig at bruken av plantevernmidler vil kunne gi andre typer nedbrytningsprodukter hos transgene planter i forhold til konvensjonelt dyrkede planter som følge av de introduserte transgene egenskapene. Muligheten for endret metabolisme hos transgene planter bør tas i betraktning ved risikovurdering av plantevernmidler.

Aspekter tilknyttet endringer i plantevernmiddelrester på genmodifiserte planter kontra konvensjonelt dyrkede planter er per i dag ikke en del av ansvarsområdet til VKM.

8 Konklusjoner

Molekylær karakterisering

Data fra den molekylære karakteriseringen indikerer at det introduserte genet og egenskapen er intakt integrert i maisens genom og at dette er stabilt nedarvet over generasjoner. Adekvate bioinformatikk- og sekvensanalyser er utført av integreringssete i plantens genom, og innsatt og flankerende DNA. Southern blot hybridisering indikerer at bare en kopi av *pat*-genet er integrert i maisgenomet, og oppdaterte databasesøk har ikke avdekket potensielle ny åpne leserammer med sekvenslikhet til kjente toksiner eller allergener. VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer den molekylære karakteriseringen av mais T25 som akseptabel.

Komparative analyser

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler for mais. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Analysene av hovedkomponenter for T25 fôrmais ble generert fra 15 forskjellige lokaliteter i Europa i 1999 og 2000, mens analysene for T25 sukkermais er fra 14 forskjellige lokaliteter i USA i 2002 og 2003. Feltstudiene viste statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter både i T25 fôr- og sukkermais sammenliknet med korresponderende, umodifisert kontroll med hensyn på ernæringsmessige egenskaper. Forskjellene var imidlertid ikke konsistente over forsøksfelt og variasjonsområdene for de undersøkte parameterne ligger innenfor det normale variasjonsområdet til konvensjonelle maissorter. Basert på vurdering av tilgjengelig data, konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik dens konvensjonelle motpart, med unntak av de introduserte egenskapene. Med unntak av forskjeller i blomstringstidspunkt, viser undersøkelser av agronomiske karakterer ingen signifikante forskjeller mellom T25 og kontrollinjer. Resultatene viser ingen indikasjon på at de innsatte genene i T25 har medført utilsiktede endringer i egenskaper knyttet til vekst og utvikling hos maisplantene.

Helserisiko

Akutte toksisitetstester av ny-uttrykte proteiner har ikke indikert toksiske effekter. Denne typen studier har begrenset vitenskapelig verdi for risikovurderinger av mat og fôr avledet fra genmodifiserte planter og er derfor ikke vektlagt i denne risikovurderingen. EFSA fraråder å bruke akutte- og repetertdose-toksisitetsstudier i risikovurderinger av genmodifiserte planter fordi disse ikke gir noen tilleggsinformasjon.

Fôringsstudier utført på rotter, broiler og melkekyr har ikke indikert helseskadelige effekter av mais T25. Disse studiene indikerer også at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais. PAT-proteinet viser ingen likhetstrekk til kjente toksiner eller allergener, og er heller ikke rapporterte å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Ut fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at PAT-proteinet vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat basert på mais T25 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Miljørisiko

Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen av maislinjen T25 avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse

med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes av GMO-panelet til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinje T25 antas det ikke å være risiko for utilsiktede effekter på ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais T25 er ernæringsmessig vesentlig lik konvensjonell mais, og at det er lite trolig at PAT proteinet vil introdusere et toksisk eller allergent potensiale i mat basert på mais T25 sammenliknet med konvensjonelle maissorter. Likeledes finner faggruppen at mais T25, ut fra dagens kunnskap og omsøkt bruk, er sammenlignbar med konvensjonell mais når det gjelder mulig miljørisiko i Norge.

Referanser

- BEETLE report (2009). Long term effects of genetically modified (GM) crops on health and the environment (including biodiversity): prioritization of potential risks and delimitation of uncertainties. German Federal Office of Consumer Protection and Food Safety, BLaU-Umweltstudien and Genius GmbH.
http://ec.europa.eu/environment/biotechnology/pdf/beetle_report.pdf
- Bensasson D, Boore JL, Nielsen KM (2004) Genes without frontiers. *Heredity* 92: 483-489
- Collonnier C, Schattner A, Berthier G, Boyer F, Coue-Philippe G, Diolez A, Duplan MN, Fernandez S, Kebdani N (2005) Characterization and event specific-detection by quantitative Real-Time PCR of T25 Maize insert. *J AOAC Int.*, 88: 536-546
- 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
- Devos Y, Demont M, Dillen K, Reheul D, Kaiser M, Sanvido O (2009) The coexistence of genetically modified (GM) and non-GM crops in the European Union. *Agronomy for Sustainable Development* 29:11-30
- Eastham, K, Sweet J (2002) Genetically modified organisms (GMO): The significance of gene flow through pollen transfer. Environmental issue report. No 28. European Environment Agency (EEA), Copenhagen.
http://reports.eea.eu.int/environmental_issue_report_2002_28/en
- EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal* 48: 1-18. http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html
- EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the 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 (Question No EFSA-Q-2004-072). *The EFSA Journal* 181:1-33
- EFSA (2006a) 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
- EFSA (2006b) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-13) for the placing on the market of glufosinate-tolerant genetically modified LLCotton25, for food and feed uses, and import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. *The EFSA Journal* 429:1-19 <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/429.pdf>
- EFSA (2007) Opinion of the Scientific Panel on genetically modified organisms (GMO) on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-18) for the placing on the market of the glufosinate tolerant soybean A2704-12, for food and feed uses, import and processing

under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. The EFSA Journal 524:1-22

EFSA (2008) Scientific opinion on applications (EFSA-GMO-RX-T45_[8.1.a] and EFSA-GMO-RXT45_[8.1.b/20.1.b]) for renewal of the authorisation for continues marketing of existing (1) food and food ingredients produced from oilseed rape T45; and of (2) feed materials, feed additives and food additives produced from oilseed rape T45, all under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 635:1-22
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1417.htm>

EFSA (2009) Use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) and the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). The EFSA Journal 1034: 1-82.
http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo_biohaz_st_ej1108_Consolidate_dARG_en.pdf?ssbinary=true

EFSA (2010a) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. Scientific option from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). The EFSA Journal 8 (11):1-111
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1879.pdf>

EFSA (2011a) Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. The EFSA Journal 9(5): 2150. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2150.pdf>

EFSA (2011b) EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). Scientific Opinion on Guidance on selection of comparators for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. EFSA Journal 9(5):2149

EFSA (2011c) Guidance on the Post-Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. The EFSA Journal 9(8):2316

EFSA (2011d) Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2008-52) for the placing on the market of herbicide tolerant genetically modified soybean A5547-127 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience. The EFSA Journal 2147: 1-28

EFSA (2013a) Scientific opinion on applications EFSA-GMO-RX-T25 and EFSA-GMO-NL-2007-46 for the renewal of authorisation of maize T25,1 and for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize T25,2 both for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Bayer CropScience AG. The EFSA Journal 11(10):3356

EFSA (2013b) Scientific Opinion on an application from Pioneer Hi-Bred International and Dow AgroSciences LLC (EFSA-GMO-NL-2005-23) for placing on the market of genetically modified maize 59122 for food and feed uses, import, processing and cultivation under Regulation (EC) No 1829/2003. The EFSA Journal 11: 3135.
<http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/3135.pdf>

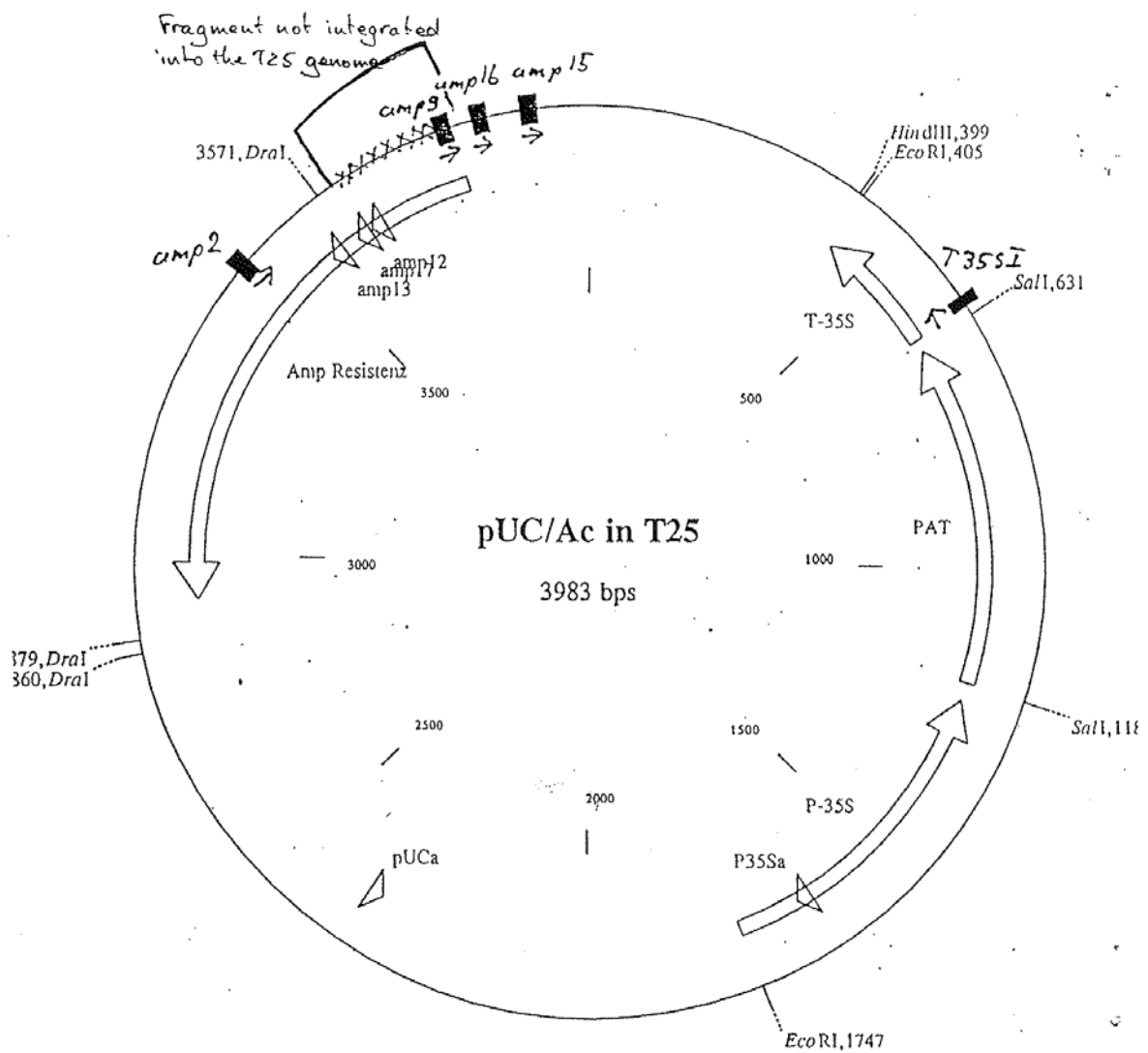
Leeson S (1996) Effect of Glufosinate resistant corn on the growth of male broiler chickens. Bayer CropScience Internal report non-CI. 25 pages, M-140202-01-1

Lid J, Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. ISBN: 82-521-6029-8. 1230s.

- 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 (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
- Phipps RH, Jones AK, Tingey AP, Abeyasekera S (2005) Effect of corn silage from an herbicide-tolerant genetically modified variety on milk production and absence of transgenic DNA in milk. *Journal of dairy science* 88(8):2870-8
- Rizzi A, Raddadi N, Sorlini C, 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
- 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 "Submission for Placing on the Market of Glufosinate Tolerant Corns (*Zea Mays* L.) Transformation Event T25" by the Agrevo Company. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out04_en.html
- SCP (2001) Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the submission for placing on the market of glufosinate tolerant maize (*Zea mays*) transformation event T25 by the AgrEvo Company, now Aventis Crop Science (Notification C/F/95/12/07). *SCP/GMO/299-Final*.
- Stafford (2010) Broiler Chicken Feeding Study with T25 Corn, Bayer CropScience TX99L040 Springborn Smithers Laboratories (CRC) Study No. 13798.4119
- 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.
- Townsend J P, Bøhn T, Nielsen KM (2012) Probability of detecting horizontal gene transfer in bacterial populations. *Front Microbiol* 3, art. 27

- VKM (2005) Report from an Ad Hoc Group appointed by the Norwegian Scientific Panel on Genetically Modified Organisms and Panel on Biological Hazards – An assessment on potentially long-term health effects caused by antibiotic resistance marker genes in genetically modified organisms based on antibiotic usage and resistance patterns in Norway. Opinion 05/302-1-final. Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, Norway. 62 p.
- VKM (2007a). Endelig helserisikovurdering av genmodifiserte mais T25 (C/F/95/12/07). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 9.2.2007. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
http://vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6504&Main_6177=6504:0:31,2365&Content_6504=6187:2032063::0:6271:10:::0:0
- VKM (2007b). Endelig miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (C/F/95/12-07). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 14.11.07. (07/321). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
http://vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6504&Main_6177=6504:0:31,2365&6563=6566:10&Content_6504=6187:1664113::0:6566:65:::0:0
- VKM (2008) Foreløpig helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (EFSA/GMO/NL/2007/46). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 16.10.2008. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
http://vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6504&Main_6177=6504:0:31,2365&Content_6504=6187:2031834::0:6271:10:::0:0
- VKM (2009) Foreløpig helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert maislinje T25 fra Bayer CropScience (EFSA/GMO/RX/T25). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 20.1.2009. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
http://vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6504&Main_6177=6504:0:31,2365&Content_6504=6187:2031722::0:6271:10:::0:0
- VKM (2011) Foreløpig helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais NK603 x T25 (EFSA/GMO/NL/2010/80). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 12.1.2011. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6504&Main_6177=6504:0:31,2365&6563=6566:2&Content_6504=6187:1817034::0:6566:8:::0:0
- Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hikkemann D, Strauch E, Puhler A (1988) Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. Gene 70: 25-73

Vedlegg



Figur 1. Oppdatert figur av vektor.

Tabell 1. Oversikt over feltforsøk for komparative og agronomiske studier

	Year	Country/ Location Nr	Varieties Non GMO/T25	Treat- ment	Design	Repl. Nr	Reference
Field maize composition	1999	France / 3	Cecillia/LLMoldova Torino/LLKingston	A / B / C	RCB	4	Oberdoerfer, 2002a
		France / 4	Cecillia/LLMoldova Anjou 400/ LLAnjou400	A / B / C	RCB	4	Oberdoerfer, 2006b
	2000	Spain / 4	Anjou 400/ LLAnjou400	A / B / C	RCB	4	Oberdoerfer, 2002c
		Germany / 4	Torino/LLKingston	A / B / C	RCB	4	Oberdoerfer, 2006b
	2006	South Dakota / 1 Vitamin B6	TR7245xSG1847 / LLTR7245xSG1847	A / B	Split	8 ¹	Oberdoerfer, 2007
Sweet maize composition	2002	Iowa / 4		A / B / C	RCB	4	
		Wisconsin / 2		A / B / C	RCB	4	
		Illinois / 2		A / B / C	RCB	4	Oberdoerfer, 2006a
		Iowa / 1	1384x3126R / LL1384x3126R	A / B / C	RCB	4	
	2003	Kansas / 1		A / B / C	RCB	4	
		Nebraska / 2		A / B / C	RCB	4	
		Wisconsin / 1		A / B / C	RCB	4	
		Missouri / 1		A / B / C	RCB	4	
Silage maize ²	2005	UK / 1	Chardon/LLChardon +Fabius, Antares	A / C			Phipps <i>et al.</i> , 2005
Agronomi c traits	2000	Northern France / 2	Torino/LLKingston	A / B / C	RCB		Oberdoerfer, 2004b
		Southern France / 2	Anjou 400/ LLAnjou400	A / B / C	RCB		Oberdoerfer, 2006b

Tabell 2. PAT-nivåer i maiskorn fra planter sprøytet med og uten glufosinat, fra søknadene EFSA-GMO-NL-2007-46 og EFSA-GMO-RX-T25.

Study	Location	Tissue	ng PAT/g fresh weight (range)	µg PAT/g dry weight ⁴ (range)
Shillito, 1997 ^{M-} 141425-01-1	USA- Florida	Grain ¹	19,8 (18.8 – 20.8)	0.0225 (0.0214 – 0.0236)
Shillito, 1997 ^{M-} 141425-01-1	USA – Illinois	Grain ¹	< LOQ ³	< LOQ ³
Deschamps, 1996a ^{M-140203-01-1}	Canada- Ridgetown	Grain ¹	27,8 (<LOQ ³ – 52.1)	0.0316 (<LOQ ³ – 0.0592)
Deschamps, 1996a ^{M-140203-01-1}	Canada – Rodney	Grain ¹	31,8 (14.5 – 65.4)	0.0361 (0.0165 – 0.0743)
Deschamps, 1996a ^{M-140203-01-1}	Canada – Breslau	Grain ¹	31 (14.4 – 72)	0.0352 (0.0164 – 0.0818)
Currier and Kowite, 2004 ^{M-} 240194-01-1	France	Grain ²	69.3 (66.3 – 78.4)	0.0787 (0.0753 – 0.0891)
Currier and Kowite, 2004 ^{M-} 240194-01-1	France	Grain ²	130 (128 – 132)	0.1477 (0.1454 – 0.150)

1. Grain from T25 maize not treated with glufosinate-ammonium herbicide.
2. Grain from T25 maize treated with glufosinate ammonium herbicide.
3. Protein content below limit of quantification (LOQ) of the ELISA used, which is 0.625 ng PAT/g fw or 0.710 ng PAT/g dry weight.
4. The conversion from fresh to dry weight was done assuming a 12% moisture level.

Tabell 3. Komponentanalyse, proksimater og fiber, av T25 fôrmais og kontrollmais med og uten Glufosinat-ammonium -behandling.

Table 27. Results of the By Site T-tests for Proximate and Fibre Compounds

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Proximate + Total dietary fibre				
Moisture	-	15	-	15
Fat	1	14	1	14
Protein	1	14	1	14
Total dietary fibre	1	14	1	14
Ash	2	13	2	13
Total Carbohydrates	1	14	1	14
Available Carbohydrates	2	13	5	10

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

A = non-transgenic, control samples,

B = transgenic, not Liberty treated samples,

C = transgenic, Liberty treated samples

Tabell 4. Komponentanalyse, mineraler, av T25 sukkermais og kontrollmais med og uten Glufosinat-ammonium -behandling.

Table 43. Results of the By Site T-tests for Minerals

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Minerals				
Potassium	3	11	2	12
Phosphorus	4	10	2	12
Magnesium	3	11	5	9
Sodium	-	4	-	4
Sodium #	-	8	-	8
Calcium	3	11	1	13
Iron	3	11	3	11
Manganese	3	11	3	11
Copper	-	14	2	12
Zinc	1	13	5	9

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

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

Tabell 5. Komponentanalyse, fettsyrer, av T25 fôrmais og kontrollmais med og uten Glufosinat-ammonium -behandling.

Table 33. Results of the By Site T-tests for Total Fatty Acids

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total fatty acids				
C14:0 Myristic Acid #	-	15	-	15
C16:0 Palmitic Acid	1	14	1	14
C16:1 Palmitoleic Acid	-	12	3	9
C16:1 Palmitoleic Acid #	-	13	3	10
C17:0 Margoric Acid #	-	13	-	14
C18:0 Stearic Acid	3	12	4	11
C18:1 Oleic Acid	3	12	4	11
C18:2 Linoleic Acid	3	12	3	12
C18:3 Linolenic Acid	2	13	4	11
C20:0 Arachidic Acid	1	14	1	14
C20:1 Gadoleic Acid	2	13	1	14
C22:0 Behenic Acid	-	3	-	3
C22:0 Behenic Acid #	-	15	-	15
C24:0 Lignoceric Acid	-	3	-	3
C24:0 Lignoceric Acid #	-	15	-	15

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

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

Tabell 6. Komponentanalyse, fettsyrer, av T25 sukkermais og kontrollmais med og uten glufosinat-ammonium-behandling.**Table 46. Results of the By Site T-tests for Total Fatty Acids**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total fatty acids				
C8:0 Caprylic Acid #	-	14	-	13
C10:0 Capric Acid #	-	14	-	13
C12:0 Lauric Acid #	-	11	-	12
C14:0 Myristic Acid #	-	13	-	12
C15:0 Pentadecanoic Acid #	-	14	-	13
C16:0 Palmitic Acid	2	12	4	10
C16:1 Palmitoleic Acid	2	7	3	6
C16:1 Palmitoleic Acid #	2	9	3	8
C17:0 Heptadecanoic Acid	-	1	-	1
C17:0 Heptadecanoic Acid #	-	14	-	13
C18:0 Stearic Acid	2	12	2	12
C18:1 Oleic Acid	4	10	2	12
C18:2 Linoleic Acid	3	11	4	10
C18:3 Linolenic Acid	3	11	6	8
C20:0 Arachidic Acid	1	13	1	13
C20:1 Eicosenoic Acid	-	14	1	13
C22:0 Behenic Acid	2	11	3	10
C22:1 Erucic Acid #	-	11	-	11
C24:0 Lignoceric Acid	1	13	2	12
C22:6 Docosaheptaenoic Acid	1	5	2	4

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

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

Tabell 7. Komponentanalyse, aminosyrer, av T25 fôrmais og kontrollmais med og uten Glufosinat-ammonium -behandling.

Table 31. Results of the By Site T-tests for Total Amino Acids

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total amino acids				
Total Alanine	3	12	1	14
Total Arginine	1	14	1	14
Total Aspartic Acid + Asparagine	3	12	2	13
Total Cystine	5	10	5	10
Total Glutamic Acid + Glutamine	3	12	1	14
Total Glycine	1	14	2	13
Total Histidine	2	13	2	13
Total Isoleucine	3	12	1	14
Total Leucine	1	14	1	14
Total Lysine	3	12	2	13
Total Methionine	1	14	1	14
Total Phenylalanine	4	11	2	13
Total Proline	4	11	3	12
Total Serine	2	13	2	13
Total Threonine	2	13	3	12
Total Tryptophan	1	14	2	13
Total Tyrosine	1	14	2	13
Total Valine	3	12	1	14

Tabell 8. Komponentanalyse, aminosyrer, av T25 sukkermais og kontrollmais med og uten Glufosinat-ammonium -behandling.

Table 45. Results of the By Site T-tests for Total Amino Acids

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Total amino acids				
Alanine	5	9	1	13
Arginine	1	13	1	13
Aspartic Acid	4	10	2	12
Cystine	3	11	2	12
Glutamic Acid	3	11	2	12
Glycine	3	11	2	12
Histidine	3	11	4	10
Isoleucine	2	12	4	10
Leucine	2	12	6	8
Lysine	3	11	1	13
Methionine	1	13	1	13
Proline	4	10	5	9
Phenylalanine	2	12	5	9
Serine	3	11	2	12
Threonine	2	12	4	10
Tryptophan	2	12	3	11
Tyrosine	1	13	3	11
Valine	3	11	4	10

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

Tabell 9. Komponentanalyse, Vitamin B6 fôrmais**Table 22. Mean and Standard Deviation (SD) for Vitamin B6 in LL Maize T25 and Non-transgenic Maize Grain, p-Value from t-Test and Vitamin B6 Range of Commercial Maize Varieties**

	Non-Transgenic (A)		Transgenic (B)		t-Test A vs B p-value	Reference Range ^a
	Mean	SD	Mean	SD		
Vitamin B6 mg/kg dm	5.53	0.448	5.70	0.523	0.519	4.6 – 9.6

^a Reference range obtained from [OECD, 2002](#)

Tabell 10. Komponentanalyse, vitaminer (fôrmais)**Table 29. Results of the By Site T-tests for Vitamins**

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Vitamins				
Vitamin B1	1	14	3	12
Vitamin B2	3	12	2	13
Niacin	3	12	4	11
Pantothenic acid	4	11	1	14
Folic acid	4	11	-	15
alpha tocopherol	-	14	1	13
beta tocopherol	-	11	-	11
gamma tocopherol	-	14	1	13
delta tocopherol	2	12	2	12
alpha tocotrienol	-	14	1	13
Vitamin E	-	15	2	13

*) Number of sites with significant ($p < 0.05$) and not significant ($p > 0.05$) treatment differences.
 A = non-transgenic, control samples, B = transgenic, not Liberty treated samples, C = transgenic, Liberty treated samples

Tabell 11. Komponentanalyse, vitaminer (sukkermais)

Table 44. Results of the By Site T-tests for Vitamins

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Vitamins				
Vitamin B1	2	12	3	11
Vitamin B2	2	12	4	10
Niacin	3	11	3	11
Pantothenic Acid	4	10	4	10
Choline	1	13	2	12
Beta Carotene	-	4	1	3
Beta Carotene #	-	14	1	13
Cryptoxanthin #	-	13	-	13

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

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

Tabell 12. Komponentanalyse, mineraler, T25 fôrmais.

Table 28. Results of the By Site T-tests for Minerals

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Minerals				
Calcium	3	12	4	11
Phosphorus	-	15	1	14
Potassium	1	14	3	12
Magnesium	-	15	1	14
Iron	1	14	2	13
Manganese	-	15	2	13
Copper	5	10	6	9
Zinc	-	15	1	14
Chloride	1	9	1	9
Chloride #	6	9	6	9

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

A = non-transgenic, control samples, B = transgenic, not Liberty treated samples, C = transgenic, Liberty treated samples

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

Tabell 13. Komponentanalyse, sekundære metabolitter og antinæringsstoffer, T25 fôrmais

Table 30. Results of the By Site T-tests for Phytic Acid

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Anti-nutrient				
Phytic Acid	3	12	3	12

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

Tabell 14. Komponentanalyse, sukkerarter og stivelse

Table 47. Results of the By Site T-tests for Starch and Sugars

Summary t-test procedures *)	A vs. B		A vs. C	
	Significant	Not significant	Significant	Not significant
Sugars and Starch				
Fructose	2	11	4	9
Glucose	3	11	1	13
Sucrose	-	4	2	2
Sucrose #	-	11	2	10
Maltose	3	11	3	11
Starch	1	13	2	12
Fructose	2	11	4	9
Glucose	3	11	1	13

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

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty treated samples

C = transgenic, Liberty treated samples

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

Tabell 15. Komponentanalyse, sukkerarter og stivelse, sukkermais og kontrollmais ± Glufosinat-ammonium-behandling, og referanseverdier.

Table 36. Starch and Sugars in Grains of Glufosinate-Tolerant Sweet Maize T25 and the Non-transgenic Counterpart Compared to Commercial Sweet Maize Varieties (Reference ranges)

Parameter	% dm				A/B _b	A/C _c
	Non-Transgenic (Mean ± SD) (A)	Transgenic Not sprayed (Mean ± SD) (B)	Transgenic Sprayed (Mean ± SD) (C)	Reference range ^a		
Starch	32.07 ± 13.62	31.75 ± 13.19	31.65 ± 14.62	48,6	Yes	Yes
Fructose	5.51 ± 4.45	5.75 ± 5.84	5.70 ± 4.97	0,9 - 2,1	No -	Yes
Galactose	< 0,100	< 0,100	< 0,100	ND	Yes	Yes
Glucose	21.86 ± 12.09	21.13 ± 10.81	21.40 ± 11.07	1,4 - 3,5	Yes	Yes
Sucrose	4.58 ± 2.25	3.45 ± 2.17	2.94 ± 1.41	4,5 - 5,5 ^d	Yes	Yes
Lactose	< 0,100	< 0,100	< 0,100	ND	Yes	Yes
Maltose	4.04 ± 3.05	3.41 ± 2.74	3.54 ± 2.70	1,1	No +	No +
Raffinose	< 0,100	< 0,100	< 0,100	0,1 - 0,8	Yes	Yes
Stachyose	< 0,100	< 0,100	< 0,100	ND	Yes	Yes

ND No data

a Reference ranges from table 3 of appendix A; conversion from mg/100g dm to %dm by $f=0,001$

b Summary of the equivalence evaluation non-transgenic vs. Transgenic not Liberty® treated over-all-sites

c Summary of the equivalence evaluation non-transgenic vs. Transgenic Liberty® treated over-all-sites

d Reference range for standard sweet maize is selected, since transformation event T25 has been bred into a standard sweet maize variety (see section 1.3)

Tabell 16. Resultater fra feltforsøk med T25 og umodifisert kontroll i Frankrike vekstsesongen 2000. Agronomiske karakterer.

Parameter	% dm					
	A (Mean ± SD)		B (Mean ± SD)		C (Mean ± SD)	
time of anthesis (days after sowing)	210.4	± 3.9	212.6	± 3.6	212.5	± 3.1
plant height (cm)	280.9	± 19.1	275.8	± 20.6	281.2	± 18.3
plant count (N of plants /plot)	136.8	± 41.0	135.8	± 36.1	130.9	± 36.2
yield (kg/plot)	17.42	± 3.55	17.44	± 3.77	17.27	± 3.36
length of ears (cm)	18.32	± 0.60	17.76	± 0.99	18.14	± 0.86
diameter of ears (cm)	4.41	± 0.14	4.45	± 0.12	4.45	± 0.13

A = non-transgenic, control samples

B = transgenic, not Liberty® sprayed samples

C = transgenic, Liberty® sprayed samples

Tabell 17. Liste over nye søk med oppdaterte databaser for kjente allergener og toksiner

Flanking sequences (both against DNA and protein databases)			
EST Database	Date	Algorithms	Reference
NCBI Expressed sequence tags (est)	08/08/2012	BLASTn	Verhaeghe, 2012a M-286583-04-1
General Database			
NCBI Non-redundant protein sequences (nr)	08/08/2012	BLASTx	Verhaeghe, 2012a M-286583-04-1
NCBI nucleotide collection (nr/nt)		BLASTn	
ORF analyses <input checked="" type="checkbox"/> insert-plant (a) / <input checked="" type="checkbox"/> insert-insert (b) / <input checked="" type="checkbox"/> whole insert (c)			
Allergen database	Date	Algorithms	Reference
AllergenOnline	18/02/2012	FASTA	Rasclé, 2012 M-283798-03-1
Toxin database			
Bayer toxin database	15/11/2011	FASTA	Rasclé, 2012 M-283798-03-1
Newly expressed protein			
PAT			
Allergen database	Date	Algorithms	Reference
AllergenOnline	05/03/2012	FASTA and SeqMatchAll software	Capt, 2012a M-217013-05-1
General and toxin database			
Uniprot_Swissprot	22/02/2012	FASTA	Capt, 2012b M-266573-04-1
Uniprot_TrEMBL	22/02/2012		
PDB	01/12/2011		
Dad	03/10/2011		
GenPept	03/10/2011		
In-house Bayer Toxin database	15/11/2011		

Footnote: Date in this table refers to the date of the search and/or date of release of the database used for the search.