



**Miljørisikovurdering
av
genmodifisert mais MON 88017
Monsanto Company
(EFSA/GMO/CZ/2008/54)**

1. innspillsrunde

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

7. april 2010

ISBN: 978-82-8082-395-3

VKM Report 2010: 13

BIDRAGSYTERE

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

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

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

Koordinatorer i sekretariatet:

Merethe Aasmo Finne

SAMMENDRAG

Miljøriskovurderingen av den insektresistente og herbicidtolerante maislinjen MON 88017 (EFSA/GMO/CZ/2008/54) fra Monsanto er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM). VKM er bedt av Direktoratet for naturforvaltning (DN) om å vurdere miljørisiko ved en eventuell godkjenning av maislinje MON 88017 for dyrking og frøavl. MON 88017 ble søkt godkjent til bruk som mat og fôr i 2007, og ble i den forbindelse vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer (VKM 2007).

Risikovurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EUs nettside EFSA GMO Extranet. I tillegg er det benyttet informasjon fra uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. MON 88017 er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EØS-området, og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Det presiseres at de deler av den norske konsekvensutredningsforskriften som vedrører bærekraft, samfunnsnytte og etikk er utenfor VKMs mandat, og er derfor ikke vurdert av faggruppen. Videre er kravene i EU-forordning 1829/2003/EF, utsetningsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2, 3 og 3B) og veiledende notat 2002/623/EF, samt EFSAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006) lagt til grunn for vurderingen.

Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformasjonsprosess, vektorkonstruksjon, samt karakterisering, uttrykk og nedarving av genkonstruksjonen. Videre er agronomiske egenskaper, potensialet for ikke tilsiktede effekter på fitness, genoverføring, samt effekter på målorganismer og ikke-målorganismer vurdert.

Den genmodifiserte maislinjen MON 88017 uttrykker Cry3Bb1- og CP4-EPSPS-proteiner, som er resultat av introduksjon av genene *cry3Bb1* og *cp4-epsps* fra jordbakteriene *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis* og *Agrobacterium tumefaciens*. Cry3Bb1-proteinet gir plantene beskyttelse mot angrep fra arter i bileslekten *Diabrotica*. *Cp4-epsps*-genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt ved nærvær av N-fosfonometylglycin (glyfosat). De transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av herbicider med virkestoff glyfosat sammenlignet med konkurrerende ugras.

MON 88017 inneholder ingen markørgener for antibiotikaresistens.

Dyrkingsomfanget av mais i Norge er svært begrenset, og eventuelle økologiske effekter ved introduksjon av glyfosattolerante maissorter vurderes å være ubetydelige. Bruk av glyfosat på maisarealer vil være marginal i forhold til den totale glyfosatbruken i Norge.

Bruk av det virksomme stoffet glyfosat i herbicidtolerant mais vurderes ikke å medføre høyere risiko for miljø enn for allerede godkjente bruksområder.

Stor variasjon i agro-økologiske miljø, og mangel på relevante langvarige storskala feltforsøk gjør at potensielle effekter på biodiversitet av glyfosattolerant mais i Norge er vanskelig å predikere. Glyfosat vil sannsynligvis bekjempe ugraset mer effektivt enn herbicidene som er tilgjengelige til bruk i konvensjonelle sorter. Dette vil med stor sannsynlighet medføre redusert artsdiversitet på jordbruksarealer og indirekte effekter på fauna ved at næringstilgangen blir redusert. På den andre siden vil ugrasbekjempelsen skje på et seinere tidspunkt i vekstsesongen, og ugraset som da får stå lenger kan være en viktig næringsressurs i en periode hvor det ellers er lite levende plantemateriale tilgjengelig i åkeren.

Under norske forhold vil glyfosat i voksende åker være en resistensbryter i et ensidig kornomløp og dermed redusere faren for resistensutvikling hos ugrasarter.

Det har ikke vært rapportert om funn av målorganismene *Diabrotica* spp. i Norge, og det har ikke vært søknader om sertifisering av insekticider mot disse herbivorene.

Publiserte vitenskapelig studier viser ingen skadelige effekter av Cry3Bb1-toksinet på ikke-målartropoder som lever på eller i nærheten av maisplanter. Det vurderes ikke å være risiko for rødlistede arter i Norge. Siden det ikke er godkjente *Bt*-produkter til bruk i mais i Norge, og det ikke er registrert *Diabrotica*-arter som skadegjørere i mais, er problematikken knyttet til resistens i målorganismene ikke relevant i norsk sammenheng.

Det finnes enkeltstudier som viser små, men signifikante effekter av *Bt*-toksin og tiltenkt pesticid på jordlevende organismer og mikrobiell samfunnsstruktur i jord. De fleste studiene konkluderer imidlertid med at disse effektene er små og forbigående sammenlignet med effekter av dyrkingsmessige og miljømessige forhold. Det er kunnskapsmangler med hensyn på effekter av toksinet på vannlevende organismer. Konsentrasjonene av *Bt*-endotoksiner er imidlertid vist å være svært lave i akvatiske systemer og eventuell eksponering på disse organismene vil være marginal i Norge.

Med unntak av insektsresistens og herbicidtoleranse, viser feltforsøk i Europa, USA og Argentina små eller ingen signifikante forskjeller mellom MON 88017 og konvensjonelle linjer med hensyn på agronomiske karakterer. Det vurderes ikke å være økt risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater, eller utvikling av ugraspopulasjoner av mais i dyrkingsmiljø sammenlignet med konvensjonelle sorter.

Det er ingen stedege eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med, 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. En slik spredning vurderes som ubetydelig.

NØKKEWORD

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maislinje MON 88017, EFSA/GMO/CZ/2008/54, herbicidtoleranse, insektsresistens, CP4 EPSPS, Cry3Bb1, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF,

FORKORTELSER OG ORDFORKLARINGER

ALS	Acetolactatsyntase-enzym
AMPA	Aminomethylphosphonic acid, nedbrytningsprodukt fra glyfosat.
ARMG	Antibiotikaresistensmarkørgen
Backcross (BC)	Tilbakekryssing. Kryssing mellom en hybridlinje (avkom fra to genetisk ulike foreldre) og en av foreldrelinjene, alternativt en genetisk ekvivalent organisme. Strategi i planteforedling for å overføre primært kvalitative karakterer, for eksempel sjukdomsresistens, til elitelinjer av både kryssbefruktede og selvpollinerte arter. Gjentatte tilbakekryssinger eliminerer 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>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Codex	FAO/WHO-organ som etablerer globale handelsstandarder for mat.
CP4	<i>Agrobacterium</i> sp. stamme CP4
CP4 EPSP	Glyfosattolerant EPSPS
<i>cp4 epsps</i>	DNA-sekvens fra <i>Agrobacterium</i> sp. stamme CP4, koder for CP4 EPSPS-protein.
Cry	Krystallproteiner fra <i>Bacillus thuringiensis</i> .
Cry3	En klasse av <i>B.t.</i> -krystallproteiner med effekt mot arter i ordenen Coleoptera (biller).
Cry3Bb1	En Cry3-klasse krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i> .
CTP	Kloroplastransittpeptid
DN	Direktoratet for naturforvaltning
DNA	Deoxyribonukleinsyre (DNA)
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPSPS	5-enolpyruvylsukinat-3-fosfat-syntetase
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.
GAT	Glyfosat acetyltransferase-enzym
GLP	Good Laboratory Practices, retningslinjer for godt laboratoriearbeid.
Glyfosat	Bredspektret herbicid
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
Herbicid	Ugrasmiddel
Locus	Spesifikk posisjon på kromosomet der et gen er lokalisert.
MALDITOF	Massespektrometrimetode for å måle molekylvekt til peptider.
MT	Mattilsynet
NDF	Neutral detergent fiber, dvs. fiberfraksjon som inneholder hemicellulose og ADF.
Northern blot	Teknikk for overføring av RNA til en membran for videre studier av overførte RNA-sekvenser.
Nucosulfuron	Smalspektret herbicid, hemmer ALS enzymer
Nær-isogen linje	Linjer eller sorter som er genetisk identiske, med unntak av ett locus eller kromosomsegment.
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
ORF	Open Reading Frame (åpen leseramme)

PCR	Polymerase chain reaction. Polymerase kjedereaksjon. Metode for å syntetisere mange kopier av en DNA-sekvens vha. primere.
Rimsulfuron	Smalspektret herbicid, hemmer ALS enzymer.
RNA	Ribonukleinsyre
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat (SDS)-polyakrylamidelektroforese. Elektroforetisk metode 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-plasmid fra jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmid (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-plasmid som overføres og gjør at resten av vektoren ikke blir satt inn i plantekromosomene.
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USAs 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: melkematning
	R4: deigmatning
	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.
ZM-HRA	ZM står for <i>Zea mays</i> , og HRA er et acetolaktatenzym fra mais. Enzymet er blitt endret ved at to aminosyrer er byttet ut. Enzymet er tolerant for herbicider som hemmer ALS-enzymet.

INNHOLDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE	2
VURDERT AV	2
SAMMENDRAG.....	3
NØKKELOD.....	4
FORKORTELSER OG ORDFORKLARINGER.....	5
INNHOLDSFORTEGNELSE	7
BAKGRUNN	9
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING	9
MILJØRISIKOVURDERING.....	11
1. Innledning.....	11
1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer	11
2. Molekylær karakterisering	12
2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon	12
2.2. Karakterisering av geninnsetningen og genkonstruksjonen.....	12
2.3. Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener og åpne leserammer (ORF)	14
2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA	17
2.5. Delkonklusjon	19
3. Komparative analyser.....	20
3.1. Valg av komparator og forsøksdesign.....	20
3.2. Agronomiske egenskaper	20
3.3. Delkonklusjon	21
4. Maisdyrking i Norge	21
5. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifisering.....	21
6. Potensiale for genoverføring	22
6.1. Horisontal genoverføring	22
6.2. Vertikal genoverføring	23
8. Samspill mellom GMP og målorganismer	25
9. Samspill mellom GMP og ikke-målorganismer	26
9.1. Effekter på ikke-målartropoder	26
9.2. Rødlistede arter	27
9.3. Delkonklusjon	27
9. Effekter på bio-geokjemiske prosesser og samspill med abiotisk miljø	28
9.1. <i>Bt</i> -toksiner	28
9.2. Herbicidtoleranse	31

10. Effekter på agroøkologiske forhold, dyrkingspraksis etc.....	32
10.1. Dyrkingspraksis og herbicidregimer i mais	32
10.2. Direkte effekter av glyfosat på miljø.....	34
10.3. Mulige langsiktige effekter på miljø knyttet til endringer i dyrkingspraksis, bruksmønster av plantevernmidler etc	36
11. Miljøovervåkingsplan.....	41
12. Vurdering av søkers dokumentasjon	42
KONKLUSJON	43
REFERANSER	44
VEDLEGG I	56

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) er bedt av Direktoratet for naturforvaltning om å foreta en vitenskapelig vurdering av miljørisiko ved en eventuell godkjenning av maislinje MON 88017 fra Monsanto Company (EFSA/GMO/CZ/2008/54) for dyrking og frøavl. MON 88017 er søkt omsatt i EU/EØS-området under forordning (EF) Nr 1829/2003 om genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer (artiklene 5, 17, 3(1c) og 15 (1c), og i overensstemmelse med direktiv 2001/18/EF, del C.

Søknaden ble fremmet og ble anbefalt av tsjekkiske myndigheter i april 2008. Dokumentasjonen knyttet til søknaden ble lagt ut på EFSA-nett 12. september 2008, med frist på 90-dager for innspill fra EU- og EØS/EFTA-landene. Monsanto søkte om godkjenning av maislinjen for bruksområdene import, videreforedling, mat og fôr i 2007 (EFSA/GMO/CZ/2005/27), og ble i den forbindelse vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer (VKM 2007). EUs vitenskapskomité (EFSA) leverte sin uttalelse i april 2009 (EFSA 2009a), og maislinjen ble godkjent av EU-kommisjonen 30. oktober 2009 (Kommisjonsbeslutning 2009/814/EC).

Utenfor EU/EØS-området er MON 88017 godkjent i USA, Canada og Japan for alle bruksområder, inkludert dyrking (Agbios 2010). I tillegg er maislinjen godkjent for omsetning som mat og/eller fôr i Australia, Korea, Mexico, Filippinene, Russland, Singapore og Taiwan (Agbios 2010, Monsanto 2008).

OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING

Direktoratet for naturforvaltning har i brev datert 23.4. 2008 (ref. 2008/4367 ART-BI-BRH) gitt Vitenskapskomiteen for mattrygghet i oppdrag å foreta løpende miljørisikovurderinger av genmodifiserte næringsmidler og fôrvarer som faller inn under EUs forordning 1829/2003/EF, og som er relevante i forhold til den norske genteknologiloven. VKM er bedt om å vurdere miljøaspekter ved slike produkter, og på bakgrunn av vurderingene gi innspill til EFSA-nett.

Søknad EFSA/GMO/CZ/2008/54, genmodifisert maislinje MON 88017, ble lagt ut på EFSA-nett 12. september 2008. Faggruppe for genmodifiserte organismer skal, i tråd med oppdragsbrev, utarbeide en vitenskapelig risikovurdering av MON 88017 med hensyn på eventuelle effekter på miljø ved dyrking av maislinjen. Vurderingen av MON 88017 skal utføres i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift 16. desember 2005 nr. 1495 om konsekvensutredning. Videre skal kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser, herunder prinsippene for miljørisikovurdering i vedleggene II, III og IIIB og veiledende notat 2002/623/EF legges til grunn for vurderingen. Prinsippene er nedfelt i EFSA-s retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter ("Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed") (EFSA 2006).

I henhold til oppdragsbrev fra DN skal VKM primært fokusere på miljørisiko i EØS-området, og på miljørisiko som er spesifikke for Norge. Ved risikovurdering av herbicidresistente planter skal VKM vurdere miljørisiko som følge av bruken av herbicidet, basert på de endringer i sprøytemiddelbruk som kan forventes hvis planten tas i bruk. Det skal tas utgangspunkt i den regulering av bruk av herbicidet som gjelder på det tidspunkt søknaden vurderes. Videre heter det at dersom det er sannsynlig at reguleringen av bruken av det aktuelle herbicidet vil bli endret (hvis for eksempel mye tyder på at et herbicid vil bli tillatt eller forbudt i nær framtid) drøftes også hvilke konsekvenser dette vil få mht miljørisiko knyttet til herbicidbruk.

Produktet som ønskes vurdert:

Genmodifisert maislinje MON 88017 fra Monsanto (EFSA/GMO/CZ/2008/54)

Unik kode: MON-88Ø17-3

Status i EU: Søkt godkjent for bruksområdene mat, fôr, import og prosessering under forordningen (EF) Nr. 1829/2003 i 2007 (EFSA/GMO/CZ/2005/27).

Frist for innspill til EFSA-nett 12. desember 2008.

Ønsket svarfrist til DN: 10. desember 2008.

MILJØRISIKOVURDERING

1. Innledning

Miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maislinjen MON 88017 er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside EFSA GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EUs forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser lagt til grunn for vurderingen.

I tråd med VKMs mandat presiseres det at vurderinger av etikk, bærekraft og samfunnsnytte i henhold til kravene i genteknologiloven og dens konsekvensforskrift ikke skal utføres av Faggruppe for genmodifiserte organismer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter ved dyrking og prosessering utenfor EU/EØS-området.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har vedtatt å benytte EFSA's retningslinjer som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSA's dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006).

Det er kun medlemmene i faggruppen som har vurdert den genmodifiserte maisen.

1.1. Beskrivelse av egenskap(er) og virkningsmekanismer

Maislinjen MON 88017 er produsert ved *Agrobacterium*-mediert transformasjon av umodne maisembryo fra den umodifiserte hybrid A x Hi-II. Det rekombinante DNA-fragmentet inneholder to ekspresjonskassetter. Den ene ekspresjonskassetten inneholder et syntetisk *cry3Bb1*-gen fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*, stamme EG4691. Uttrykket av genet kontrolleres av promotoren *P-e35S* fra blomkålmosaikkvirus. Cry3Bb1-proteinet som uttrykkes gir maisplantene resistens mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*, og andre arter i familien bladbiller (*Chrysomelidae*).

Genkonstruksjonen inneholder også et *cp4-epsps*-gen fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens*, stamme CP4. *Cp4-epsps*-genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikat-3-fosfatsyntetasen (CP4 EPSPS), som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. N-fosfonometylglycin (glyfosat) hemmer generelt EPSPS-enzymet og blokkerer derved biosyntesen av aromatiske aminosyrer i planter. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt ved nærvær av glyfosat. De transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av herbicider med virkestoff glyfosat sammenlignet med konkurrerende ugras. Uttrykket av *cp4-epsps*-genet kontrolleres av rispromotorsekvensen *P-ract1* fra et aktingen.

Cp4-epsps-genkassetten inneholder også en DNA-sekvens fra vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*), som fungerer som et N-terminal kloroplasttransittpeptid (TS-CTP2). Peptidet bidrar til å målrette uttrykket av CP4 EPSPS-proteinene til kloroplastene.

MON 88017 inneholder ingen markørgener for antibiotikaresistens.

2. Molekylær karakterisering

2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

I følge dokumentasjonen fra søker er det benyttet *Agrobacterium*-mediert transformering av umodne maisembryo fra den umodifiserte hybrid A x Hi-II. Plasmidet PV-ZMIR39 ble benyttet som transformasjonsvektor. Et rekombinant DNA-fragment på ca 7100 basepar (bp), inneholdende to ekspresjonskassetter, ble satt inn i maisgenomet. Den ene kassetten inneholder risaktin-promoteren P-*Ract1*, I-*Ract1*-intron, et optimalisert kloroplastoverføringspeptid (TS-*CTP2*), *cp4 epsps*-genet og T-*nos*-terminatoren. Den andre kassetten inneholder en 35S-promotor (P-*e35S*), en ikke uttrykt ledersekvens (L-*Cab*) fra hveteklorofyll a/b-bindende protein gen, et I-*Ract1*-intron, et endret *cry3Bb1*-gen (CS-*cry3Bb1*) og et 3'-ende terminatorområde (T-*Hsp17*-sekvens) fra hvete "heat shock" gen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

2.2. Karakterisering av geninnsetningen og genkonstruksjonen

Det er benyttet Southern blot og sekvensering for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av det rekombinante DNA-fragmentet i maisens genom. Gener og genelementer i DNA-fragmentet er beskrevet i figur 1, tabell 1 og 2.

Tabell 1. Beskrivelse av de innsatte genene i MON 88017.

Cp4 epsps- ekspresjonskassett

- | | | |
|----|------------------|---|
| a) | P- <i>Ract1</i> | promoter fra risaktin-gen |
| b) | I- <i>Ract1</i> | intron fra risaktin-gen |
| c) | TS- <i>CTP2</i> | DNA-sekvens som koder for kloroplastoverføringspeptid, fra <i>Arabidopsis thaliana</i> |
| d) | <i>Cp4 epsps</i> | DNA-sekvenser som koder for CP4 EPSPS- protein, fra <i>Agrobacterium</i> stamme CP4 |
| e) | T- <i>nos</i> | 3' DNA-sekvens som avslutter transkripsjonen, kommer fra nopalinsyntase-genet til <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , uttrykkes ikke i planten |

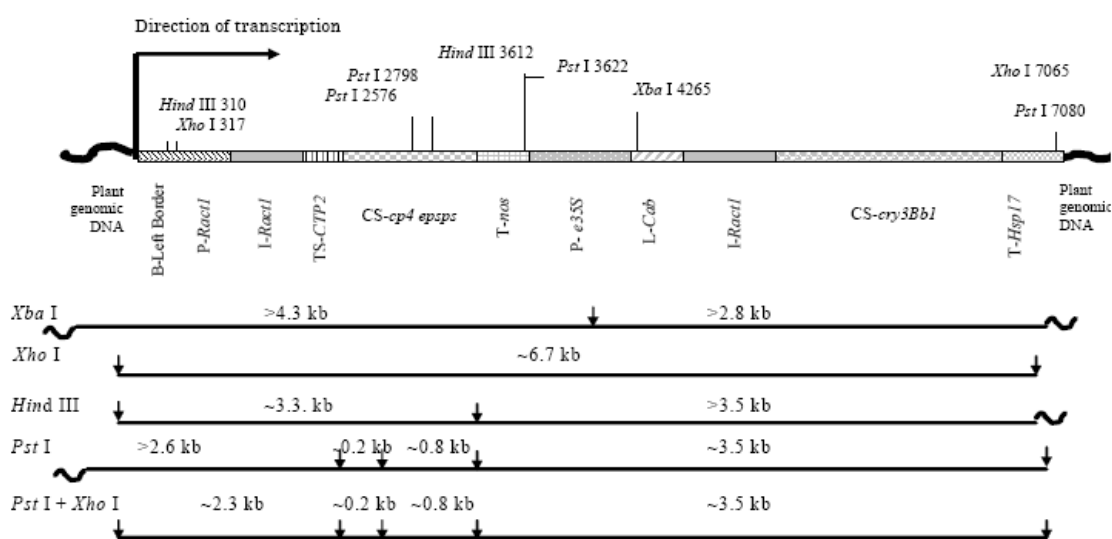
Cry3Bb1-ekspresjonskassett

- | | | |
|----|--------------------|--|
| a) | P- <i>e35S</i> | promoter fra blomkålmosaikkvirus |
| b) | L- <i>Cab</i> | 5' DNA-ledersekvens fra hveteklorofyll a/b-bindende protein-genet, uttrykkes ikke i planten |
| c) | I- <i>Ract1</i> | intron fra risaktin-gen |
| d) | CS- <i>cry3Bb1</i> | gen som koder et syntetisk Cry3Bb1- protein, fra <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i> |
| e) | T- <i>Hsp17</i> | 3' DNA-sekvens som avslutter transkripsjonen, kommer fra hvete "heat shock" gen, uttrykkes ikke i planten. |
-

Tabell 2. Størrelsesfordeling av gener og regulatoriske elementer i MON 88017.

Genetic element	Size (-kb)	Function (Reference)
B-Left Border	0.29	292 bp DNA region from the B-Left Border region remaining after integration (Barker <i>et al.</i> , 1983)
P-Ract1	0.93	Promoter from the rice actin gene (McElroy <i>et al.</i> , 1990)
I-Ract1	0.48	Intron from the rice actin gene (McElroy <i>et al.</i> , 1991)
TS-CTP2	0.23	DNA sequence from <i>Arabidopsis thaliana</i> coding for the N-terminal chloroplast transit peptide (Klee <i>et al.</i> , 1987).
CS-cp4 epsps	1.37	Coding sequence for the <i>Agrobacterium</i> CP4 EPSPS protein (Padgett <i>et al.</i> , 1996).
T-nos	0.25	3' transcript termination sequence of the nopaline synthase (<i>nos</i>) coding sequence from <i>Agrobacterium tumefaciens</i> which terminates transcription and directs polyadenylation (Bevan <i>et al.</i> , 1983)
P-e35S	0.61	Promoter with the duplicated enhancer region (Kay <i>et al.</i> , 1987; Odell <i>et al.</i> , 1985)
L-Cab	0.06	5' untranslated leader of the wheat chlorophyll a/b-binding protein (Lamppa <i>et al.</i> , 1985)
I-Ract1	0.48	Intron from the rice actin gene (McElroy <i>et al.</i> , 1991)
CS-MON 88017 cry3Bb1	1.96	Coding sequence for a synthetic variant of Cry3Bb1 protein (Romano, 2002).
T-Hsp17	0.21	3' transcript termination sequence for wheat heat shock protein 17.3, which ends transcription and directs polyadenylation (McElwain and Spiker, 1989)
B-Right Border	0.03	30 bp DNA region from the B-Right Border region remaining after integration (Depicker <i>et al.</i> , 1982)

B – Border region
 P – Promoter
 L – Leader
 I – Intron
 CS – Coding sequence
 T – Transcript termination sequence
 TS – Targeting sequence



Figur 1. Rekombinant DNA-fragment i maisens genom. Hind, Pst, Xba og Xho er seter for de respektive restriksjonsenzymene.

Molekylærbiologiske analyser viser at det rekombinante DNA-fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i plasmidet PV-ZMIR39. CP4 EPSPS- og Cry3Bb1-proteinet som uttrykkes i MON 88017 er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE og densitometri, MALDITOF massespektrometri samt glykosyleringsanalyse. Proteinene er undersøkt for henholdsvis enzymaktivitet og bioaktivitetsassay. Analysene viser at CP4 EPSPS- og Cry3Bb1- proteinene er strukturelt og funksjonelt like de *E. coli*-produserte proteinene. Det ble ikke påvist glykoliseringssteder på proteinene. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i MON 88017 uttrykker EPSPS-protein som er identisk med proteinet som uttrykkes i jordbakterien *Agrobacterium* stamme CP4. Cry3Bb1-proteinet er imidlertid endret med hensyn på 6 aminosyrer sammenlignet med proteinet som uttrykkes i jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*.

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

Uttrykk av introduserte gener

I dokumentasjon fra søker er det presentert resultater fra målinger av proteinuttrykk i prøver av plantemateriale fra feltforsøk i USA, Argentina, Tyskland og Spania. I de nordamerikanske forsøkene ble MON 88017 (generasjon LH59xLH198BC3F₃) og den umodifisert kontrollinjen H1200902 testet i randomiserte blokkforsøk på tre lokaliteter vekstsesongen 2002. Tilsvarende feltforsøk ble lagt ut på sju lokaliteter i Tyskland og Spania i 2006. I begge forsøkene ble det tatt prøver av pollen, hunnblomster (arr) og korn, samt blad, hel plante og rotvev på ulike tidspunkt gjennom vekstsesongen (vekststadiene V2-V17, R4-R6). I feltforsøkene i USA ble det i tillegg tatt prøver av fôrfraksjonen ved høsting som fôrmais, og stilk/blad etter høsting av kolber.

Nivåene av Cry3Bb1 i forsøkene fra USA varierte mellom 15 og 570 µg/g tørrvekt, avhengig av utviklingsstadium og vevstype. Konsentrasjonen av proteinet i blad, hel plante og rotvev ble redusert utover i vekstsesongen. I gjennomsnitt over forsøkssteder varierte nivået av Cry3Bb1-protein i blad mellom 260 og 570 µg/g tørrvekt (tabell 3), mens tilsvarende tall for hel plante og rotvev var henholdsvis 220-500 µg/g t.v. og 100-370 µg/g t.v. Gjennomsnittlige konsentrasjoner av Cry3Bb1 i pollen, arr, fôr, korn og stilk ble målt til henholdsvis 25 µg/g t.v., 380 µg/g t.v., 95 µg/g t.v., 15 µg/g t.v. og 88 µg/g t.v. (tabell 5).

Tabell 3. Konsentrasjon av Cry3Bb1- og CP4 EPSPS-protein i blad, hel plante og røtter fra MON 88017 på ulike utviklingsstadier. Fra feltforsøk i USA i 2002.

		Cry3Bb1-protein	CP4 EPSPS-protein
Vevstype	Utviklingstrinn¹	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)
Blad	V2-V3	570 (170) 230-820	220 (30) 160-260
	V5	430 (58) 310-510	190 (26) 130-250
	V8	310 (45) 240-380	170 (37) 140-240
	V11-V17	260 (44) 190-340	150 (19) 120-170
	Hel plante	V2-V3	500 (64) 410-590
	V5	380 (170) 150-600	-
	V8	310 (48) 230-380	-
	V11-V17	220 (23) 190-250	-
Røtter	V2-V3	370 (80) 240-510	150 (34) 110-220
	V5	250 (71) 190-420	110 (29) 74-160
	V8	210 (78) 150-410	100 (30) 62-160
	V11-V17	180 (37) 110-230	97 (18) 72-130
		Etter visning	100 (19) 77-140

¹ Utviklingstrinnene er beskrevet i oversikten over ordforklaringer/forkortelser

Tabell 4. Konsentrasjon av Cry3Bb1- og CP4 EPSPS-protein i blad, hel plante og røtter fra MON 88017 på ulike utviklingsstadier. Fra feltforsøk i EU 2006.

		Cry3Bb1-protein	CP4 EPSPS-protein
Vevstype	Utviklingstrinn	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)
Blad	V2-V4	300 (55) 220-400	190 (47) 120-300
	V6-V8	290 (69) 190-420	130 (34) 94-220
	V10-V12	200 (43) 140-270	120 (28) 75-180
	Prev-VT	200 (47) 120-330	140 (33) 81-200
Hel plante	V2-V4	250 (29) 210-290	160 (47) 82-230
	V6-V8	210 (62) 140-330	130 (36) 68-200
	V10-V12	NA	NA
Røtter	V2-V4	160 (53) 110-310	50 (15) 23-71
	V6-V8	140 (52) 67-270	37 (15) 18-69
	V10-V12	75 (13) 44-91	22 (4,2) 16-30
	Pre-VT	75 (18) 54-110	23 (5,4) 14-33
	Etter visning	22 (7,1) 12-38	14 (7,4) 6,0-30

¹ Utviklingstrinnene er beskrevet i oversikten over ordforklaringer/forkortelser.

Tabell 5. Konsentrasjonen av Cry3Bb1- og CP4 EPSPS-protein i prøver av pollen, hunnblomster, forfraksjon, korn og stilk/blad fra MON 88017. Fra feltforsøk i USA i 2002.

	Cry3Bb1-protein	CP4 EPSPS-protein
Vevstype	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)
Pollen¹	25 (4,2) 17-32	390 (85) 210-470
Hunnblomster¹	380 (65) 300-500	- -
Fôr²	95 (19) 75-130	57 (7,6) 42-69
Korn²	15 (3,6) 10-22	5,8 (0,97) 4,1-7,1
Stilk/blad mm etter høsting	88 (13) 71-110	- -

¹ Prøver for analyse av pollen og hunnblomster tatt ved vekststadium R1

² Prøver for analyse av fôr og korn tatt ved vekststadium R6

Konsentrasjonen av CP4 EPSPS-protein varierte mellom 150-220 µg/g t.v. i blad og 70-150 µg/g t.v. i rotvev, avhengig av utviklingsstadium (tabell 3), mens nivået i øvrige vev ble målt til henholdsvis 390 µg/g t.v. i pollen, 57 µg/g t.v. i fôr og 5,8 µg/g t.v. i korn (tabell 5). Nivåene av Cry3Bb1 og CP4 EPSPS er i overensstemmelse med resultatene fra feltforsøk i Argentina vekstsesongen 2003-2004 (data ikke vist).

Resultater fra de europeiske feltforsøkene viser mindre variasjon og lavere konsentrasjoner av Cry3Bb1- og CP4 EPSPS-protein sammenlignet med verdiene som ble målt i feltforsøket i USA. Nivåene av uttrykk av Cry3Bb1 varierte mellom 200 og 300 µg/g t.v. i blad, 22 -160 µg/g t.v. i røtter og 210 - 250 µg/g t.v. i hel plante (tabell 4). I de øvrige vevene som ble analyserte ble gjennomsnittlige konsentrasjoner av proteinet målt til henholdsvis 8,7 µg/g t.v. i korn, 13 µg/g t.v. i pollen og 160 µg/g t.v. i hunnblomster/arr (tabell 6). Gjennomsnittlige konsentrasjoner av CP4 EPSPS-protein varierte mellom 120 og 190 µg/g t.v. i blad, 14-50 µg/g t.v. i røtter og 130-160 µg/g t.v. i prøver av hel plante (tabell 4). I korn og pollen ble nivået av proteinet målt til henholdsvis 3,9 og 280 µg/g t.v. Generelt ble nivåene av Cry3Bb1- og CP4 EPSPS-protein noe redusert utover i vekstsesongen.

Tabell 6. Konsentrasjonen av Cry3Bb1- og CP4 EPSPS-protein i prøver av pollen, hunnblomster, fôrfraksjon, korn og stilk/blad fra MON 88017. Fra feltforsøk i EU 2006.

	Cry3Bb1-protein	CP4 EPSPS-protein
Vevstype	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)	Gjennomsnitt (SD) Variasjonsområde (µg/g t.v.)
Pollen¹	13 (2,7) 10-19	280 (44) 160-330
Hunnblomster¹	160 (28) 110-220	-
Korn²	8,7 (2,3) 5,8-15	3,9 (0,94) 2,4-5,5

¹ Prøver for analyse av pollen og hunnblomster tatt ved pollinering

² Prøver for analyse av korn tatt ved vekststadium R6.

Åpne leserammer

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er sekvensert, 878 bp fra oppstrøms fra 5'-fankeende til DNA-fragmentet og ca. 1000 bp nedstrøms fra 3'-flankeende til DNA-fragmentet. Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme v.h.a. allergen (AD4)-, toksin (TOXIN5)- og peptid (ALLPEPTIDES)-databaser viser ingen biologisk relevante strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at det er lite sannsynlig at det dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske, allergene eller har uheldige helsemessige konsekvenser.

2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

I henhold til dokumentasjonen fra søker er genetisk stabilitet undersøkt ved analyse av genomisk DNA fra 7 ulike generasjoner (figur 2). Resultatene av Southern blot-analysene viser at det rekombinante DNA-innskuddet er stabilt integrert i genomet og nedarves stabilt over generasjoner. Fenotypisk stabilitet er vist ved spaltingsdata fra 7 kryssingsgenerasjoner og 3 generasjoner med selvbestøvning. Segregasjonsanalysene (chi-kvadrat-test) viser, med unntak av generasjonene LH198BC₁F₁ og LH198BC₀F₁xLH59, forventet spaltingstall for insektresistens og glyfosattoleranse (tabell 7). Søker

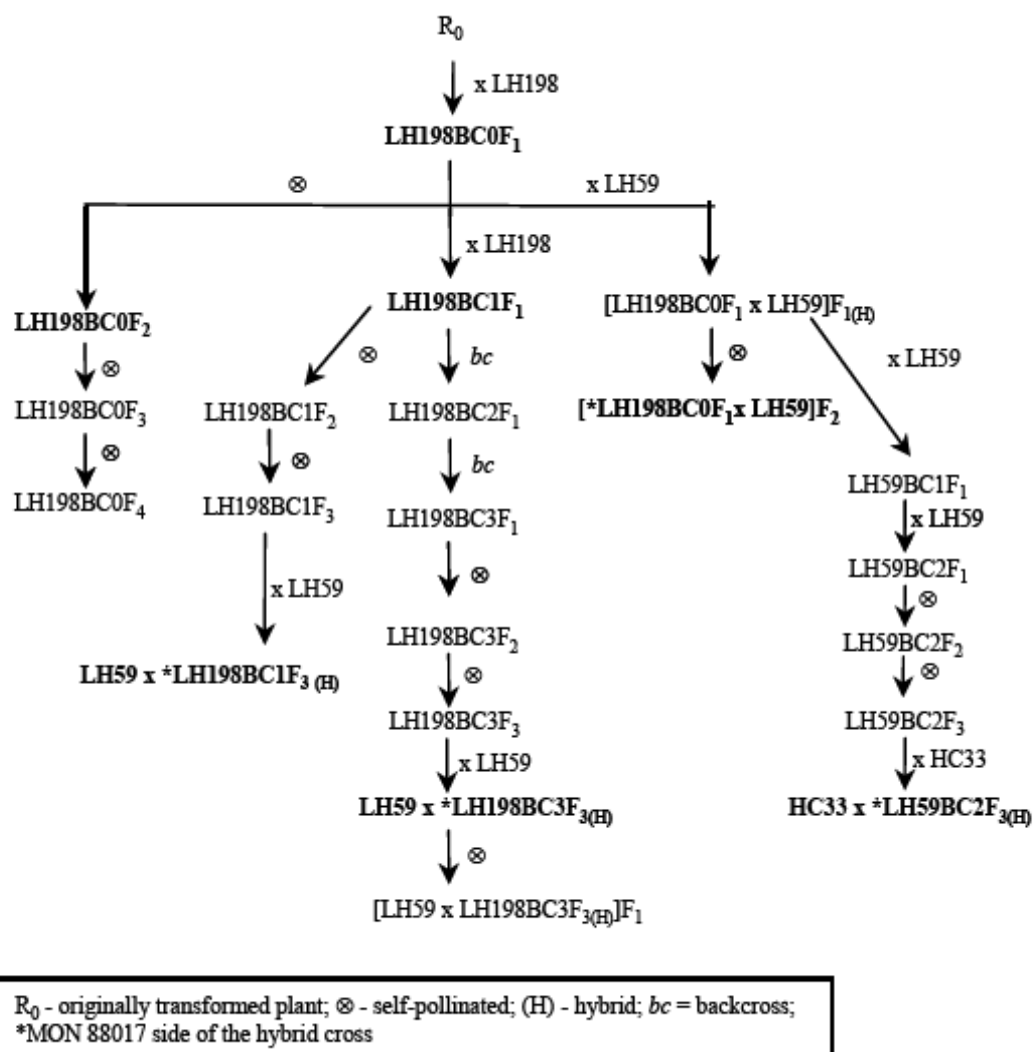
forklarer den signifikante forskjellen ($p \leq 0,01$) mellom forventet og observert verdi for generasjonen LH198BC₀F₁xLH59 med gametseleksjon. Det ble benyttet for høye konsentrasjoner av glyfosat i foregående generasjon som var heterozygot mht det innsatte genet. Dette medførte at kun planter med *cp4 epsps*-genet overlevde og krysset, med det resultat at det ikke ble utspalting i denne generasjonen.

Søker konkluderer med at analysene viser at det rekombinante DNA-fragmentet følger mønsteret for mendelsk nedarving av et enkelt, dominant locus.

Tabell 7. Sammenligninger av forventede og observerte segregasjonsfrekvenser i avkom fra MON 88017.

Generasjon	Observert ¹		Forventet ¹		χ^2
	+	-	+	-	
LH198 BC ₀ F ₁	21	14	17,5	17,5	1,03 ^{ns}
LH198 BC ₀ F ₂	53	12	48,75	16,25	1,15 ^{ns}
LH198 BC ₁ F ₁	21	9	15	15	4,03*
LH198 BC ₂ F ₁	10	15	12,5	12,5	0,64 ^{ns}
LH198 BC ₃ F ₁	8	5	6,5	6,5	0,31 ^{ns}
LH198 BC ₃ F ₂	21	3	18	6	1,39 ^{ns}
LH198 BC ₀ F ₁ x LH59	29	0	14,5	14,5	27,03**
LH59 BC ₁ F ₁	7	5	6	6	0,08 ^{ns}
LH59 BC ₂ F ₁	8	5	6,5	6,5	0,31 ^{ns}
LH59 BC ₂ F ₂	35	13	36	12	0,03 ^{ns}

¹Antall planter som er henholdsvis positive og negative for begge egenskapene
ns: ikke signifikant, *: $p \leq 0,05$, **: $p \leq 0,01$



Figur 2. Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje MON 88017 (Monsanto 2008). Generasjoner som har inngått i analyse av genetisk stabilitet er uthevet.

2.5. Delkonklusjon

Faggruppen vurderer karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON 88017, og de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinet til å være tilfredsstillende. Dette er i overensstemmelse med faggruppens tidligere vurderinger av maislinjen (VKM 2007).

3. Komparative analyser

3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

I henhold til dokumentasjonen fra Monsanto er den transgene maislinjen MON 88017 evaluert i feltforsøk i sentrale dyrkingsområder for mais i USA i 2001 og 2002, samt Argentina vekstsesongen 2003-2004. De nordamerikanske forsøkene var lagt ut på henholdsvis 8 og 10 lokaliteter i statene Illinois og Nebraska i 2001 og Montana, Illinois, Indiana, Iowa og Nebraska i 2002. Søker presenterer også resultater fra et feltforsøk med MON 88017 i Tyskland og Spania vekstsesongen 2006. Forsøket inkluderte 4 felt i hvert land.

I de amerikanske forsøkene ble den transgene hybridene LH59 x MON 88017[+]/LH198BC1F₃ (se figur 2) benyttet som testlinje, mens den umodifiserte linjen LH59 x MON 88017[-]/LH198BC1F₃ var inkludert som isogen kontroll. Forsøkene inkluderte ikke referansesorter.

I forsøkene i Tyskland og Spania ble MON 88017 krysset inn i to ulike genetiske bakgrunner (DKC3945 og DKC5143). DKC3945 og DKC5143 er konvensjonelle maissorter som er tilpasset dyrkingsbetingelsene i de ulike testområdene, og ble benyttet som kontrollinjer i henholdsvis de tyske og spanske feltene. I tillegg inkluderte forsøkene 6 kommersielle, umodifiserte referansesorter. Testlinje, komparator og referansesorter ble plantet i fullstendig randomiserte blokkdesign med 3-4 gjentak på hver lokalitet.

3.2 Agronomiske egenskaper

I henhold til søkers dokumentasjon er det foretatt registreringer av agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst, samt resistens mot sjukdommer og skadedyr. I de europeiske forsøkene har søker utført separate statistiske analyser av feltene i Tyskland og Spania. Resultatene fra variansanalysen over forsøksfelt i Tyskland viser signifikante forskjeller ($p \leq 0,05$) for variablene plantehøyde og avling. Gjennomsnittsverdiene for begge karakterene er imidlertid innenfor variasjonsområdene for referansesortene som var inkludert i forsøket. For de øvrige agronomiske karakterene ble det ikke påvist forskjeller mellom MON 88017 og kontroll. I det spanske forsøket ble det ikke funnet signifikante forskjeller for noen av de observerte karakterene.

Resultatene fra 2001-forsøket i USA viser, med unntak for "frøplantevitalitet" ($p \leq 0,05$), ingen signifikante forskjeller mellom testlinje og komparator ved analyse over forsøksfelt. Tilsvarende ble det i 2002 funnet signifikant høyere vitalitet hos MON 88017 sammenlignet med kontrollen. Søker anfører at registreringene av denne karakteren ble foretatt ved visuell bedømming (skala 0-9) (stor SE), og at den påviste forskjellen er liten og ikke funnet i de europeiske feltforsøkene. Det ble heller ikke observert endringer i andre karakter knyttet til vegetativ vekst, fitness eller reproduksjon, og Monsanto konkluderer med at forskjellen ikke medfører økt selektiv fordel og økt sannsynlighet for spredning av maislinjen.

I tillegg til resultater fra feltforsøkene inneholder dokumentasjonen fra søker resultater av spiretester av MON 88017. Studien ble foretatt i vekstkamre ved ulike temperaturregimer og inkluderte frø av MON 88017, kontroll, samt 6 referansesorter fra to ulike dyrkingssteder (Puerto Rico og Hawaii). Av totalt 70 parvise tester ble det funnet 9 signifikante forskjeller mellom test- og kontrollinje ($p \leq 0,05$). Samtlige forskjeller ble observert i temperaturregimer ≤ 10 °C. Det ble ikke påvist forekomst av "harde frø", og Monsanto konkluderer med at den transgene linjen ikke er forskjellig fra konvensjonelle linjer med hensyn på frøkvile.

3.3. Delkonklusjon

Med unntak av insektresistens og herbicidtoleranse viser feltforsøk i USA, Argentina og USA små eller ingen signifikante forskjeller mellom den transgene linjen MON 88014 og kontrollinjer med hensyn på agronomiske og morfologiske karakterer.

4. Maisdyrking i Norge

Norge er i utkanten av dyrkingsområdet for mais, og dyrkingsomfanget er svært begrenset. Det foreligger ingen offisiell statistikk over det samlede maisarealet i Norge, men i henhold til tall fra SSB ble det i 2008 dyrket 1039 dekar sukkermais til konsum (SSB 2009). Informasjon fra ulike frøfirma viser at det de tre siste årene har vært dyrket fôrmais på om lag 2000-2400 dekar, tilsvarende under 0,1 % av kornarealet (Netland 2010). Det er ikke registrert produksjon av økologisk mais eller maisarealer under omlegging til økologisk drift (<http://www.debio.no>). Maisproduksjonen er hovedsakelig lokalisert sør på Østlandet og på Sør-Vestlandet. De største arealene av mais ligger i fylkene Østfold og Vestfold. Det foregår også noe dyrking av fôrmais i Agder og Rogaland.

Fôrmais er særlig egnet for storfe, og med avlinger på 800-1000 kg tørrstoff pr. dekar gir fôrmais lønnsom produksjon og et energirikt tilskudd som kan erstatte kraftfôr. Når vekstsesongen er lang nok gir mais store avlinger og et godt, smakelig og næringsrikt fôr som kan øke grovfôropptaket. Blir imidlertid vekstsesongen for kort, slik at kolbene ikke får tid til å utvikle seg, kan førehetskonsentrasjonen bli svært lav (0,75 FEm/kg TS; <http://www.grovfornett.no>).

Resultatene fra forsøksdyrking med fôrmais i ulike deler av landet viser store forskjeller i avling og kvalitet både mellom år og steder. Nesheim (2008) rapporterer om tilfredsstillende avlinger av fôrmais i Nord-Trøndelag ved bruk av plastdekke (1100 kg t.s. per dekar). Andre undersøkelser har konkludert med at med dagens sortsmateriale er fôrmaisproduksjon i Trøndelag og Rogaland et risikoforetak, også dersom en tar i bruk intensive dyrkingsmetoder (Bakken *et al.* 2005). I denne undersøkelsen, der en testet et utvalg tidlige sorter på ulike lokaliteter i Sør- og Midt-Norge, ble det konkludert med at selv i de beste jordbruksområdene langs Oslofjorden vil det være risiko for avlingssvikt og maisavlinger av varierende kvalitet.

Interessen for mais som kommersiell fôrvekst har vært økende de siste årene. Mais er en lite arbeidskrevende kultur, og nye og tidligere sorter, samt utvikling av en kostnadseffektiv teknologi for såing under plast, har gjort at flere dyrkere har ønsket å supplere tradisjonelt grovfôr med surfôr av mais. Det forventes imidlertid ikke noen sterk økning i maisdyrkingen i Norge uten at det skjer en ytterligere forbedring av sortsmaterialet og teknologi som gjør at en kan så tidligere. I de viktigste husdyrdistriktene er imidlertid vekstsesongen for kort til at fôrmais vil kunne bli et reelt alternativ til annen fôrproduksjon (Netland 2010). Klimaendringer, som medfører lengre vekstsesong og høyere gjennomsnittstemperaturer, kan imidlertid på sikt utvide dyrkingsarealet for mais i Norge.

5. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

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

Spredning og overlevelse hos mais påvirkes av flere faktorer. Maisfrø mangler frøkvile og stiller store krav til spiretemperatur (OGTR 2008). Videre har maisplantene lav frosttoleranse, liten

konkurranssevne og er mottakelige for angrep av ulike plantepatogener og herbivorer. I store deler av Europa vil ikke frø og frøplanter av mais overleve de lave vintertemperaturene (Gruber *et al.* 2008). I sørlige deler av Europa kan spillfrø som tapes før og under høsting overvintre og spire påfølgende vekstsesong. Dette betinges imidlertid av tørre og varme værforhold etter høsting (Devos *et al.* 2009). I en undersøkelse av forekomsten av transgene spillplanter i konvensjonelle maisfelt i Spania ble det funnet store variasjoner i tetthet av spillplanter, fra <30 til over 8000 spillplanter pr. ha (tilsvarende om lag 10 % av ordinær plantetetthet) (Melé *et al.* 2007; Palaudelmás *et al.* 2009). Planter som når blomstringsstadiet kan lokalt krysspollinere naboplanter, men Palaudelmás *et al.* (2009) konkluderer med at de i liten grad bidrar til utilsiktet innblanding av i avlingen. Tap av heterosis (hybridstyrke) gjør at spillplanter av mais er lite vitale og produserer få kolber, ofte uten frø.

Høy grad av domestisering gjør at mais ikke er persistent og i stand til å overleve som ugras/forvillede populasjoner utenfor dyrkingsområder. Til tross for omfattende dyrking av mais over mange år i Europa, er det ikke påvist noen risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder (COGEM 2008; Devos *et al.* 2009). Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med (OECD 2003).

Herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten på arealer der det benyttes herbicider med virkestoff glyfosat. Tilsvarende vil resistens mot visse skadegjørere i billeslekten *Diabrotica* representere en potensiell fordel der målorganismene er tilstede under dyrking. Overlevelse og spredning av mais til andre habitater i Europa er imidlertid hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottakelighet for sykdom og liten toleranse for lave temperaturer. Undersøkelse av fenotypiske karakterer som er foretatt av søker i feltforsøk i Tyskland, Spania og USA viser ingen forskjeller mellom den insektresistente og herbicidtolerante maishybriden og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene. Det er ingen indikasjoner på at de introduserte egenskapene i MON 88017 og avkomstlinjer vil medføre økt fitness og økt evne til overvintring eller etablering av ugraspopulasjoner utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

6. Potensiale for genoverføring

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

Siden mais ikke har viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, vil vertikal genoverføring være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter. I tillegg vil utilsiktet innblanding av genmodifisert materiale i såvare representere en mulig spredningsvei for transgener mellom ulike dyrkingssystemer. Risiko for pollenspredning fra spillplanter vil være helt marginal under norske dyrkingsbetingelser. Alle varieteter av mais som produseres i Europa er innbyrdes fertile.

6.1. Horisontal genoverføring

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

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 MON 88017 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere ved detekterbare frekvenser i laboratoriestudier. Det er gjort forsøk som ser på stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen hvor mus er oralt tilført M13 DNA. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter fôring. Svært små mengder av M13 DNA (<0.1 %) kunne spores i blodbanene i en periode på maksimum 24 timer, mens M13 DNA ble funnet i opptil 24 timer i lever og milt (Schubbert *et al.* 1994). Ved oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood *et al.* 2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist GM DNA i feces. Nielsen *et al.* (2000) og De Vries & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det påvist svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier.

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. De innsatte genene i planten har sin opprinnelse fra jordbakterier og sekvenshomologi vil derfor være stor i forhold til disse. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og andre naturlig forekommende bakterier er usikkert, men siden de fleste transgenene inneholder rekombinerte DNA-sekvenser fra jordbakterier kan dette ikke utelukkes (Bensasson *et al.* 2004)

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra MON 88017 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr. Ut fra tilgjengelig kunnskap og begrensinger i metodikk (Nielsen & Townsend 2004) kan det ikke utelukkes at horisontal genoverføring vil skje.

6.2. Vertikal genoverføring

Mais er primært en fremmedbefruktende art med vindspredning av pollenet. Bier og humler samler pollen fra mais, men hunnblomstene mangler nektar og pollinering via insekter ansees for lite sannsynlig (Tolstrup *et al.* 2003; Malone & Burgess 2009). Mais er normalt protandrisk, dvs. at pollenet utvikles og spres før hunnblomstene åpner seg. Innen samme plante kan en imidlertid ha en viss overlapping av perioden for frigjøring av pollen og modning av arret, noe som gir mulighet for sjølbefruktning. Under normale forhold er frekvensen av sjølpollinering under 5 prosent (Eastham & Sweet 2002).

Mais frigjør store mengder pollen, tilsvarende 14-50 millioner pollenkorner pr. plante (Treu & Emberlin 2000), og sammenlignet med andre vindpollinerte arter er pollenkornerne til mais relativt store (diameter 90-100 µm) og tunge (0,25 µg) (ref. Emberlin *et al.* 1999). Pollenspredningen foregår normalt over 5-8 dager, med et variasjonsområde på 2-14 dager. Pollenets levedyktighet varierer imidlertid sterkt med miljøforholdene. Normalt er pollenet spiredyktig i om lag 24 timer, men ved lave temperaturer og høy relativ luftfuktighet er det registrert levedyktig pollen opp til 9 dager etter frigjøring (Emberlin *et al.* 1999). Under norske forhold kan en derfor forvente at maispollen gjennomsnittlig har lengre levetid enn det som ligger til grunn for de fleste studiene som er gjort av utkryssing i mais (VKM 2006).

Det finnes en omfattende litteratur på pollenmigrering og utkryssing i mais, både mellom konvensjonelle sorter, og mellom transgene og konvensjonelle sorter. Betydelige metodiske forskjeller mellom studiene og påvirkning av ulike miljøfaktorer gjør imidlertid sammenligning av forskningsresultater vanskelig. I tillegg til direkte målinger av pollenkonsentrasjon i ulike avstander fra pollenkilden, er det benyttet ulike kvalitative og kvantitative metoder til å estimere faktisk

utkryssing (fenotypiske markører, proteinanalyse, molekylære markører, kvantitativ DNA-analyse) (Devos *et al.* 2005). På bakgrunn av empiriske data har det de seinere årene vært utviklet matematiske modeller for simulering av potensialet for utkryssing under ulike betingelser.

Omfanget av utkryssing mellom sorter vil avhenge av en rekke biologisk og fysiske parametere (Hüsken *et al.* 2007; Sanvido *et al.* 2008). Dette gjelder både avstand mellom donor- og mottakerpopulasjonene og relativ størrelse, utforming og orientering av dyrkingsfeltene. Størrelsen på henholdsvis donor- og mottakerfeltet vil ha betydning for mengde konkurrerende pollen og dermed faktisk utkryssing (Ingram 2000; Devos *et al.* 2005). Tilsvarende vil en buffersone med samme landbruksvekst redusere innkryssingsratene effektivt. Dette både på grunn av produksjon av konkurrerende pollen og ved å være en fysisk hindring for vindspredt pollen mellom feltene. Graden av utkryssing vil også avhenge av hvordan resipientfeltet er utformet. Forsøk har vist at avlange og grunne dyrkingsfelt gir betydelig høyere utkryssingsfrekvenser sammenlignet med smale og dype felt med samme areal.

Videre påvirkes utkryssingsfrekvensene av pollenets vitalitet og levedyktighet, størrelsen på reproduksjonsapparatet (pollenproduksjon og utvikling av hunnblomst), synkronitet mellom pollendonor og pollenmottaker, topografiske forhold, vegetasjon, samt klimatiske forhold som temperatur, vindstyrke, vindretning og nedbør. Resultater fra EU-prosjektet SIGMEA identifiserer dyrkingsavstand, synkronitet i blomstring og dominerende vindretning som de viktigste faktorene som påvirker krysspollinering i mais (Hüsken *et al.* 2007; SIGMEA 2009). Ved vurdering av graden av utkryssing må en i tillegg ta i betraktning tiltenkt bruksområde for planten. Når det gjelder fôrmais høstes normalt hele planten og vegetativt vev som ikke påvirkes av krysspollineringen, vil utgjøre en stor del av avlingen (avhengig av sort og modningsnivå).

Som hos andre vindbestøvede arter vil pollenspredningen hos mais følge en leptokurtisk fordeling. På grunn av pollenets egenskaper/størrelse vil det aller meste av pollenet avsettes i relativ kort avstand fra pollenkilden og ha en kort 'flight range' (Jarosz *et al.* 2005). Vertikale vinder/luftstrømmer eller vindkast under pollenslipp kan imidlertid bringe pollenet opp i høyere luftlag og resultere i at maispollenet transporteres over betydelige avstander. Konsentrasjonen av spiredyktig pollen reduseres med høyde og avstand fra pollenkilden (Aylor *et al.* 2006; Jarosz *et al.* 2005). Det er registrert pollinering mellom maissorter opp til 800 meter, men de fleste undersøkelser av spredningsmønsteret hos denne arten viser at det aller meste av pollenet avsettes innen 50 m fra donorplantene (Halsey *et al.* 2005; Brookes *et al.* 2004; Devos *et al.* 2005; van de Wiel *et al.* 2006, Hüsken *et al.* 2007; Sanvido *et al.* 2008). Devos *et al.* (2005) har gjennomgått en rekke forsøksresultater fra ulike studier av genspredning i mais. I undersøkelsene er det benyttet ulike metodikk for å estimere faktisk utkryssing i felt. I tillegg er det inkludert to matematiske modeller som simulerer effekter av dyrkingsavstand på utkryssing (MAPOD, SCIMAC). Oversikten viser at ved isolasjonsavstander på 300 m ligger utkryssingsfrekvensene på mellom 0 og 0,5 %. I de tilfeller der avstanden mellom donor- og mottagerplanter var henholdsvis 200 og 100 meter ble frekvensene målt til henholdsvis 0,3 -1,2 %, og 0-1 %.

I en seinere studie har Sanvido *et al.* (2008) vurdert en rekke undersøkelser av utkryssing i mais, og foreslått relevante kriterier for evaluering av slike studier med hensyn på definere vitenskapelig baserte isolasjonsavstander. Kriteriene for evaluering omfatter både biologiske og fysiske parametere, samt relevante dyrkingsbetingelser. Med utgangspunkt i EUs gjeldende terskelverdi for utilsiktet og teknisk uunngåelig innblanding på 0,9 % i mat og fôr, har gruppen foreslått isolasjonsavstander på 20 og 50 m for henholdsvis fôr- og sukkermais. I nasjonale sameksistensregelverk i EU varierer kravene til isolasjonsavstander mellom 25 - 600 m og 50-600 m til henholdsvis konvensjonell og økologisk mais (EC 2009).

I utkast til norsk regelverk for sameksistens er det foreslått et krav om minimum 200 meter avstandsisolering mellom dyrkingsareal med henholdsvis transgen og konvensjonell/økologisk mais. Faggruppe for genmodifiserte organismer har tidligere uttalt at foreslått dyrkingsavstand på 200 meter gir en tilstrekkelig sikkerhetsmargin, og anser at det er svært liten sannsynlighet for at den prosentvise

innblandingen av transgener vil overstige 1 % med dette tiltaket (VKM 2006). Generelt anser faggruppen at det under slike forutsetninger er mer sannsynlig at den prosentvise innblandingen vil være under 0,3 % enn i intervallet 0,3 til 1,0 %. Det understrekes imidlertid at dette avhenger av forhold som dyrkingsfeltenes relative størrelse og utforming, samt eventuelle bufferzoner.

Feltforsøk viser ingen indikasjoner på at karakterer knyttet til overlevelse, reproduksjon og spredning er endret hos MON 88017 i forhold til ikke-transgene linjer. Pollenproduksjon og pollenets levedyktighet forventes ikke å påvirkes av genmodifiseringen. Det er derfor ikke sannsynlig at utkryssingsfrekvensene til andre sorter vil være forskjellig fra konvensjonelle sorter.

8. Samspill mellom GMP og målorganismer

Maislinjen MON 88017 er transformert med genet *cry3Bb1* fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Cry3Bb1-proteinet gir plantene resistens mot angrep fra larver i billeslekten *Diabrotica*, eksempelvis *D. virgifera virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm').

Diabrotica virgifera virgifera ('Western corn rootworm') er det eneste målinsektet for MON 88017 som er påvist i Europa (Crop Protection Compendium 2007). Arten er en betydelig skadegjører i mais på det amerikanske kontinent, men ble først påvist i Europa (Serbia) i 1992. Den siste 15-årsperioden har arten etablert seg i flere land i Sentral-Europa, og det er også rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Frankrike, Italia, Nederland og Storbritannia (Crop Protection Compendium 2007). Planteskadegjøreren har allerede medført betydelige avlingstap i enkelte regioner, og spredningen skjer svært raskt, spesielt i områder med intensiv maisdyrking. Insektet overvintrer i planterøttene, og områder med monokulturer av mais og arealer der det ikke praktiseres vekstskifte er spesielt utsatte. Det har ikke vært rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Norge (<http://www.faunaeur.org/distribution.php>).

Planteklinikken ved Bioforsk har ikke mottatt eksemplarer av disse skadegjørerne eller prøver av plantemateriale med skader fra disse (H.M. Singh pers. komm.). Den eneste skadegjøreren som er rapportert på mais i Norge er bladlus. Undersøkelser har imidlertid vist at bladlus ikke påvirkes av Cry3Bb1-proteinet (Bhatti *et al.* 2005b). Stort jordfly opptrer av og til som skadedyr i rotvekster i Norge, og det er mulig at arten også kan gjøre skade i mais (Meadow 2007).

Resistensutvikling

Utvikling av resistens hos insekter overfor *Bt*-toksin er en viktig problemstilling, med både agronomiske og miljømessige implikasjoner. Konvensjonelle *Bt*-produkter, i form av insekticider som sprøytes på plantene, har kort virketid (dager), og behandlingen vil ikke være effektiv overfor alle individene av målorganismene. Resistensutviklingen vil foregå raskere der toksinet er tilstede i planten gjennom hele vekstsesongen. I tillegg til målorganismene er det også risiko for resistensutvikling hos andre herbivorer, noe som kan medføre resistensproblemer i andre kulturer der *Bt*-spray benyttes.

Siden det ikke er godkjente *Bt*-produkter til bruk i mais i Norge, og det ikke er registrert billearter som skadegjørere i mais er resistensproblematikken ikke relevant i norsk sammenheng.

Internasjonalt har det imidlertid vært stor oppmerksomhet med hensyn på tiltak for å hindre rask utvikling av resistens. Vanlig praksis i dag er å sette av refugiearealer med ikke-transgen mais i tilknytning til arealene med *Bt*-mais. Dette for å sørge for et habitat der herbivorene ikke eksponeres for toksinet, og derfor kan utvikle populasjoner som ikke nedarver resistensgener. Det anbefales en strategi der 5 % av maisarealene består av usprøytet, ikke-transgen mais som enten plantes i nærheten av arealene med *Bt*-mais, eller inkorporeres i åkrer med transgen mais. Alternativt anbefales et dyrkingsregime der 80 % av arealene består av *Bt*-mais og de resterende 20 % med refugiearealer med konvensjonell mais som behandles med ikke-*Bt*-insekticider (Shelton *et al.* 2002). Metodene med dyrking av konvensjonell mais i tilgrensende refuger har vist seg å være mest effektiv til å motvirke

resistensutvikling. Undersøkelsen til Tabashnik *et al.* (2008) viser at refugearealer ikke hindrer resistensutvikling, men at prosessen tar lengre tid. I Norge er det imidlertid mange færre generasjoner av skadedyrartene som er målorganismer for *Bt*-insekticider. Det forventes derfor mindre risiko for utvikling av resistens sammenlignet med undersøkelsene som Tabashnik *et al.* viser til.

Det er dokumentert resistens mot toksinet Cry1F hos *Ostrinia nubilalis*. I følge Pereira *et al.* (2008) er det imidlertid ikke påvist et vesentlig nivå av kryssresistens mot Cry1Ac. Dette innebærer at målorganismer som har utviklet resistens mot ett av Cry-proteinene ikke vil overleve på grunn av tilstedeværelse av andre Cry-proteiner i planten. Resistensegenskapene vil derfor ikke videreføres i populasjonen.

9. Samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

9.1. Effekter på ikke-målartropoder

Feltstudier med maislinjen MON863, som også uttrykker Cry3Bb1-protein, har ikke vist negative effekter på forekomst av ikke-målartropoder som lever på maisplanter (Bhatti *et al.* 2005b). De fleste registreringene som ble gjort var av arter i familiene Coccinellidae (mariehøner) og Nabidae, samt *Orius insidiosus*, *Chrysoperla carnea*, Syrphidae, Braconidae (en art) og edderkopper.

I en studie fra USA (Kansas) ble ulike hybridlinjer av mais som uttrykte Cry3Bb1, og korresponderende nær-isogene linjer sammenlignet med hensyn på effekter på ikke-målartropoder som lever over bakken. I disse forsøkene ble det benyttet visuelle observasjoner og fallfeller (Al-Deeb & Wilde 2003). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i antall individer av mariehøneartene *Coleomegilla maculata* og *Hippodamia convergens*, tegen *Orius insidiosus* eller *Scymus* spp, og forfatterne bak studien konkluderte med at *Bt*- mais ikke hadde negative effekter på de undersøkte artene. I en tilsvarende studie i samme område viste visuelle tellinger ingen effekter av transgene maislinjer som uttrykte Cry3Bb1 på forekomst av ulike predatorarter (Ahmad *et al.* 2006).

I en undersøkelse av evertebrater som lever nær jordoverflaten fant Bhatti *et al.* (2005a) ingen negative effekter av *Bt*-toksinet på ikke-målartropoder. De fleste arter som ble registrert i denne studien var edderkopper, Carabidae (løpebiller), Staphylinidae (rovbiller), tohaler, Lathrididae, Formicidae og Chilopoda. I tillegg ble det funnet et stort antall meitemark. Det bemerkes at begge studiene av Bhatti *et al.* (2005a,b) ble utført av søker Monsanto Company, med deltagelse fra Missouri Departement of Conservation og Iowa State University.

Monsanto Company har også, i samarbeid med Illinois Natural History Survey med flere (Duan *et al.* 2006), undersøkt effekter av Cry3Bb1-toksin på larver av den viktige rovbillen *Poecilus chalcites*. Undersøkelsen viste ingen negative effekter på overlevelse, utvikling eller vekst ved føring med maksimal dose av proteinet. Det ble ikke registrert forskjeller i dødelighet hos rovbilleartene *Harpalus caliginosus* eller *H. pensylvanicus* ved føring med pollen med og uten Cry3Bb1 (Ahmad *et al.* 2006).

Flere studier har sett på effekter av Cry3Bb1-protein på mariehøner. I en uavhengig undersøkelse av Lundgren & Wiedenmann (2005) ble *Coleomegilla maculata* føret med bladlus der dietten bestod av henholdsvis Cry3Bb1-protein og før uten dette toksinet. Det ble ikke funnet forskjeller mellom maislinjene med hensyn på effekter på fitness hos mariehønene. Analyser av maisblad, bladlus og mariehøner påviste bare Cry3Bb1-protein i bladvev.

I en undersøkelse av Monsanto ble *C. maculata* føret med en diett bestående av maispollen med og uten Cry3Bb1. Det ble ikke påvist forskjeller mellom *Bt*-pollen og pollen fra umodifiserte linjer med hensyn på overlevelse og utvikling hos mariehønelarvene, eller overlevelse og reproduksjon hos voksne individer (Duan *et al.* 2002). I en tilsvarende studie i regi av det nasjonale forskningssenteret Agroscope i Sveits, fant Li *et al.* (2008) ingen negative effekter av toksinet på voksne individer av vanlig gulløye

(*Crysoperla carnea*). Gulløyene ble her enten føret med pollen fra maislinje MON 88017 eller en sammensatt diett inneholdende Cry3Bb1. Samme forskningsgruppe fant heller ingen negative effekter på edderkopparten *Theridion impressum* ved føring med byttedyr inneholdende Cry3Bb1 (Meissle & Romeis 2009).

McManus *et al.* (2005) har i samarbeid med Monsanto sammenlignet forekomsten av *C. maculata* i forsøksfelt med maislinjer som uttrykte Cry3Bb1, og felt med konvensjonelle linjer. Verken undersøkelsene ved hjelp av feller eller prøver fra hele maisplanter indikerte forskjeller i forekomst av disse artene.

I en laboratoriestudie fra Japan ble to bladspisende biller føret med bladplater med pollen fra mais med og uten Cry3Bb1-protein (Shirai 2006). Forfatterne bak denne undersøkelsen konkluderte med at pollenmengder som kan forventes på ville planter i nærheten av maisåkre ikke har negative effekter på billene.

I en omfattende feltstudie med maislinjer som uttrykte Cry3Bb1-protein, samlet Bitzer *et al.* (2005) overflateaktive spretthaler og spretthaler som lever under jordoverflaten ved hjelp av fallfeller. Det ble ikke påvist forskjeller mellom transgene maislinjer og umodifisert kontroll med hensyn på diversiteten av Collembola.

9.2. Rødlistede arter

Norsk Rødliste (www.artsdatabanken.no) inkluderer to billearter som kan tenkes å bli påvirket av Cry3Bb1-toksinet. Rapsjordloppe (*Psylliodes chrysocephala*) angriper korsblomstrede planter, spesielt dyrket oljeraps. Arten er imidlertid lite ettersøkt, og det mangler informasjon om eventuell utbredelse i Norge. Rapsjordloppe var tidligere kjent fra flere lokaliteter på Østlandet, men det finnes ingen nyere funn i Norge. Arten er knyttet til dyrket raps og kan ha gått tilbake som følge av endringer i landbrukspraksis. Rapsjordloppe er en vanlig art lenger sør i Europa og potensielle populasjoner i Norge vil være på grensen av utbredelsesområdet. Det er en teoretisk mulighet for at jordloppen kan finne seg i nærheten av maisåkre hvis det dyrkes oljeraps på omkringliggende arealer. Det er imidlertid liten sannsynlighet for at den vil gå inn i maisfelt eller spise på planter som ikke tilhører korsblomstfamilien.

Lebia cyanocephala er en rovbille som er knyttet til tørre, åpne sandjordsområder der den lever av bladbill pupper. Billen er funnet på en rekke lokaliteter på Østlandet, men det er ikke registrert funn etter 1940 og arten er høyst sannsynlig forsvunnet fra Norge. Årsakene til dette er sannsynligvis endringer i landbruket, kombinert med endringer i bestanden av byttedyr. Undersøkelser av andre rovbiller som Carabidae har vist at populasjonene ikke reduseres i felt med Cry3Bb1-mais. Det er derfor lite sannsynlig at eventuelle forekomster av *Lebia cyanocephala* i Norge vil bli negativt påvirket av *Bt*-mais.

9.3. Delkonklusjon

Publiserte vitenskapelig studier viser ingen skadelige effekter av Cry3Bb1-toksinet på ikke-målartropoder som lever på eller i nærheten av maisplanter. Det vurderes ikke å være risiko for rødlistede arter i Norge. Siden det ikke er godkjente *Bt*-produkter til bruk i mais i Norge, og det ikke er registrert bille-arter som skadegjørere i mais, er problematikken knyttet til resistens i målorganismene ikke relevant i norsk sammenheng.

9. Effekter på bio-geokjemiske prosesser og samspill med abiotisk miljø

9.1. *Bt*-toksiner

Pesistens/nedbryting

Som en konsekvens av dyrking av insektresistent mais vil *Bt*-toksiner inkorporeres i jord, og jordlevende organismer vil kunne eksponeres for disse toksinene både ved at planterøttene frigir toksin til jordvæske (roteksudater), og gjennom innkorporering av dødt plantemateriale etter høsting og jordarbeiding (Icoz & Stotzky 2008; BEETLE report 2009). Problematikken rundt mulig persistens og akkumulering i jord har vært diskutert i en rekke studier. Dette gjelder både direkte og indirekte virkninger av toksinet eller *Bt*-mais på ikke-målorganismer og jordmiljø i form av bl.a. potensiell økning av lignininnholdet i kombinasjon med en mulig redusert nedbrytingshastighet.

I litteraturen finnes mange studier av mais som uttrykker *Bt*-toksinet og dens skjebne og effekter i jordmiljøet. De fleste undersøkelser av mulige effekter av slike toksiner i jordmiljø er relatert til mais som uttrykker Cry1Ab-protein (*Bt*11, *Bt*176, MON810). Det finnes en lang rekke laboratoriestudier og omfattende feltstudier som viser fravær av effekter av *Bt*-toksiner på nedbrytningsprosesser, mikrobiell samfunnsstruktur og et bredt spekter av jordlevende organismer under relevante eksponeringsbetingelser (Sims & Martin 1997; Escher *et al.* 2000; Glare & O'Callaghan 2000; Saxena & Stotzky 2001; Koskella & Stotzky 2002; Griffiths *et al.* 2005, 2007a; Cortet *et al.* 2006; Vercesi *et al.* 2006; Icoz & Stotzky 2008; Zurbrugg *et al.* 2010).

Det er vist at *Bt*-toksiner initielt brytes relativt raskt ned i jord, men at mindre restmengder kan forbli i jorden i flere år (Icoz & Stotzky 2008), noe som indikerer potensial for langtidseksponering av jordlevende organismer. Flere laboratoriestudier har vist at Cry1Ab-proteinet kan bindes til leirmineraler og humus, slik at proteinet blir mindre tilgjengelig for mikroorganismer (ref. Lehman *et al.* 2008). Zwahlen *et al.* (2003a) har publisert resultater fra to sveitsiske feltstudier der nedbryting av Cry1A(b)-toksin fra blad av *Bt*11-mais ble registrert gjennom høst, vinter og vår i en periode på 200 dager. Ved slutten av forsøksperioden var 0,3 % av det opprinnelige proteinet fortsatt til stede i jorda. En annen studie med MON 810 og *Bt*11 viste at omfanget av lignifisering av *Bt*-mais ikke er forskjellig fra kontrollinjer (Jung & Scheaffer 2004).

I en undersøkelse av Icoz & Stotzky (2007) ble persistensen av Cry3Bb1-protein fra roteksudater og maisbiomasse undersøkt ved hjelp av Western blot og ELISA. Proteinene ble detektert i 21-40 dager, avhengig av pH, samt type og mengde leirmineraler i jordprøvene. Resultatene fra denne undersøkelsen indikerer at Cry3Bb1-proteinet degraderes raskt og akkumuleres ikke i jord.

I en undersøkelse av Lehman *et al.* (2008) ble tre transgene maishybrider, som uttrykte henholdsvis Cry3Bb1- og Cry1Ab- protein, evaluert i felt med hensyn på persistens i løpet av en periode på 22 måneder. Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom *Bt*-linjene og umodifisert kontroll med hensyn på nedbrytingshastighet, eller sammensetning (inkludert lignininnhold).

I et laboratorieforsøk av Flores *et al.* (2005) ble nedbryting av ulike plantearter som uttrykte *Bt*-toksiner analysert, og resultatene diskutert i relasjon til lignininnhold og potensielle miljømessige konsekvenser. Generelt hadde planterester av nær-isogene linjer av konvensjonell mais høyere CO₂-produksjon sammenlignet med *Bt*-mais, effekter som ikke kunne relateres til forskjeller i C/N-forhold, lignininnhold eller mikrobiell aktivitet. Som et ledd i EU-prosjektet ECOGEN har Cortet *et al.* (2006) undersøkt effekter av Cry1Ab-protein på nedbryting av hvete-halm i felt på 3 klimatiske ulike lokaliteter i Europa (Danmark og Frankrike). I undersøkelsen ble *Bt*-mais og konvensjonelle, nær-isogene linjer dyrket på 3 ulike jordarter og i tråd med vanlig dyrkingspraksis. Resultater etter 4 måneder viste at nedbryting og mineralisering av organisk materiale primært var knyttet til effekter av klimaforhold. Det ble ikke påvist effekter av *Bt*-toksinet.

I en nylig publisert studie av Zurbrügg *et al.* (2010) ble nedbryting av bladmateriale fra transgene maislinjer som uttrykte Cry1Ab- og Cry3Bb1-proteiner, korresponderende nær-isogene linjer, samt konvensjonelle maissorter evaluert under feltforhold. Det ble påvist forskjeller mellom konvensjonelle maishybrider med hensyn på nedbrytingsmønster, målt som C/N-forhold, lignin-, cellulose- og hemicelluloseinnhold. Tilsvarende forskjeller ble imidlertid ikke registrert mellom transgene- og nær-isogene linjer. Undersøkelsen viste høyere konsentrasjon av Cry3Bb1 i blad ved slutten av vekstsesongen sammenlignet med Cry1Ab. Nedbrytingen av Cry3Bb1-proteinet gikk imidlertid raskere, noe som indikerer kortere persistens av toksinet i planterester. Forfatterne bak studien konkluderer med at siden nedbrytingsmønsteret av *Bt*-mais er sammenlignbar med konvensjonelle maissorter er det ingen indikasjoner på økologisk relevante negative effekter på dekompositører i jord.

Effekter på jordorganismer etc

I en oversiktsartikkel av Icoz & Stotzky (2008), der en rekke studier utført i felt, veksthus og laboratorium er vurdert, konkluderer forfatterne med at det kun er observert mindre eller ingen effekter av *Bt*-toksiner på mikrobiell samfunnsstruktur i jord (for eksempel Blackwood & Buyer 2004; Griffiths *et al.* 2006; Hönemann *et al.* 2008; Icoz *et al.* 2008). I de tilfellene der en har påvist effekter på jordmikroorganismer er disse ofte små og av temporær karakter, og relatert til forskjeller i jordtype, plantesort, geografiske forhold og temperatur.

I regi av EU-prosjektet ECOGEN er det gjennomført en omfattende forsøksserie i laboratorium, veksthus og felt over flere vekstsesonger der effekter av *Bt*-mais på jordmikroorganismer (bakterier), mikrofauna (protozoer, nematoder), mesofauna (Collembola, midd, Enchytraeidae) og makrofauna (meitemark) er undersøkt (Krog *et al.* 2007b, 2008). Forfatterne bak prosjektet konkluderer med at det ikke ble påvist effekter på noen hovedgrupper av jordorganismer som kunne relateres til *Bt*-toksinet. Forskjellene som ble detektert mellom *Bt*-sorter og nær-isogene linjer var knyttet til effekter av jordarbeiding, forskjeller i jordtyper, kultur, vekstskifte, pesticider og maissort.

Eksempelvis viste feltstudier på to lokaliteter i Frankrike og to i Danmark at *Bt*-mais hadde en forbigående liten, men signifikant effekt på protozoer, nematoder og mikroorganismer i jord (Griffiths *et al.* 2005, 2007a). De største effektene ble imidlertid relatert til effekter av jordtype og plantenes vekststadium. I et annet delprosjekt under ECOGEN undersøkte Griffiths og kolleger effekter av transgen mais som uttrykte Cry1Ab (MON 810) på mikrobiell samfunnsstruktur i jord, samt mikroartropoder og larver av liten kålflue (*Delia radicum*). Forsøkene, som ble foretatt under kontrollerte betingelser i veksthus, inkluderte ulike jordtyper og behandling med pyretroidet deltamethrin. Det ble ikke funnet signifikante effekter av den transgene maislinjen på noen av de undersøkte gruppene av artropoder, men det ble påvist små, men signifikante forskjeller i antall protozoer og nematoder mellom gruppene (Griffiths *et al.* 2006). De største effektene var imidlertid relatert til jordtype, vekststadium, sort og bruk av insectider.

I en studie av Al-Deeb *et al.* (2003) ble det tatt jordprøver nær maisplanter som uttrykte Cry3Bb1-protein. Prøvene ble analyserte med hensyn på forekomst av jordmikroartropoder og nematoder. Resultatene viste ingen forskjeller i antall jordmidd, spretthaler og nematoder mellom jordprøver fra felt med transgen mais sammenlignet med kontrollplanter. I en lignende undersøkelse av Ahmad *et al.* (2005) ble det tatt prøver av mikrofauna over og under jordoverflaten, samt målt konsentrasjonen av Cry3Bb1 i jord. Det ble ikke funnet forskjeller i antall ikke-målartrypoder, og det ble påvist lite eller ingen rester av *Bt*-toksinet i jord.

I en sveitsisk studie av Hönemann *et al.* (2008) ble meso- og macrofauna i jord undersøkt etter eksponering for nedbrytingsrester av blad fra *Bt*-mais. Resultatene fra denne undersøkelsen viste ingen negative effekter på ikke-målorganismer, som spretthaler, midd og belteormer (Clitellata). Blackwood & Buyer (2004) har videre undersøkt effekter av transgen mais som uttrykte henholdsvis Cry1F-protein (1507) og Cry1Ab-protein (*Bt11*) på mikrobiell samfunnsstruktur i tre jordarter med ulik tekstur. Resultatene fra vekstkammerforsøket viste kun signifikante effekter av *Bt*-toksin på mikrobiell samfunnsstruktur i leirjord. En antar at *Bt*-mais forårsaker rask vekst i populasjonene av spesielle

mikroorganismer på grunn av økt proteininnhold, og at jordtyper med et høgt innhold av leire øker retensjon av Cry-proteiner.

Meitemark spiller en nøkkelrolle i biogeokjemiske prosesser i jordøkosystemer, og har vært gjenstand for flere studier med hensyn på potensielle effekter av *Bt*-sorter av mais og bomull. I henhold til Zeilinger *et al.* (2010) viser de aller fleste laboratorie- og feltstudiene ingen effekter av *Bt*-mais som uttrykker Cry1Ab og Cry3Bb1 på overlevelse, mortalitet, juvenil vekstrate, reproduksjon eller forekomst og biomasse av populasjoner i felt.

I en undersøkelse av Saxena & Stotzky (2001) ble det ikke funnet signifikante forskjeller i dødelighet eller vekt hos stor meitemark (*Lumbricus terrestris*) etter 40 dager i jord med henholdsvis *Bt*-mais (Cry1Ab) og nær-isogen linje. Det ble heller ikke observert effekter på disse parametrene etter 45 dager i jord med rester fra *Bt*-mais. Dette til tross for at proteinet ble detektert i tarm og feces fra de undersøkte individene.

En felt- og laboratoriestudie over 200 dager viste ingen økt dødelighet hos stor meitemark (*L. terrestris*) som ble føret med *Bt*-mais (Cry1Ab) sammenlignet med kontrollgruppen (Zwahlen *et al.* 2003b). Ved slutten av forsøksperioden ble det imidlertid registrert signifikante forskjeller mellom gruppene med hensyn på vekst. Hos testgruppen ble det observert en vektreduksjon på 18 % i forhold til utgangsvekten sammenlignet med 4 % hos individene som ble føret med konvensjonell mais. I henhold til forfatterne var det imidlertid ikke mulig å si om vektforskjellene var relatert til toksinet eller andre faktorer.

Lang (2006, ref Icoz & Stotzky 2008) fant ingen signifikante forskjeller i populasjonstetthet eller biomasse av meitemark i jord plantet med transgen mais som uttrykte Cry1Ab-protein, og konvensjonell mais (henholdsvis ubehandlet og behandlet med insekticid). Feltforsøket, som ble gjennomført på fem lokaliteter over fire vekstsesonger, viste at forsøkssted og -år hadde større effekt på populasjonstetthet og biomasse av *Lumbricidae* enn tilstedeværelse av Cry-protein.

I en laboratoriestudie av Clark & Coats (2006) ble det ikke påvist negative effekter av av *Bt*-toksinet Cry1Ab på overlevelse og reproduksjon hos *Eisenia fetida* (kompostmeitemark). I denne undersøkelsen ble meitemarkene føret med oppmalt bladmateriale fra henholdsvis transgen mais og umodifiserte, nærisogene maislinjer. I en tilsvarende dansk undersøkelse ble det ikke observert negative effekter av blad eller roteksudater fra *Bt*-mais på overlevelse, vekst, utvikling og reproduksjon hos grå meitemark (*Aporrectodea caliginosa*), en av de viktigste artene av meitemark i jordbruksjord i tempererte områder (Vercesi *et al.* 2006). I denne studien ble det imidlertid registrert en lavere klekkerate hos *A. caliginosa* var. *tuberculata*. Undersøkelser i felt viste ingen forskjeller mellom *Bt*-mais og nær-isogen kontrollinje med hensyn på forekomst og biomasse av ulike meitemarkpopulasjoner (Krog *et al.* 2007a).

For å undersøke mulige sub-letale effekter på meitemark har Zeilinger *et al.* (2010) gjennomført et storskala forsøk med ulike *Bt*-linjer (Cry1Ab1, Cry3Bb1) over fire år i USA. Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom transgene linjer og umodifisert kontroll med hensyn på biomasse av juvenile og voksne individer av de fire undersøkte artene. Forskningsgruppen bemerker imidlertid at få arter av meitemark er testet i denne studien, og at flere studier er nødvendige for å bekrefte resultatene.

I en undersøkelse av effekter av *Bt*-mais (Cry1Ab-protein) på livssyklus hos sneglearten *Cantareus aspersus* ble det observert redusert vekst etter føring med Cry1Ab-protein via mat og jord i 47 og 68 uker sammenlignet med umodifisert kontroll. Etter 88 uker ble det ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene (Kramarz *et al.* 2009).

Effekter på akvatiske organismer

Douville *et al.* (2005) har undersøkt nivå av Cry1Ab-toksin i akvatiske miljø i Canada. I undersøkelsen ble det tatt prøver av overflatevann, jord og sedimenter fra vassdrag med avrenning fra dyrkingsarealer med henholdsvis *Bt*-mais og konvensjonelle maissorter som ble sprøytet med

insekticider. Resultatene viste at nedbrytingen av endotoksinet gikk raskere i vann enn i jord (halveringstid 4 og 9 dager), mens for krystaller fra pesticidene var nedbrytingstiden lengre. Nivået av Cry1Ab-proteinet i prøver fra sedimenter og overflatevann varierte fra 0,1 til 1 ng/g eller ng/ml. I flertallet av prøvene var imidlertid toksin-nivået under deteksjonsgrensen. I en oppfølgingsstudie fra 2007 undersøkte Douville *et al.* forekomst og persistens av *cry1Ab*-genet i vassdrag i nærheten av dyrkingsfelt med *Bt*-mais. Resultatene av undersøkelsen viste at genet var persistent i 21 og 40 dager i henholdsvis overflatevann og i sedimenter, og med høyest konsentrasjon i sedimentprøver. Transgenet ble detektert i avstander opp til 82 km fra dyrkingsfeltene.

I en studie av Rosie-Marshall *et al.* (2007) er det vist at larver av vårfluer (*Tricoptera*) er sensitive for Cry1Ab-toksinet. Disse laboratorieforsøkene viste redusert vekst og økt mortalitet hos vårfluelarver ved inntak av pollen og dødt plantemateriale fra *Bt*-mais. Målinger i felt av samme forskergruppe har imidlertid ikke påvist effekter av *Bt*-pollen på vekst og dødelighet av arter fra vårflueslektene *Hydropsyche* og *Cheumatopsyche* (Pokelsek *et al.* 2007).

9.2. Herbicidtoleranse

Det er publisert betydelig færre studier relatert til effekter av dyrkingsregimer med herbicidtolerante planter på nedbryting av organisk materiale, jordlevende organismer og jordmiljø sammenlignet med studier av *Bt*-planter (Griffiths *et al.* 2007a, 2008; Powell *et al.* 2009). Faggruppen er ikke kjent med at det er påvist direkte effekter av glyfosattolerante planter på abiotisk miljø og bio-geokjemiske prosesser, men det er rapportert om enkelte effekter av tiltenkt herbicid og tilhørende dyrkingspraksis på mykorrhiza, rhizobium-populasjoner og mikrobielle samfunn i jord (Zablotowicz & Reddy 2004, 2007; Powell *et al.* 2009).

Zablotowicz & Reddy (2004) rapporterte om negative effekter av glyfosat på populasjoner av *Bradyrhizobium japonicum* med hensyn på nodulering og nitrogenfiksering i soya.

I en canadisk studie ble forekomsten av ulike trofiske grupper i jord og nedbryting av organisk materiale undersøkt i felt med henholdsvis glyfosattolerant mais og soya, og tilhørende umodifiserte, nær-isogene linjer (Powell *et al.* 2009). Studien påviste signifikante effekter av herbicidbehandling og sort på enkelte grupper av jordbiota, men resultatene var ikke konsistente over forsøkssteder. Effektene som ble observert var også temporære, og ble kun påvist i første forsøksår. Tilsvarende ble det påvist redusert nedbryting av organisk materiale i enkelte av feltene med herbicidtolerante sorter, og endringer i det relative forholdet mellom sopp og bakteriebiomasse. Sistnevnte forhold indikerer seinere nedbryting og høyere C/N-forhold. Forfatterne konkluderer imidlertid med at det trengs mer kunnskap for å vurdere funksjonelle konsekvenser av de observerte temporære effektene på jordbiota, og hvordan endringer i nedbryting påvirker næringscykler og karbonbinding/akkumulering i agroøkosystemer.

I regi av EU-prosjektet ECOGEN har Griffiths *et al.* undersøkt effekter av herbicidtolerant mais på jordlevende organismer og jordmiljø. Feltforsøk over to vekstsesonger på en lokalitet i Danmark viste små, men signifikante forskjeller mellom konvensjonelle dyrkingssystemer og GA-tolerant mais med hensyn på effekter på mikrobiell samfunnsstruktur og nematoder ved slutten av forsøksperioden (Griffiths *et al.* 2007a). I en oppfølgingsundersøkelse under kontrollerte betingelser i veksthus, der GA-mais (T25) ble dyrket i ulike jordtyper fra forsøkssteder i Danmark og Frankrike, fant en ingen signifikante effekter av herbicidbruk på jordmikroartropoder (Griffiths *et al.* 2008). Det ble derimot påvist endringer i mikrobiell samfunnsstruktur og redusert forekomst av protozoer. Hovedeffektene var imidlertid knyttet til jordtype og plantens utviklingsstadium, og ikke herbicidbruk og maissort. Det konkluderes også med at effektene av herbicid-regime på mikro- og mesofauna i jord er relativt små sammenlignet med effekter av jordarbeiding og dyrkingspraksis for øvrig.

I en annen studie i tilknytning til ECOGEN-prosjektet undersøkte Krogh *et al.* (2007a) mulige virkninger av redusert jordarbeiding på populasjoner av meitemark i dyrkingssystemer med

henholdsvis GA-tolerant mais og konvensjonelle maissorter. Studien, som kun ble foretatt på en lokalitet i Danmark i 2004 og 2005, viste signifikante reduksjoner i antall og biomasse av meitemark i plot med herbicidtolerant mais sammenlignet med ikke-transgen mais. Effektene ble tilskrevet eksponering for herbicidet Basta. Det ble ikke funnet noe entydig mønster med hensyn på effekter av jordbearbeiding på ulike arter av meitemark.

9.3. Delkonklusjon

Det finnes enkeltstudier som viser små, men signifikante effekter av *Bt*-toksin og tiltenkt pesticid på jordlevende organismer og mikrobiell samfunnsstruktur i jord. De fleste studiene konkluderer imidlertid med at effektene er små og forbigående sammenlignet med effekter av dyrkingsmessige og miljømessige forhold. Det er kunnskapsmangler med hensyn på effekter av toksinet på vannlevende organismer. Konsentrasjonene av *Bt*-endotoksiner er imidlertid vist å være svært lave i akvatiske systemer og eventuell eksponering på disse organismene vil være marginal i Norge.

10. Effekter på agroøkologiske forhold, dyrkingspraksis etc.

10.1. Dyrkingspraksis og herbicidregimer i mais

10.1.1. Konvensjonell mais

Mais er et ettårig, subtropisk gras med C4-fotosyntese, tilpasset et dyrkingsklima med høy temperatur og høy lysintensitet. Rask og jevn oppspiring er betinget av høye jordtemperaturer ved såing (minimum 8-10 °C ved 10 cm dybde) (Skaland 1993). Plantene er også svært følsomme for kuldeperioder etter oppspiring. I Norge sås derfor mais seinere enn korn, ofte fra midten av mai og utover (Netland 2010). I de fleste tilfeller sås fôrmais etter pløying, men redusert jordarbeiding blir også noe benyttet.

Mais er kultur som må dyrkes med stor radavstand (75 cm), og med stor avstand mellom planter i raden for å oppnå skikkelig utvikling. Plantene vokser seint i starten og kulturen er svært åpen og lite konkurransedyktig overfor ugras i etableringsfasen. Mais dyrkes i godt oppgjødslet jord, og spesielt ved lave temperaturer tidlig i vekstsesongen vil ugraset representere et stort problem. Det vil derfor ikke være mulig å dyrke mais uten å gå inn med tiltak, og kulturen vil bli påført permanent skade dersom ugraset ikke blir bekjempet i tide. Med en radavstand på 75 cm er mekanisk bekjemping ved radrensing et mulig tiltak. Ugras mellom plantene i raden må imidlertid fjernes manuelt, og mekanisk ugrasbekjempelse blir ofte benyttet i kombinasjon med kjemiske tiltak.

Kjemisk bekjempelse er den vanligste metoden mot ugras i fôrmais. Godkjente herbicider til bruk mot ettårige arter i fôrmais i Norge er vist i tabell 6 (Netland 2010). Dette er selektive bladherbicider som først kan sprøytes på oppspirt ugras. Det er imidlertid avgjørende at ugraset ikke blir for stort for at en skal oppnå effektiv bekjemping. Siden det er viktig at ugraset ikke tar overhand tidlig i vekstperioden, ble jordherbicidet cyanazin tidligere benyttet rett etter såing. Dette herbicidet er imidlertid trukket fra markedet.

Som det framgår av tabellen er det som regel nødvendig å sprøyte to ganger i løpet av vekstsesongen. Kombinasjoner av preparatene Titus WSB + Harmony 50 SX har bred ugrasvirkning og er vanlig brukt i fôrmais. Alternativt vil Titus WSB + Starane/Tomahawk i kombinasjon også gi god ugrasvirkning. Matricon er et spesialmiddel mot ettårige og flerårige arter i kurvplantefamilien, samt mot svartøtvier og vindelslirekne. Anslagsvis vil det være nødvendig å bruke Matricon på 10 % av arealet per år. Lentagran blir i dag lite benyttet i fôrmais.

I henhold til Netland (2010) vil dagens godkjente preparater normalt gi en tilfredsstillende ugrasbekjempelse. Det er imidlertid en svakhet at tiltakene er avhengige av preparat i

sulfonylureagruppen (Harmony 50 SX og Titus WSB) (ALS-hemmere), som flere ugrasarter er blitt resistente mot. Både Starane/Tomahawk, Matrigon og Lentagran er resistensbrytere, og ved mistanke om resistens må disse preparatene benyttes i større grad. På den andre side er herbicidene i sulfonyluragruppa såkalte lavdosemidler, og tilført mengde vil derfor være en brøkdel av det som må benyttes av glyfosat.

Tabell 6. Godkjente preparater i fôrmais og vanlige kombinasjoner for å oppnå allsidig ugrasvirkning (Netland 2010).

Handelsnavn	Virksomt stoff	Dosering (virksomt stoff/dekar)	Eksempel på kombinasjoner ved sprøyting to ganger
Lentagran	pyridat	100 g	Mindre vanlig i fôrmais
Titus WSB	rimsulfuron	0,75 g + 0,5 g med 10 dagers mellomrom	1. 0,75 g rimsulfuron + 0,56 g tifensulfuron 2. 0,5 g rimsulfuron + 0,375 g tifensulfuron 1 og 2 sprøytes med 10 dagers mellomrom
Harmony 50 SX	tifensulfuron	0,75 g en gang eller 0,56+0,375 g med 10 dagers mellomrom	
Starane 180/ Tomahawk	fluroksypyr	11-27 g	0,5-0,75 g rimsulfuron + 8 g fluroksypyr gjentatt etter ca 10 dager
Matrigon	klopyralid	12-15 g	Spesialmiddel mot ugras i korgplantefamilien (både ettårige og flerårige arter), svartsøtvier og vindelslirekne

10.1.2. Glyfosattolerant mais

Introduksjon av herbicidtolerante planter og bruk av bredspektrede herbicider kan åpne for en mer fleksibel ugrasbekjempelse der sprøytetidspunkt kan velges mer uavhengig av vekstenes utviklingstrinn. Dette gir mulighet for en mer målrettet bruk med seinere sprøyting, færre behandlinger og redusert jordarbeiding sammenlignet med konvensjonell bruk av selektive herbicider. Slike endringer i sprøyteregimer kan medføre effekter både på totalforbruk av pesticider (endringer i mengde virksomt stoff), og overgang til plantevernmidler med andre toksikologiske og miljømessige egenskaper (giftighet, persistens, mobilitet etc).

Plantevern

Siden glyfosat virker godt mot de fleste ettårige og flerårige ugrasarter, kan ugrasbekjempelsen på arealer med glyfosattolerant mais bli både mer effektiv og enklere i forhold til valg av preparat og preparatkombinasjoner (Netland 2010). Dette forsterkes av at glyfosat også er virksomt på seinere utviklingsstadium enn midlene som benyttes i konvensjonell maisdyrking i dag. I henhold til Netland (2010) vil det sannsynligvis være tilstrekkelig med en sprøyting i løpet av vekstsesongen i Norge. Hvor høy glyfosatdose som er nødvendig vil variere med sammensetningen av ugrasfloraen. Ved innslag av etablerte flerårige arter må det brukes 100-150 g virksomt stoff per dekar. Ved ugrasbekjemping på arealer med kun frøgras vil dosen kunne reduseres til 50 g (Netland 2010). Godkjente doseringer av glyfosat for ulike bruksområder i Norge varierer fra 36 til 288 g glyfosat/daa (Mattilsynet 2009). EU opererer med en foreslått dosering i glyfosattolerant mais for Nord-Europa på maksimalt 216 g virksomt stoff per daa, fordelt på 2 sprøytinger (Monsanto 2007).

Vekstskifte og jordarbeiding

Internasjonalt er utvikling av herbicidtolerante kulturer sterkt forbundet med dyrking med redusert eller uten jordarbeiding (Locke *et al.* 2008; Givens *et al.* 2009). Denne praksisen er et viktig element i ”conservation agriculture”, som har økt drastisk i USA, Canada, Argentina og Brasil (Dill *et al.* 2008). Ved dyrking med redusert eller helt uten jordarbeiding får toårige og flerårige ugrasarter bedre vilkår enn når de pløyes. Dette kan effektivt forhindres ved glyfosatsprøyting i veksttida for kulturen. I henhold til Dill *et al.* (2008) har det vært praktisert redusert eller ingen jordarbeiding på omlag 65-70 % av arealene med glyfosattolerant mais i USA de siste årene. Netland (2010) konkluderte imidlertid med at redusert jordarbeiding ved dyrking av glyfosattolerant mais sannsynligvis vil være mindre egnet for denne kulturen, og da relatert til problemer med *Fusarium*. På bakgrunn av dette er det heller ikke grunn til å anta at innføring av glyfosattolerant fôrmais i Norge vil endre jordarbeiding i forhold til dagens praksis med konvensjonelle sorter (Netland 2010). Det innebærer heller ingen endringer i erosjon eller avrenning av næringsstoffer.

I Norge er det grunnet forhold som arrondering, topografi og grunt jordsmonn, mangel på egnede arealer til fôrmaisdyrking hos husdyrprodusenter i aktuelle områder for maisdyrking. Ved konvensjonell dyrking vil ugras begrense mulighetene for ensidige omløp med fôrmais år etter år. Introduksjon av glyfosattolerante sorter kan, i henhold til Netland (2010), medføre at flere dyrkere vil benytte seg av muligheten til å dyrke i monokultur.

Sjukdomsbilde

Til nå har det ikke vært observert vekstfølgesjukdommer av betydning selv i ensidige omløp ved dyrking av konvensjonell mais (Netland 2010). Mulige endringer i sjukdomsbilde ved introduksjon av glyfosattolerant mais vil være knyttet både til omfang/areal og til eventuell økt bruk av monokultur sammenlignet med dyrking av konvensjonelle sorter. Økt bruk av monokultur må i lengden forventes å føre til vekstfølgesjukdommer og skadedyr (Netland 2010). Særlig gjelder dette hvis maisarealet øker i kornområdene og at mais i økende grad inngår i omløp med korn. I og med at planterester av mais er et svært godt substrat for mykotoksindannende sopper i *Fusarium*-komplekset, vil kornet utsettes for økt smittepress fra *Fusarium* og dermed økt risiko for mykotoksiner i avlingen. Resultater fra danske forsøk viser at omløp med mais som forgrøde før hvete kombinert med en dyrkingsteknikk uten pløying, gir høyest risiko for utvikling av *Fusarium* og mykotoksiner i kornet (ref. Henriksen 2006).

10.2. Direkte effekter av glyfosat på miljø

10.2.1. Bruksområder og omsetning av glyfosat

Glyfosat er et bredspektret, ikke selektivt, systemisk ugrasmiddel. Stoffet absorberes hovedsakelig av plantens overjordiske deler og transporteres via silvevet til plantens meristemer og stanser all videre vekst. Herbicidet er virksomt mot de fleste planter som har velutviklede blader og er i god vekst ved behandling.

I perioden 2004-2008 var den årlige omsetningen av glyfosat i Norge i gjennomsnitt 292 600 kg virksomt stoff (Mattilsynet 2009). Dette tilsvarer 55 % av omsatt mengde ugrasmidler. Til sammenligning var gjennomsnittlig omsetning av glyfosat om lag 70 tonn i perioden 1982-1986. Den økte bruken tilskrives i stor grad endringer i jordarbeidingspraksis. Redusert jordarbeiding (pløyefri dyrking) medfører en økning av både ett-, to- og flerårige ugrasarter sammenlignet med dyrkingssystemer med høst- eller vårploying, og økt behov for planteverniltak (Stenrød *et al.* 2007).

I jordbruket brukes glyfosatpreparater mot enfrøbladete arter (spesielt kveke), og tofrøbladete frø- og rotugras, enten før oppspiring, før etablering eller etter høsting av alle kulturer (www.plantevernguiden.no; Stenrød *et al.* 2007). Videre er glyfosatpreparater godkjent til bruk i moden byggåker uten gjenlegg/fangvekst, og ved skjernet sprøyting i frukthager, prydrær og pryde- og bærbusker. Plantevernmidler med glyfosat brukes også i utstrakt grad mot løvkratt i skogbruket, og

til totalbekjemping av ugras og annen vegetasjon langs veier, jernbanelinjer, kraftlinjer, industriområder, planteskoler etc.

Glyfosat er ikke godkjent til bruk verken i fôr- eller sukkermais i Norge. Enkelte EU-land, eksempelvis Spania, Italia, Belgia og Nederland har godkjent bruk av glyfosat til skjermet sprøyting i maisåkre (Monsanto 2009).

10.2.1. Miljørisikovurdering av glyfosat

Ved en eventuell godkjenning av genmodifiserte planter for dyrking i Norge vil de miljømessige aspektene knyttet til plantevernmidler bli fanget opp av den eksisterende godkjenningsordningen for pesticider. All ny bruk av plantevernmidler som kreves for de aktuelle genmodifiserte kulturene vil måtte gjennomgå en miljørisikovurdering. Også eventuelle endringer i dosering, bruksmåte og bruksområde av allerede godkjente plantevernmidler som følge av bruk av genmodifiserte planter må vurderes av VKMs Faggruppe for plantevernmidler (FG2). VKMs risikovurdering vil, sammen med informasjon om preparatets agronomiske nytteverdi og en vurdering av alternative midlers egenskaper, danne grunnlaget for Mattilsynets vedtak.

Dagens godkjenninger av glyfosat, både virkestoff og preparater, er basert på en risikovurdering fra det tidligere Rådet for plantevernmidler fra 2004. VKMs Faggruppe for plantevernmidler har ikke foretatt noen fullstendig helse- og miljørisikovurdering av glyfosat, men kun tidligere vurdert formuleringsstoffet POEA i preparatet Roundup Max (VKM 2005b). I henhold til Mattilsynets 5-årsplan for regodkjenning av plantevernmidler, vil det i 2012 bli gjennomført en fullstendig helse- og miljørisikovurdering av virksomt stoff, metabolitter og preparat for ulike bruksområder etter ordinær prosedyre. Ved miljørisikovurderinger av pesticider etter dagens regelverk blir direkte effekter på visse indikatorarter av fisk, vannlopper, alger, fugl, pattedyr, meitemark, bier, leddyr, samt persistens og utlekking til grunnvann og overflatevann vurdert. Mulige langsiktige effekter på biodiversitet og resistensutvikling omfattes ikke av dette regelverket.

Når det gjelder skjebne i miljøet og økotoksiske effekter viser Rådet for plantevernmidler til at glyfosat har relativt høy vannløselighet, og at nedbrytingen i jord under aerobe forhold er moderat til høy, mens nedbrytingen av metabolitten AMPA er lav til middels. Nedbrytingen er avhengig av mikrobiell aktivitet, og adsorpsjonen virker inn på hvor tilgjengelig glyfosat er for mikrobiell nedbryting. Adsorpsjonen i jord er høy til meget høy for både glyfosat og AMPA. På grunn av den raske nedbrytingen og bindingen til jordpartikler har en tidligere antatt at risikoen for utlekking har vært lav. Resultater av det norske pesticidovervåkingsprogrammet JOVA og tilsvarende programmer i Sverige og Danmark den siste 10-årsperioden har imidlertid påvist glyfosat og nedbrytingsproduktet AMPA i de fleste prøver som er analysert av overflatevann og grunnvann (Stenrød *et al.* 2007; Franzén *et al.* 2007). Dette forklares med sterk adsorpsjon av glyfosat i det øverste jordlaget, noe som medfører fare for partikkelbundet transport med overflateavrenning. Adsorpsjon, binding og mobilitet i jord vil imidlertid variere betydelig mellom ulike jordtyper (Borgaard & Gimsing 2008). Forsøk har vist begrenset lekkasje fra ikke-strukturert sandjord. I velstrukturerte leirjordtyper derimot er det påvist lekkasje av både virkestoff og metabolitt under nordiske klimaforhold, noe som representerer en potensiell risiko for det akvatiske miljøet. Nedbryting i vann/sedimentsystem er moderat til høy.

Når det gjelder risiko for effekter på terrestrisk miljø viser Rådet for plantevernmidler (2004) til at det ikke er påvist hemmende effekter av glyfosat på mikroorganismer i jord, og at virkestoffet er lite giftig for meitemark, bier og fugl. Videre ansees glyfosat som skadelig for snylteveps (*Aphidus rhopalosiphi*) og rovmidd (*Typhlodromus pyri*), og lite giftig for plantelevende predatorer som *Chrysoperla carnea*. I akvatiske miljøer er glyfosat sett å være meget til moderat giftig for ulike algearter, moderat giftig for andemat og moderat til lite giftig for vannlopper (akutt/kronisk) og fisk (akutt/kronisk). Risikoen er størst for effekter på kiselalger, som er sett å være den mest sensitive organismegruppen. Det er påvist kroniske effekter på tidlige livssyklusstadier av amfibier ved langtidsseksponering av formuleringsstoffet POEA, som finnes i enkelte Roundup-preparater (Relyea

2005 a,b). VKMs Faggruppe for plantevernmidler viser imidlertid til at konsentrasjonene som gir akutt toksisitet ikke er vesentlig lavere enn hva som tidligere er vist for andre organismegrupper (VKM 2005b). Faggruppen konkluderer også med at i og med at nedre konsentrasjonsgrense for disse effekter ikke er fastlagt, er det vanskelig å foreta en adekvat vurdering av risiko for effekter av langtidseksponering.

Det er utviklet flere metoder hvor en søker å gi en samlet vurdering av plantevernmidlenes effekter på omgivelsene, såkalte miljøindikatorer. EIQ (Environment Impact Quotient) er et eksempel på en risikoindeks som er mye benyttet for å estimere og sammenligne miljøeffekter av ulike bekjempelsesstrategier og behandlingsregimer (Kovach *et al.* 1992; Kleter *et al.* 2008). Den økotoksikologiske komponenten av indikatoren tar blant annet i betraktning toksiske effekter på akvatiske organismer, fugl, bier og andre nytteinsekter, som vektet ulikt. EIQ kan beregnes med bruker/steds-spesifikke data, dose og aktiv ingrediens. Ved å beregne EIQ for ulike pesticider eller årlige EIQ for pesticidprogram innen et areal eller innenfor et avgrenset område gir dette muligheten til å sammenligne ulike bekjempelsesstrategier eller sammenligne den relative risiko for effekter og utvikling over tid (Kvaløy *et al.* 1998). Basert på denne indeksen konkluderer Kleter *et al.* (2008) med at glyfosat har en gunstigere økotoksikologisk profil sammenlignet med aktuelle selektive herbicider som benyttes i konvensjonell produksjon i Europa.

Det arbeides med å få vurdert relevansen av ulike risikoindekser under norske forhold.

10.2.2. Uttalelse fra VKMs Faggruppe for plantevernmidler vedrørende bruk av glyfosat i genmodifisert mais og sukkerbete.

På bakgrunn av en bestilling fra Mattilsynet kom Faggruppe for plantevernmidler med en uttalelse om bruk av glyfosatholdige herbicider ved dyrking av genmodifisert mais og sukkerbete i juni 2009 (vedlegg I). Oppdraget fra Mattilsynet omfattet ikke en fullstendig helse- og miljørisikovurdering, men faggruppen ble bedt om en vurdering om hvorvidt bruk av glyfosat i disse kulturene medfører *vesentlig* høyere risiko for helse og/eller miljø enn allerede godkjente bruksområder. Det ble ikke innlevert noen ny dokumentasjon for preparater eller virksomt stoff som endrer tidligere vurderinger. Faggruppen fant i dette tilfelle det tilstrekkelig å basere sin uttalelse på risikovurderingen av glyfosat som ble gjort av Rådet for plantevernmidler i 2004, og har ikke gjort noen ny vurdering av økotoksiske egenskaper, skjebne i miljø eller økotoksiske effekter i terrestrisk og akvatisk miljø. Basert på dette dokumentasjonsgrunnlaget, konkluderer faggruppen med at bruk av det virksomme stoffet glyfosat i herbicidtolerant mais og sukkerbete ikke medfører *vesentlig* høyere risiko for miljø (eller helse) enn allerede godkjente bruksområder.

Faggruppen presiserer i sin uttalelse at miljørisikovurderingen kun er relatert til direkte effekter av glyfosat på miljø, og at andre effekter knyttet til introduksjon av herbicidtolerante kulturer, som endringer i bruksmønster av plantevernmidler, endringer i jordbrukspraksis og resistensproblematikk knyttet til ensidig bruk ikke er vurdert. Dette er forhold som til nå ikke har vært en del av oppdraget i forbindelse med den ordinære godkjeningsprosessen av plantevernmidler. Faggruppe 2 understreker imidlertid at mulige langsiktige endringer i bruksmønster av plantevernmidler og den miljørisiko som dette kan medføre må tas hensyn til i en miljørisikovurdering av genmodifiserte planter.

10.3. Mulige langsiktige effekter på miljø knyttet til endringer i dyrkingspraksis, bruksmønster av plantevernmidler etc

10.3.1. Biodiversitet

Introduksjon av herbicidtolerante kulturplanter og ensidig bruk av bredspektrede herbicider vil kunne påvirke biodiversiteten og sammensetningen av plantesamfunn både på jordbruksarealer og

tilgrensende biotoper. Potensielle effekter på miljøet vil imidlertid avhenge av en rekke faktorer knyttet til både genetisk bakgrunn/sortsmateriale, og agronomiske og miljømessige forhold, forhold som vil variere fra vekstsesong til vekstsesong og mellom regioner.

I Europa, og spesielt Norden, er det gjennomført få storskala-forsøk hvor man har undersøkt effekter av herbicidtolerante sorter på biologisk mangfold under ordinære dyrkingsbetingelser (Squire *et al.* 2003; Franzén *et al.* 2007). De fleste studiene som er publiserte er basert på kortvarige småskala-forsøk på få lokaliteter. Det har heller ikke vært kommersiell dyrking av transgene planter med herbicidresistens som kan gi indikasjoner på mulige langsiktige økologiske konsekvenser av endret dyrkingsregime. En utredning fra Jordbruksverket og Naturvårdsverket på oppdrag fra det svenske Jordbruksdepartementet (Franzén *et al.* 2007) konkluderer også med det er svært begrenset overføringsverdi til nordiske dyrkingsbetingelser av de studiene som er publiserte så langt.

Nordiske studier

I Sverige og Danmark har det i perioden 2002-2008 vært 12 forsøksutsettinger med herbicidtolerante sorter av fôrmete, sukkerbete, mais og oljeraps (http://gmoinfo.jrc.it/gmp_browsw.aspx). Det har ikke vært tilsvarende feltforsøk i de øvrige nordiske landene. Ved Sveriges Landbruksuniversitet ble det i 2002 startet opp et forskningsprosjekt som studerer miljøkonsekvenser ved dyrking av transgene sorter med herbicidtoleranse. I prosjektet blir risiko for resistensutvikling, samt effekter av redusert jordarbeiding, sprøytetidspunkt og – frekvens på biodiversitet og total herbicidbruk vurdert. Resultatene fra denne studien er ennå ikke publisert.

I Danmark ble de første undersøkelsene av mulige effekter på ulike biodiversitetsindikatorer gjennomført av Danmarks Miljøundersøkelser med glyfosattolerant fôrmete (Strandberg & Bruus-Pedersen 2002; Elmegaard & Bruus Pedersen 2001; Strandberg *et al.* 2005). I denne forsøksserien ble effekter av ulike herbicidregimer på flora og fauna på dyrkingsarealer med konvensjonell og transgen fôrmete studert over en treårsperiode. Resultatene fra dette arbeidet viser at tidspunktet for sprøyting, dvs. lengden på den herbicidfrie perioden, er helt avgjørende med hensyn på effekter på biodiversitet. Glyfosatsprøyting i henhold til anbefalinger medførte en større tetthet av ugras og en mer artsrik ugrasflora på forsøksruter med herbicidtolerant bete sammenlignet med umodifiserte betesorter tidlig på sommeren. Sprøyting tidligere enn anbefalt resulterte imidlertid i en svært lav diversitet, tetthet og biomasse av ugras gjennom hele vekstsesongen. Forekomst og artsmangfold blant artropoder var også i hovedsak korrelert med herbicidregime, og tetthet og biomasse både av ugrasplanter og kulturplanter. En effektiv ugraskontroll vil imidlertid, uavhengig av sprøytetidspunkt, medføre redusert/mangelfull frøproduksjon hos ugrasartene. På sikt vil dette føre til en seleksjon av mindre glyfosatsensitive arter, og redusert artsmangfold på og rundt landbruksarealene. I henhold til Netland (2010) er vindelslirekne (*Fallopia convolvulus* (L.)), åkervindel (*Convolvulus arvensis* L.) og vanlig hønsegras (*Persicaria maculosa* ssp. *maculosa*) ugrasarter som fra naturen er sterke overfor glyfosat. Disse ugrasartene er vanlig til nokså vanlig i potensielle dyrkingsområder for mais i Norge (Lid & Lid 2005). Økt bruk av glyfosat vil øke mulighetene for frøproduksjon hos disse artene, og dermed på lang sikt medføre endring i sammensetningen av ugrasfloraen. Påtagelige endringer og problemer vil imidlertid først komme i monokulturer av mais og dersom arealet av glyfosattolerant mais øker drastisk (Netland 2010).

I Danmark er det også initiert en større undersøkelse for å belyse mulige kort- og langtidseffekter av ulike sprøytereimer ved dyrking av glyfosattolerante sorter av mais og hørstraps (ref. DMU 2009). Målet med prosjektet er å studere effekter av herbicidresistente kulturer på flora og fauna både på dyrkingsarealer og tilgrensende arealer gjennom et helt vekstskifte. Prosjektet ble avsluttet i 2007, og en samlet rapport med prosjektets resultater var forventet publisert i 2008. Faggruppen er imidlertid ikke kjent med at denne rapporten er publisert.

Britiske studier

Den mest omfattende studien som er publisert over effekter av herbicidtolerante planter på biodiversitet ble gjennomført i Storbritannia i perioden 2000-2003. I denne undersøkelsen (Farm Scale Evaluations (FSE)) ble ulike biodiversitetsparametere studert i dyrkingsfelt og omkringliggende

arealer med henholdsvis transgene og konvensjonelt dyrkede sorter av fôrmais, fôrbete, sukkerbete og oljeraps (Champion *et al.* 2003). I denne studien ble det kun benyttet betesorter med glyfosattoleranse, mens mais- og rapssortene som inngikk i undersøkelsen var tolerante mot glufosinat-ammonium. For hver kultur ble 65 forsøksfelt etablert over et spredt geografisk område. Forsøksfeltene ble undersøkt med hensyn på sammensetning, total biomasse, frøsetting og frøbank av ugrasarter. Videre ble diversiteten av evertebrater, samt samspill mellom arter på høyere trofi-nivå studert.

De største forskjellene i biodiversitet var knyttet til de ulike kulturene som ble vurdert, og i mindre grad forskjeller mellom herbicidtolerante og konvensjonelle dyrkingssystemer av samme jordbruksvekst (Hawes *et al.* 2003). Forsøksruter med oljeraps inneholdt generelt mer ugras og insekter sammenlignet med sukkerbete og mais. Forsøksserien viser også at de viktigste miljøeffektene ved dyrking av herbicidtolerante kulturer er knyttet til endringer i herbicidregime, jordarbeiding, vekstskifte og mulige langsiktige interaksjoner mellom ugras og populasjoner av evertebrater (Firbank *et al.* 2003a,b). Det understrekes at effekter på biodiversitet i stor grad avhenger av dyrkingspraksis og sprøyteregime (inkludert dose, tidspunkt og frekvens av sprøyting av selektive og ikke-selektive herbicider), vekstskifte og tilgjengelighet av fôrressurser og habitat i dyrkingsområdet. Sprøytetidspunkt er spesielt avgjørende. Dette fordi bredspektrede herbicider ofte benyttes seinere i vekstsesongen sammenlignet med mer selektive herbicider i konvensjonelle sorter.

Ved bruk av herbicidprogrammer med glyfosat og glufosinat-ammonium ble det i denne forsøksserien påvist redusert plantetetthet av store, frøbærende individer av tofrøbladete ugrasarter på arealer med transgen oljeraps og sukkerbete ved slutten av vekstsesongen (Heard *et al.* 2003 a,b). På disse arealene ble total biomasse og frøspill hos ugrasartene redusert med henholdsvis 1/3 og 1/6 sammenlignet med konvensjonell dyrking.

I forsøksfeltene som inkluderte glufosinat-tolerant mais var tettheten av ugras høyere hos de herbicidtolerante sortene gjennom hele sesongen. Mot slutten av vekstsesongen ble det registrert 82 % mer biomasse av ugras på arealer med transgen mais. I både raps, bete og mais ble det, med unntak av forbigående effekter i forbindelse med sprøyting, ikke registrert effekter av herbicidbehandling på den botaniske diversiteten på dyrkingsarealene. Det ble heller ikke rapportert om effekter av ulike dyrkingssystemer på vegetasjonen i randsonene til dyrkingsfeltene (Roy *et al.* 2003).

Endringene i tilgang på fôrressurser førte til en reduksjon i forekomsten av nøkkelarter av evertebrater, og arter på høyere trofinivå (Hawes *et al.* 2003). Populasjonene av ulike herbivorer, saprofager, pollinatorer, predatorer og parasitoider som ble studert, endret seg i samme retning som ressurstilgangen. Sammenlignet med de konvensjonelle dyrkingsfeltene økte forekomsten av nedbrytere i feltene med transgene planter hos alle kulturene som ble studert. Tettheten av spretthaler (*Collembola*) var for eksempel gjennomgående høyere i felt med herbicidtolerante sorter sammenlignet med konvensjonelle dyrkingsfelt (Brooks *et al.* 2003; Haugthon *et al.* 2003), noe som ble relatert til større mengde organisk materiale. Som et resultat av færre blomstrende ugras ble det påvist reduksjoner i forekomst av sommerfugler og bier i sukkerbete og raps, mens det i maisfelt generelt ble registrert et større antall evertebrater.

Tetthet av ugras, blomstring og frøsetting var gjennomgående lavere i åkerkanter der det ble dyrket herbicidtolerant sukkerbete og vårraps, men høyere i utkanten av felt med herbicidtolerant mais. Det ble videre påvist redusert forekomst av Lepidoptera-arter i randsonene av forsøksfelt med herbicidtolerant sukkerbete og raps sammenlignet med konvensjonelle dyrkingsfelt. Tilsvarende forskjeller ble ikke funnet i mais. Forfatterne bak FSE-undersøkelsen konkluderer med at forskjellene som ble avdekket i denne studien ikke er relatert til introduksjon av transgene planter, men til effekter av ulike sprøytestrategier mellom herbicidtolerante sorter og konvensjonell dyrking.

For å predikere langtidseffekter av dyrkingssystemer med herbicidtolerante planter på biodiversitet på og rundt landbruksarealer er det imidlertid nødvendig å undersøke potensielle effekter over flere vekstsesonger og relevante dyrkingspraksis. På bakgrunn av data fra FSE-studien har Heard *et al.* (2005) simulert effekter av herbicidtolerante sorter på populasjoner av ettårige, tofrøbladete ugrasarter.

Modellstudien inkluderte transgen bete og vårraps i vekstskifte med høstkorn i 7 fireårige omløp (28 år). Undersøkelsen predikerer en større grad av reduksjon av ugraspopulasjoner og lavere tetthet av tofrøbladete ugras i jordas frøbank i vekstskifter som inkluderer herbicidtolerante sorter sammenlignet med konvensjonell dyrkingspraksis (faktor på 0,70-0,80). I tillegg til å medføre effekter på persistensen av plantepopulasjoner, kan dette føre til nedgang i forekomsten av nøkkelarter av evertebrater som benytter plantene som fôrressurs, og arter på høyere trofinivå som fugler.

Dewar *et al.* (2003) har med utgangspunkt i to forsøksserier med glyfosattolerant sukkerbete, undersøkt om utsatt sprøytetidspunkt gir grunnlag for større biologisk mangfold ved at ugraset får anledning til å vokse over en lengre periode og dermed utgjøre en ressurs for høyere trofiske nivåer (primært insekter og fugler). De konkluderte med at utsatt sprøytetidspunkt, spesielt i kombinasjon med båndsprøyting, ga større biomasse både av ugras og insekter, og dermed potensielt større næringsrunnlag og habitat for fugler etc. For sein ugrassprøyting medførte imidlertid kraftig nedgang i avlingene av sukkerbete. Dette kan imidlertid være forbigående effekter. I en studie av Freckleton *et al.* (2004) ble det konkludert med at få av de ugrasartene som ble favorisert av utsatt sprøytetidspunkt rakk å sette frø. På lang sikt vil dermed jordas frøbank og biodiversiteten på jordbruksarealene bli redusert.

FSE-studien har vært mye kommentert, og det har vært reist flere innvendinger blant annet om valg av herbicider i de konvensjonelle kontrollgruppene og mangel på alternative dyrkingsteknikker, sprøyteteknikker og – tidspunkt (eg Amman 2005; Sanvido *et al.* 2006). I undersøkelsen ble GA-tolerant mais sammenlignet med konvensjonelle sorter som i 75 % av forsøksfeltene ble behandlet med atrazin. Valg av dette herbicidet som kontroll er en av de viktigste årsakene til resultatene som ble funnet i mais (Heard *et al.* 2003). Atrazin er et persistent jordherbicid som ble totalforbudt i EU i 2004. Det hevdes imidlertid i en seinere studie at den komparative fordelene på biodiversitet vil reduseres, men ikke elimineres (Perry *et al.* 2004).

10.3.2. Resistensutvikling

Økt bruk av enkelte bredspektrede herbicider som følge av dyrking av herbicidtolerante planter kan medføre økt seleksjonsintensitet og større sannsynlighet for resistensutvikling i ugraspopulasjoner. Utviklingen av herbicidresistens i planter påvirkes primært av seleksjonsintensitet i form av sprøytehyppighet, herbicidets virkemåte, dosering og persistens (Rognli 1994). Andre faktorer av betydning er dyrkingspraksis, vekstskifte, ugrasartenes generasjonstid, genetiske faktorer, samt relativ fitness hos resistente og følsomme genotyper.

Introduksjon av glyfosattolerante kulturplanter har ført til økt bruk av herbicider med virkestoff glyfosat, samt en økning av arealer med redusert jordarbeiding og direktesåing (bl.a. Young 2006; Cerdeira & Duke 2006). Ugrasfloraen i disse områdene viser en seleksjon av arter som har større toleranse overfor glyfosat og arter med sein oppspiring (ref. Stenrød *et al.* 2007). Dyrkingssystemer med ensidig vekstskifte og redusert jordarbeiding (pløyefri dyrking) har vist seg å medføre raskere utvikling av glyfosatresistens i ugrasfloraen (Franzén *et al.* 2007). Dette både fordi økt sprøyting gir mer effektiv seleksjon av tolerante arter, samt at en unngår den forstyrrende effekten på seleksjonsprosessen som pløying medfører ved jevnlig å bringe til overflaten ugraspopulasjoner som har vært lite utsatt for seleksjonspress (Orson 2006).

I følge en oversikt på nettstedet www.weedscience.com er det per april 2010 på verdensbasis konstatert resistens i 345 biotyper av totalt 194 ugrasarter (114 tofrøbladete, 80 enfrøbladete). Antallet tilfeller av resistente ugras har økt eksponentielt siden slutten av 70-tallet (Cerdeira & Duke 2006).

Glyfosat regnes som et lavrisiko-herbicid med hensyn på utvikling av resistens (Franzén *et al.* 2007), og det er vist at ugras i svært liten grad utvikler resistens mot herbicidet ved seleksjon i populasjoner som opprinnelig var følsomme (Netland 2010). Det første tilfellet av glyfosatresistens ble påvist i en populasjon av stivt raigras (*Lolium rigidum* L.) i Australia i 1996, etter over 20 år med omfattende

bruk av herbicidet (Powles *et al.* 1998). Fram til nå er det dokumentert resistens mot glyfosat i 18 ulike arter (www.weedscience.com). Tre av disse tilfellene er knyttet til dyrking av herbicidtolerante kulturplanter. Glyfosatresistente ugras er hovedsakelig rapportert i USA, Sør-Amerika, Sør-Afrika og Australia. I Europa er det konstatert resistens mot glyfosat i populasjoner av stivt raigras, italiensk raigras (*L. multiflorum*), sprikehamp (*Conyza bonariensis*), hestehamp (*C. canadensis*) og pyramidehamp (*C. sumatrensis*) i Spania og/eller Frankrike. I og med at arealene med glyfosattolerante kulturer er sterkt økende på verdensbasis, forventes det at det vil utvikles glyfosatresistente biotyper av andre sentrale ugrasarter de kommende årene (Powles 2008).

I Norge har det vært observert redusert effekt av glyfosatpreparater ved stubbsprøyting i korn, og mistanke om utvikling av resistens i kveke (*Elytrigia repens*). Forsøk har imidlertid hittil kun påvist forskjeller i følsomhet mellom ulike populasjoner ved sprøyting under normaldose (Tørresen & Skuterud 2004). Forfatterne bak undersøkelsen konkluderer med at ulike biotyper av kveke har ulik toleranse overfor glyfosat, dvs. variasjon i motstandskraft i området rundt normaldose, og at det ikke er snakk om resistens. Undersøkelser i Sverige har heller ikke påvist glyfosatresistens i denne arten (Åkerholm Espeby & Fogelfors 2006).

Generelt er det viktig med veksling mellom ugrasbekjempende tiltak med ulike virkemåter for å redusere risikoen for utvikling av resistens eller dominans av mer tolerante biotyper av en ugrasart (Stenrød *et al.* 2007). Med dagens utvalg av ugrasmiddel er det imidlertid et økende problem med resistensutvikling i en rekke ugrasarter overfor herbicider i sulfonyleuregruppen (Netland 2010). Denne gruppen omfatter de vanligste herbicidene som benyttes til ugrasbekjempelse i korn og mais i norsk landbruk. I henhold til Netland (2010) vil derfor glyfosat i voksende åker være en resistensbryter i ensidige kornomløp i Norge, og dermed redusere faren for resistensutvikling hos ugrasarter.

10.4. Delkonklusjon

Bruk av det virksomme stoffet glyfosat i herbicidtolerant mais vurderes ikke å medføre høyere risiko for miljø enn for allerede godkjente bruksområder.

Stor variasjon i agro-økologiske miljø, og mangel på relevante langvarige storskala feltforsøk gjør at potensielle effekter på biodiversitet av glyfosattolerant mais i Norge er vanskelig å predikere. Glyfosat vil sannsynligvis bekjempe ugraset mer effektivt enn herbicidene som er tilgjengelige til bruk i konvensjonelle sorter. Dette vil med stor sannsynlighet medføre redusert artsdiversitet på jordbruksarealer og indirekte effekter på fauna ved at næringstilgangen blir snevrere/ redusert. På den andre siden vil ugrasbekjempelsen skje på et seinere tidspunkt i vekstsesongen, og ugraset som da får stå lenger kan være en viktig næringsressurs i en periode hvor det ellers er lite levende plantemateriale tilgjengelig i åkeren.

Under norske forhold vil glyfosat i voksende åker være en resistensbryter i et ensidig kornomløp og dermed redusere faren for resistensutvikling hos ugrasarter.

11. Miljøovervåkingsplan

I følge direktiv 2001/18/EF, annekks 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 følge Monsanto identifiserer miljørisikovurderingen ingen umiddelbar, forsinket, direkte eller indirekte risiko for human eller dyrehelse eller miljø knyttet til introduksjon av *cry*- eller *cp4 epsp*-genene i maislinjen MON 88017, eller til dyrkingsregimet for den herbicidtolerante og insektsresistente maislinjen. Søker vurderer imidlertid at det er en begrenset mulighet for utvikling av resistens hos målsekter for denne transformasjonen. Det anbefales derfor særskilt overvåking av forekomst av resistens mot Cry3Bb1 som uttrykkes i MON 88017-plantene. I planen som presenteres av Monsanto er intensjonen å overvåke resistensutvikling i populasjoner av målorganismen *Diabrotica virgifera virgifera* i felt, samt minimere og forsinke eventuell resistensutvikling. Ved dyrking av mer enn 5 ha med maislinjen MON 88017 stilles det krav om refugearealer med ikke transgen mais i tilknytning til arealene med *Bt*-mais. Søker foreslår her en konservativ strategi der 20 % av dyrkingsarealene består av konvensjonell mais.

I Monsanto's plan for særskilt overvåking inngår det ikke planer for overvåking av ikke-målorganismer av *Coleoptera*. Faggruppen finner søkers dokumentasjon tilstrekkelig og ser ikke behov for særskilt overvåking med hensyn på mulige effekter på ikke-målorganismer.

For at overvåkingsplanen skal være i tråd med gjeldene regelverk er det etter Faggruppens vurdering nødvendig å evaluere kort- og langtidseffekter av dyrkingspraksis som omfatter bruk av relevant herbicid. Dette gjelder både effekter av endret jordarbeiding og av direkte og indirekte effekter av sprøyeregimet. Det er nødvendig å overvåke effekter av herbicidtolerante planter på biodiversiteten i landbrukshabitater og omkringliggende arealer. Dette gjelder både effekter på ugraspopulasjoner og arter av som lever på eller i tilknytning til dyrkingsarealer. Videre må overvåkingsplanen ta i betraktning risiko for resistensutvikling hos ugrasarter som resultat av økt bruk av bredspektrede herbicider. Særskilt overvåking skal utføres over en tidsperiode som er tilstrekkelig lang til at så vel umiddelbare og direkte virkninger som forsinkede og indirekte virkninger kan oppdages.

12. Vurdering av søkers dokumentasjon

Innspill til EFSA-net maislinje MON 88017 (EFSA/GMO/CZ/2008/54)

D. 12.03

Case-specific GM plant monitoring

The applicant concludes that potential adverse effects resulting from cultivation are negligible, including impacts of the specific cultivation techniques. Thus, a case specific monitoring is not considered to be necessary by the applicant. However, with the post emergence application of broad spectrum herbicides a fundamental change in agricultural practice takes place. This may lead to various changes in biodiversity of the agricultural landscape and adjacent habitats and may affect farmland food webs. When weed biomass and weed seed number are decreased, other organisms that depend on weeds may decrease. This effect may also transcend to higher trophic levels due to a shift in prey ability. In this sense, the consent holder should undertake field studies to monitor direct and indirect adverse effects on biodiversity where MON 88017 is cultivated. Furthermore, the expected increased use of glyphosate in the agricultural landscape may lead to an accelerated occurrence of resistance in arable weeds. Thus, the GMO Panel of the Norwegian Scientific Committee is of the opinion that the case specific monitoring plan should include monitoring of abundance and diversity of weeds.

KONKLUSJON

Dyrkingsomfanget av mais i Norge er svært begrenset, og eventuelle økologiske effekter ved introduksjon av glyfosattolerante maissorter vurderes å være ubetydelige. Bruk av glyfosat på maisarealer vil være marginal i forhold til den totale glyfosatbruken i Norge.

Bruk av det virksomme stoffet glyfosat i herbicidtolerant mais vurderes ikke å medføre høyere risiko for miljø enn for allerede godkjente bruksområder.

Stor variasjon i agro-økologiske miljø, og mangel på relevante langvarige storskala feltforsøk gjør at potensielle effekter på biodiversitet av glyfosattolerant mais i Norge er vanskelig å predikere. Glyfosat vil sannsynligvis bekjempe ugraset mer effektivt enn herbicidene som er tilgjengelige til bruk i konvensjonelle sorter. Dette vil med stor sannsynlighet medføre redusert artsdiversitet på jordbruksarealer og indirekte effekter på fauna ved at næringstilgangen blir snevrere/ redusert. På den andre siden vil ugrasbekjempelsen skje på et seinere tidspunkt i vekstsesongen, og ugraset som da får stå lenger kan være en viktig næringsressurs i en periode hvor det ellers er lite levende plantemateriale tilgjengelig i åkeren.

Under norske forhold vil glyfosat i voksende åker være en resistensbryter i et ensidig kornomløp og dermed redusere faren for resistensutvikling hos ugrasarter.

Det har ikke vært rapportert om funn av målorganismene *Diabrotica* spp. i Norge, og det har ikke vært søknader om sertifisering av insekticider mot disse herbivorene

Publiserte vitenskapelig studier viser ingen skadelige effekter av Cry3Bb1-toksinet på ikke-målartropoder som lever på eller i nærheten av maisplanter. Det vurderes ikke å være risiko for rødlistede arter i Norge. Siden det ikke er godkjente *Bt*-produkter til bruk i mais i Norge, og det ikke er registrert *Diabrotica*-arter som skadegjørere i mais, er problematikken knyttet til resistens i målorganismene ikke relevant i norsk sammenheng.

Det finnes enkeltstudier som viser små, men signifikante effekter av *Bt*-toksin og tiltenkt pesticid på jordlevende organismer og mikrobiell samfunnsstruktur i jord. De fleste studiene konkluderer imidlertid med at disse effektene er små og forbigående sammenlignet med effekter av dyrkingsmessige og miljømessige forhold. Det er kunnskapsmangler med hensyn på effekter av toksinet på vannlevende organismer. Konsentrasjonene av *Bt*-endotoksiner er imidlertid vist å være svært lave i akvatiske systemer og eventuell eksponering på disse organismene vil være marginal i Norge.

Med unntak av insektsresistens og herbicidtoleranse, viser feltforsøk i Europa og USA små eller ingen signifikante forskjeller mellom MON 88017 og konvensjonelle linjer med hensyn på agronomiske karakterer. Det vurderes ikke å være økt risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater, eller utvikling av ugraspopulasjoner av mais i dyrkingsmiljø sammenlignet med konvensjonelle sorter.

Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med, 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. En slik spredning vurderes som ubetydelig

REFERANSER

- Agbios (2010). Agbios GM Database. Information on GM Approved Products.
<http://www.agbios.com/dbase.php>
- Ahmad, A., Wilde, G.E. & Zhu, K.Z. (2005). Detectability of coleopteran-specific Cry3Bb1 protein in soil and its effect on nontarget surface and below-ground arthropods. *Environmental Entomology*, **34**, 385-394.
- Ahmad, A., Wilde, G.E., Whitworth, R.J. & Zolnerowich, G. (2006). Effect of corn hybrids expressing the coleopteran-specific Cry3Bb1 protein for corn rootworm control on aboveground insect predators. *Journal of Economic Entomology*, **99**, 1085-1095.
- Al-Deeb, M. A., & Wilde, G.E. (2003). Effect of *Bt* corn expressing the Cry3Bb1 toxin for corn rootworm control on aboveground nontarget arthropods. *Environmental Entomology*, **32**, 1164-1170.
- Al-Deeb, M. A., Wilde, G.E., Blair, J.M. & Todd, T.C. (2003). Effect of *Bt* corn for corn rootworm control on nontarget soil microarthropods and nematodes. *Environmental Entomology*, **32**, 859-865.
- Amman, K. (2005). Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*, **23**, 388-394.
- Aylor, D.E., Schultes, N.P. & Shields, E.J. (2003). An aerobiological framework for assessing crosspollination in maize. *Agriculture and Forest Meteorology*, **119**, 111-129.
- Bakken, A.K., Nesheim, L., Harbo O, Johansen, A. & Wikmark, T. (2005). Potensial for dyrking av fôrmais i Norge. *Grønn kunnskap*, **9**, 1-6.
- Bhatti, M. A., Duan, J., Head, G.P., Jiang, C.J., McKee, M.J., Nickson, T.E., Pilcher, C.L. & Pilcher, C.D. (2005a). Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera : Chrysomelidae)-protected *Bt* corn on ground-dwelling invertebrates. *Environmental Entomology*, **34**, 1325-1335.
- Bhatti, M. A., Duan, J., Head, G.P., Jiang, C.J., McKee, M.J., Nickson, T.E., Pilcher, C.L. & Pilcher, C.D. (2005b). Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera : Chrysomelidae)-protected *Bt* corn on foliage-dwelling arthropods. *Environmental Entomology*, **34**, 1336-1345.
- 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, J.L. & Nielsen, K.M. (2004). Genes without frontiers. *Heredity*, **92**, 483-489.
- Bitzer, R. J., Rice, M.E., Pilcher, C.D., Pilcher, C.L. & Lam, W.K.F. (2005). Biodiversity and community structure of epedaphic and euedaphic springtails (Collembola) in transgenic rootworm *Bt* corn. *Environmental Entomology*, **34**, 1346-1376.
- Blackwood, C.B. & Buyer, J.S. (2004). Soil microbial communities associated with *Bt* and non-*Bt* corn in three soils. *Journal of Environmental Quality*, **33**, 832-836.
- Borgaard, O.K. & Gimsing, A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science*, **64**, 441-456.

- Brookes, G., Barfoot, P., Mele, E., Messeguer, J., Benetrix, D., Foueillassar, X., Fabie, A. & Poeydomenge, C. (2004). *Genetically Modified Maize: Pollen movement and crop coexistence*. Rapport fra PG Economics. 20 s.
- Brooks, D.R., Bohan, D.A., Champion, G.T., Haugton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Woiwood, I.P., Birchall, C., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Bell, D., Browne, E.L., Dewar, A.J.G., Fairfax, C.M., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Hulmes, S.E., Mason, N.S., Norton, L.R., Nuttall, P., Randle, Z., Rossall, M.J., Sands, R.J.N., Singer, E.J. & Walker, M.J. (2003). Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I. Soil-surface-active invertebrates. *Phil. Trans. Royal Soc. Lond. Series B- Biolog. Sci.*, **358**, 1847-1862.
- Cerdeira, L.A. & Duke, O.S. (2006). Current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A review. *Journal of Environmental Quality*, **35**, 1633-1658.
- Champion, G.T., May, M.J., Brooks, D.R., Clark, S.J., Daniels, R.E., Firbank, L.G., Haugton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., Perry, J.N., Randle, Z., Rossall, M.J., Rothery, P., Skellern, M.P., Scott, R.J., Squire, G.R. & Thomas, M.R. (2003). Crop management and agronomic context of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **358**, 1801-1818.
- Clark, B.W. & Coats, J.R. (2006). Subacute effects of CryIAb Bt corn litter on the earthworm *Eisenia fetida* and the springtail *Folsomia candida*. *Environmental Entomology*, **35**, 1121-1129.
- COGEM (2008). Renewal of authorisation for import and processing of maize Bt11; GOGEM advice CGM/080523-02. Commissie Genetische Modificatie (The Netherlands Commission on Genetic Modification).
<http://www.cogem.net/ContentFiles/080523-02%20advies%20hernieuwing%20import%20mais%20Bt11%20eng.pdf>
- Cortet, J., Andersen, M.N., Caul, S., Griffiths, B.S., Joffre, R., Lacroix, B., Sausse, C., Thomson, J., Krogh, P.H. (2006). Decomposition processes under Bt (*Bacillus thuringiensis*) maize: Resulta of a multi-site experiment. *Soil Biology & Biochemistry*, **38**, 195-199.
- Cortet, J., Griffiths, B.S., Bohanec, M., Demsard, D., Andersen, M.N., Caulc, A., Birch, N.E., Pernin, C., Tabone, E., Vaufloury, A., de Keh, X. & Krogh, P.H. (2007). Evaluation of effects of transgenic Bt maize on microarthropods in a European multi-site experiment. *Pedobiologia*, **51**, 207-218.
- Crop Protection Compendium (2007). <http://www.cabicompendium.org/cpc/home.asp>
- De Vries, J. & Wackernagel, W. (2002). Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **99**, 2094-2099.
- Devos, Y., Reheul, D. & De Schrijver, A. (2005). The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. *Environmental Biosafety Research*, **4**, 71-87.
- Devos, Y., Cougnon, M., Thas, O. & Reheul, D. (2008). A method to search for optimal field allocations of transgenic maize in the context of co-existence. *Environmental Biosafety Research*, **7**, 97-104.

- 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.
- Dewar, A.M., May, M.J., Woiwod, I.P., Haylock, L.A., Champion, G.T., Garner, B.H., Sands, R.J.N., Qi, A. & Pidgeon, J.D. (2003). A novel approach to the use of genetically modified herbicide tolerant crop for environmental benefit. *Proc. R. Soc. B.*, **270**, 335-340.
- Dill, G.M., CaJacob, C.A. & Padgett, S.R. (2008). Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Management Science*, **64**, 326-331.
- DMU (2009). *Økologisk risikovurdering af genmodificerede planter I 2008. Rapport over behandlede forsøgsudsætninger og markedsføringsager*. Faglig rapport fra DMU nr. 739. 49 s.
- Douville, M., Gagne, F., Masson, L., McKay, J. & Blaise, C. (2005). Tracking the source of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab endotoxin in the environment. *Biochemical Systematics and Ecology*, **33**, 219-232.
- Douville, M., Gagne, F., Blaise, C. & André, C. (2007). Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* Bt corn *cry1Ab* gene from an aquatic environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **66**, 195-203.
- Duan, J. J., G. Head, M. J. McKee, T. E. Nickson, J. W. Martin & Sayegh, F.S. (2002). Evaluation of dietary effects of transgenic corn pollen expressing Cry3Bb1 protein on a non-target ladybird beetle, *Coleomegilla maculata*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **104**, 271-280.
- Duan, J. J., M. S. Paradise, J. G. Lundgren, J. T. Bookout, C. J. Jiang & Wiedenmann, R.N. (2006). Assessing nontarget impacts of Bt corn resistant to corn rootworms: Tier-1 testing with larvae of *Poecilus chalcites* (Coleoptera : Carabidae). *Environmental Entomology*, **35**, 135-142.
- 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
- EC (2009). Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming.
http://ec.europa.eu/agriculture/coexistence/com2009_153_en.pdf
- 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). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glufosinate. *Summary of the EFSA Scientific Report*, **27**, 1-81.
- EFSA (2006). *Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed*. 100 s.
http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html
- EFSA (2009a). Application (Reference EFSA-GMO-CZ-2005-27) for the placing on the market of the insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize MON 88017, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) N0 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal*, **1075**, 1-28.
http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902517555.htm

- EFSA (2009b). 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_Consolidated_ARG_en.pdf?ssbinary=true
- Elmegaard, N. & Bruus Pedersen, M. (2001). *Flora and Fauna in Roundup Tolerant Fodder Beet Fields*. National Environmental Research Institute. 40 pp. Technical Report No. 349.
- Emberlin, J, Adams-Groom, B. & Tidmarsh, J. (1999). *The dispersal of maize (Zea mais) pollen*. A report commissioned by the Soil Association: A National Pollen Research Unit, University College Workcester, UK.
- Escher, N., Käch, B. & Nentwig, W. (2000). Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). *Basic and Applied Ecology*, **1**, 161–169.
- Firbank, L. G., Heard, M. S., Woiwod, I. P., Hawes, C., Haughton, A. J., Champion, G. T., Scott, R. J., Hill, M. O., Dewar, A. M., Squire, G. R., May, M. J., Brooks, D. R., Bohan, D. A., Daniels, R. E., Osborne, J. L., Roy, D. B., Black, H. I. J., Rothery, P. & Perry, J. N. (2003a). An introduction to the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 2-16.
- Firbank, L. G., Perry, J. N., Squire, G. R., Bohan, D. A., Brooks, D. R., Champion, G. T., Clark, S.J., Daniels, R. E., Dewar, A. M., Haughton, A.J., Hawes, C., Heard, M S., Hill, M.O., May, M. J., Osborne, J. L., Rothery, P., Roy, D. B., Scott, R. J. & Woiwod, I. P. (2003b). The implications of spring-sown genetically modified herbicide-tolerant crops for farmland biodiversity: a commentary on the farm scale evaluations of spring sown crops.
<http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20080306073937/http://www.defra.gov.uk/environment/gm/fse/results/fse-commentary.pdf>
- Flores, S., Saxena, D. & Stotzky, G. (2005). Transgenic *Bt*-plants decompose less in soil than non-*Bt* plants. *Soil Biology & Biochemistry*, **37**, 1073-1082.
- Franzén, M., Gustafsson, K., Hallqvist, H., Niemi, L., Wallander, J, Thorin, C. & Örn, P. (2007). *The impact of herbicide tolerant crops on some environmental quality objectives. Report from the Swedish Board of Agriculture and the Swedish Environmental Protection Agency*. Jordbruksverket Report 2007:21.
- Freckleton, R.P., Stephens, P.A., Sutherland, W.J. & Watkinson, A.R. (2004). Amelioration of biodiversity impacts of genetically modified crops: predicting transient versus long-term effects. *Proc. R. Soc. B.*, **271**, 325-331.
- Givens, W.A., Shaw, D.R., Kruger, G.R., Johnson, W.G., Weller, S.C., Young, B.G., Wilson, R.G., Owen, M.D.K. & Jordan, D. (2009). Survey of tillage trends following the adoption of glyphosate-resistant crops. *Weed technology*, **23**, 150-155.
- Glare, T.R. & O'Callaghan, D. (2000). *Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety*. Wiley and Sons, Chichester. 350 p.
- Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Birch, A.N.E., Scrimgeour, C., Andersen, M.N., Cortet, J., Messéan, A., Sausse, C., Lacroix, B. & Krogh, P.H. (2005). A comparison of soil microbial community structure, protozoa and nematodes in field plots of conventional and

genetically modified maize expressing the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *Plant and Soil*, **275**, 135-146.

- Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Birch, A.N.E., Scrimgeour, C., Cortet, J., Foggo, A., Hackett, C.A. & Krogh, P.H. (2006). Soil microbial and faunal community responses to *Bt*-maize and insecticide in two soils. *Journal of Environmental Quality*, **35**, 734-741.
- Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Birch, A.N.E., Cortet, J., Andersen, M.N. & Krogh, P.H. (2007a). Microbial and microfaunal community structure in cropping systems with genetically modified plants. *Pedobiologia*, **51**, 195-206.
- Griffiths, B.S., Heckmann, L-H., Caul, S., Thompson, J., Scrimgeour, C. & Krogh, P.H. (2007b). Varietal effects of eight paired lines of transgenic *Bt* maize and near-isogenic non-*Bt* maize on soil microbial and nematode community structure. *Plant Biotechnology Journal*, **5**, 60-68.
- Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Hackett, C.A., Cortet, J., Pernin, C. & Krogh, P.H. (2008). Soil microbial and faunal responses to herbicide tolerant maize and herbicide in two soils. *Plant Soil*, **308**, 93-103.
- Gruber, S., Colbach, N., Barbottin, A., & Pekrun, C. (2008). Post-harvest gene escape and approaches for minimizing it. *Cab reviews: Perspective in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 3, No. 015, 17 pp.
- Hallauer, A.R. (2000). Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Halsey, M.E., Remund, K.M., Davis, C.A., Qualls, M., Eppard, P.J. & Berberich, S. (2005). Isolation of Maize from Pollen-Mediated gene Flow by Time and Distance. *Crop Science*, **45**, 2172-2185.
- Haughton, A.J., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M.S., Brooks, D.R., Bohan, D.A., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Woiwod, I.P., Birchall, C., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Browne, E.L., Dewar, A.J.G., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Mason, N.S., Sands, R.J.N. & Walker, M.J. (2003). Invertebrate response to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops II. Within-field epigeal and areal arthropods. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1899-1913
- Hawes, C., Haughton, A.J., Osborne, J.L., Roy, D.B. *et al.* (2003). Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1863-1877.
- Heard, M.S., Hawes, C., Champion, G.T., Clark, S.J., Firbank, L.G., Haughton, A.J., Parish, A.M., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Skellern, M.P., Squire, G.R. & Hill, M.O. (2003a). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effects on abundance and diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1819-1832.
- Heard, M.S., Hawes, C., Champion, G.T., Clark, S.J., Firbank, L.G., Haughton, A.J., Parish, A.M., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Skellern, M.P., Squire, G.R. & Hill, M.O. (2003b). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant

- crops. 2. The effects on individual species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1833-1846.
- Heard, M.S., Rothery, P., Perry, J.N. & Firbank, L.G. (2005). Predicting longer-term changes in weed populations under GMHT crop management. *Weed Research*, **45**, 331-338.
- Henriksen, B. (2006). Betydningen av dyrkingstekniske tiltak for utvikling av *Fusarium* og mykotoksiner i korn. *Bioforsk FOKUS*, **1 (3)**, 40-41.
- Hopkins, D.W. & Gregorich, E.G. (2003). Detection and decay of the *Bt* endotoxin in soil from a field trial with genetically modified maize. *European Journal of Soil Science*, **54**, 793-800.
- Hönemann, L. & Nentwig, W. (2009). Are survival and reproduction of *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae) at risk by feeding on *Bt*-maize litter? *European Journal of Soil Biology*, pre-print published online, DOI: 10.1016/j.ejsobi.2009.03.001.
- Hönemann, L., C. Zurbrugg & Nentwig, W. (2008). Effects of *Bt*-corn decomposition on the composition of the soil meso- and macrofauna. *Applied Soil Ecology*, **40**, 203-209.
- Hüsken, A., Amman, K., Messeguer, J., Papa, R., Robson, P., & Scieman, J., Squire, G., Stamp, P., Sweet, J. & Wilhelm, R. (2007). A major European synthesis of data on pollen and seed mediated gene flow in maize in the SIGMEA project. In: Stein, A. & Rodríguez-Cerezo, E. (Eds.), *Books of abstracts of the third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM-based Agricultural Supply Chains*, European Commission, pp. 53-56.
- Icoz, I. & Stotzky, G. (2007). Cry3Bb1 protein from *Bacillus thuringiensis* in root exudates and biomass of transgenic corn does not persist in soil. *Transgenic Research*, **17**, 609-620.
- Icoz, I. & Stotzky, G. (2008). Fate and effects of insect-resistant *Bt* crops in soil ecosystems. Review. *Soil Biology & Biochemistry*, **40**, 559-586.
- Icoz, I., Saxena, D., Andow, D., Zwahlem, C. & Stotzky, G. (2008). Microbial populations and enzyme activities in soil in situ under transgenic corn expressing Cry proteins from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Environmental Quality*, **37**, 647-662.
- Ingram, J. (2000). *Report on the separation distances required to ensure cross-pollination is below specific limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape*. MAFF Project No RG0123.
- Jarosz, N., Loubet, B., Durand, B., Foueillasser, X. & Huber, L. (2005). Variations in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environmental Science and Technology*, **39**, 4377-4384.
- Jung, H.G. & Sheaffer, C.C. (2004). Influence of *Bt* Transgenes on Cell Wall Lignification and Digestability of Maize Stover for Silage. *Crop Science*, **44**, 1781-1789.
- Kleter, G.A, Harris, C, Stephenson, G & Unsworth, J. (2008). Comparison of herbicide regimes and the associated potential environmental effects of glyphosate-resistant crops versus what they replace in Europe. *Pest Management Science*, **64**: 479-488.
- Koskella, J. & Stotzky, G. (2002). Larvicidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subspp, *kurstaki*, *morrisoni* (strain tenebrionis), and *israelensis* have no microbicidal or microbiostatic activity against selected bacteria, fungi, and algae in vitro. *Canadian Journal of Microbiology*, **48**, 262-267.

- Kovach, J., Petzold, C., Degni, J. & Tette, J. (1992). A method to measure the environmental impact of pesticides. *Ny Food Life Sci. Bull.*, **139**, 1-8.
- Kramarz, P., de Vaufléury, Gimbert, F., Cortet, J., Tabone, E., Andersen, M.N. & Krogh, P.H. (2009). Effects of *Bt*-maize material on the life cycle of the land snail *Cantareus asperses*. *Applied Soil Ecology*, **42**, 236-242.
- Krogh, P.H., Griffiths, B., Demsar, D., Bohanec, M., Debeljak, M., Andersen, M.N., Sausse, C., Birch, A.N.E., Caul, S., Holmstrup, M., Heckmann, L.H. & Cortet, J. (2007a). Responses by earthworms to reduced tillage in herbicide tolerant maize and *Bt* maize cropping systems. *Pedobiologia*, **51**, 219-227.
- Krogh, P.H. & Griffiths, B. (2007b). ECOGEN-Soil ecological and economic evaluation of genetically modified crops. *Pedobiologia*, **51**, 171-173.
- Krogh, P.H., Griffiths, B., Cortet, J., Andersen, M.N., Dzeroski, S., Wessler, J., Messéan, A., Sausse, C., Lacroix, B., Caul, S., Scatista, S., Nillesen, E., Bohanec, M., Debeljak, M., Demsar, D., de Vaufléury, A. & Kramarz, P. (2008). ECOGEN Final Report. Introduction and Summary. www.ECOGEN.dk.
- Kvaløy, K., Klemsdal, S.S., Eklo, O.M., Netland, J., Schanke, T. & Tømmerås, B.Å., (1998). *Konsekvenser ved bruk av herbicidresistente genmodifiserte jordbruksplanter*. NINA Oppdragsmelding 536.
- Lehman, M.R., Osborne, S.L. & Rosentrater, K.A. (2008). No differences in decomposition rates observed between *Bacillus thuringiensis* and non-*Bacillus thuringiensis* corn residue incubated in the field. *Agron J.*, **100**, 163-168.
- Li, Y., Meissle, M. & Romeis, J. (2008). Consumption of *Bt* maize pollen expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 does not harm adult green lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *PLoS ONE* **3**(8): e2909.
- Lid, J. & Lid, D.T. (2005). Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. 1230s.
- Locke, M.A., Zablotowicz, R.M. & Reddy, K.N. (2008). Integrating soil conservation practices and glyphosate-resistant crops: impacts on soil. *Pest Management Science*, **64**, 457-469.
- Lundgren, J. G. & Wiedenmann, R.N. (2005). Tritrophic interactions among *Bt* (CryMb1) corn, aphid prey, and the predator *Coleomegilla maculata* (Coleoptera : Coccinellidae). *Environmental Entomology*, **34**, 1621-1625.
- Malone, L.A. & Burgess, E.P.J. (2009). Impact of genetically modified crops on pollinators. In: Ferry, N., Gatehouse, A.M.R. (EDS.). *Environmental Impact of Genetically Modified Crops*, CAB International, pp. 199-122.
- Mattilsynet (2009). Omsetningsstatistikk for plantevernmidler 2004-2008. Mattilsynet Ås, Seksjon nasjonale godkjenninger. 11s.
http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00045/Plantevernmiddel-sta_45762a.pdf
- McManus, B. L., B. W. Fuller, M. A. Boetel, B. W. French, M. M. Ellsbury & Head, G.P. (2005). Abundance of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera : Coccinellidae) in corn rootworm-resistant Cry3Bb1 maize. *Journal of Economic Entomology*, **98**, 1992-1998.

- Meadow, R. (2007). *Expected effects and side effects of approval for the use of maize MOM 810 on target and non-target arthropods in and around maize fields in Norway*. Rapport fra Bioforsk Plantehelsetilstand. 9 s.
- Melé, E., Peñas, G., Palau-del-más, M., Serra, J., Salvia, J., Pla, M., Nadal, A. & Messeguer, J. (2007). Effect of volunteers on maize gene flow. In: Stein, A. & Rodríguez-Cerezo, E. (Eds.), *Books of abstracts of the third International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and non-GM-based Agricultural Supply Chains*, European Commission, pp. 249-250.
- Meissle, M. & Romeis, J. (2009). The web-building spider *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae) is not adversely affected by *Bt* maize resistant to corn rootworms. *Plant Biotechnology Journal*, **7**, 645–656.
- Nesheim, L. (2008). Fôrmais I Stjørdal 2007: Tilfredstillende avling med plastdekke. Nyhetsmelding. www.bioforsk.no.
- Netherwood, T., Martín-Orúe, S.M., O'Donnell, A.G., Gockling, S., Graham, J., Mathers, J.C. & Gilbert, H.J. (2004). Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nature Biotechnology*, **22**, 204-209.
- Netland, J. (2010). *Effekter på agronomi og miljø ved dyrking av genmodifisert glyfosattolerant mais*. Bioforsk Rapport, Vol. 5 xx 2010. Utkast. 7 s.
- Nielsen, K.M., van Elsas, J.D. & Smalla, K. (2000). Transformation of *Acinetobacter* sp. 13(pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Applied Environmental Microbiology*, **66**, 1237-42.
- Nielsen, K.M. (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*, **1**, 96-149.
- Nielsen, K.M. & Townsend, J. P. (2004). Monitoring and modeling horizontal gene transfer. *Nature Biotechnology*, **22**(9):1110-1114.
- 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.
- OECD (2007). Consensus Document on Safety Information on Transgenic Plants Expressing *Bacillus thuringiensis* – Derived Insect Control Proteins. *Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO) No. 14*:1-109.
- OGTR (2008). The Biology of *Zea mays* L- ssp. *mays* (maize or corn). Australian Government Office of the Gene Technology Regulator. 80 pp. [http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/maize-3/\\$FILE/biologymaize08_2.pdf](http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/maize-3/$FILE/biologymaize08_2.pdf)
- Orson, J. (2006). Weed and pest management. NJF Seminar 378 Tillage systems for the benefit of agriculture and the environment. NJF Report, **2**(4), 46-53.
- Palau-del-más, M., Peñas, G., Melé, E., Serra, J., Salvia, J., Pla, M., Nadal, A. & Messeguer, J. (2009). Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Research*, **18**, 583-594.
- Pereira, E.J.G., Lang, B.A., Storer, N.P., & Siegfried, B.D. (2008). Selection for Cry1F resistance in the

- European corn borer and cross-resistance to other Cry toxins. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **126**,115-121
- Perry, J.N., Firbank, L.G., Champion, G.T., Clark, S.J., Heard, M.S., May, M.J., Hawes, C., Squire, G.R., Rothery, P., Wolwod, I.P. & Pidgeon, J.D. (2004). Ban on triazin herbicides likely to reduce but not negate relative benefits of GMHT maize cropping. *Nature*, **428**, 313-316.
- Pokelsek, J.D., Rosi-Marshall, E.J., Chambers, C.P., Griffiths, N.A., Evans-White, M.A., Tank, J.L., Whiles, M.R. & Royer, T.V. (2007). Effects of Bt corn pollen on caddisfly growth rates in Midwestern agricultural streams. NABS Annual Meeting, Columbia, South Carolina 2007.
- Powell, J.R., Levy-Booth, D.J., Gulden, R.H., Asbil, W.L., Campbell, R.G., Dunfield, K.E., Hamill, A.S., Hart, M.M., Lerat, S, Nurse, R.E., Pauls, K.P., Sikkema, P.H., Swanton, C.J., Trevors, J.T. & Klironomos, J.N. (2009). Effects of genetically modified, herbicide-tolerant crops and their management on soil food web properties and crop litter decomposition. *Journal of Applied Ecology*, **46**, 388-396.
- Powles, S.B. (2008). Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science*, **64**, 360-365.
- Powles, S.B., Lorraine-Colwill, D.F., Dellow, J.J. & Preston, C. (1998). Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Science*, **46**, 604-607.
- Relya, R.A. (2005a). The lethal impacts of Roundup and predatoty stress on six specie dog North American tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **48**, 351-357.
- Relya, R.A. (2005b). The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications*, **15**, 618-627.
- Rognli, O.A. (1994). Økologisk risiko ved utsetting av genmodifiserte kulturplanter. *Faginno*, **2 (21)**, 81-197.
- Romeis J, Dutton A & Bigler F (2004) *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1A(b)) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, **50**, 175-183.
- Rosie-Marshall, E.J., Tank, J.L., Royer, T.V., Whiles, M.R., Evans-White, M., Chambers, C., Griffiths, N.A., Pokelsek, J. & Stephen, M.L. (2007). Toxins in transgenic crop byproducts may affect headwater stream ecosystems. *PNAS*, **104**, 16204-16208.
- Roy, D.B., Bohan, D.A., Houghton, A.J., Hill, M.O., Osborne, J.L., Clark, S.J., Perry, J.N., Rothery, P., Scott, R.J., Brooks, D.R., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M.S. & Firbank, L.G. (2003). Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crops subjected to contastion herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences*, **358**, 1879-1898.
- Rådet for plantevernmidler (2004). Møtebok fra Rådet for plantevernmidlers møte 8. juni 2004. http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6482&Main_6177=6498:0:31_2304&Content_6482=6187:1686553::0:6566:6:::0:0
- Sanders, C.J., Pell, J.K., Poppy, G.M., Raybould, A., Garcia-Alonso, M. & Schuler, T.H. (2007).

Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera : Ichneumonidae). *Biological Control*, **40**, 362-369.

- Sanvido, O., Stark, M. & Bigler, F. (2006). Ecological impacts of genetically modified crops. Experiences from ten years of experimental field research and commercial cultivation. *ART-Schriftenreihe*, **1**, 1-84.
- Sanvido, O., Widmer, F., Winzeler, M., Streit, B., Szerencsits, E. & Bigler, F. (2008). Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. *Transgenic Research*, **17**, 317-355.
<http://www.springerlink.com/content/n561562061873351/>
- Saxena, D. & Stotzky, G. (2001). *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **33**, 1225-1230.
- Saxena, D., Flores, S., & Stotzky, G. (2002). Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. *Soil Biology & Biochemistry*, **34**, 133-137.
- Saxena, D., Stewart, C.N., Altosaar, I., Shu, Q. & Stotzky, G. (2004). Larvicidal Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato, and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton, and tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, **42**, 383-387.
- Schubbert, G.W., Lettmann, C. & Doerfler, W. (1994). Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Molecular & general Genetics*, **242**, 495-504.
- Shelton, A.M., Zhao, J.K. & Roush, T.T. (2002). Economic, ecological, food safety and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. *Annual Review of Entomology*, **47**, 845-881.
- Shirai, Y. (2006). Laboratory evaluation of effects of transgenic Bt corn pollen on two non-target herbivorous beetles, *Epilachna vigintioctopunctata* (Coccinellidae) and *Galerucella vittaticollis* (Chrysomelidae). *Applied Entomology and Zoology*, **41**, 607-611.
- SIGMEA (2007). Sustainable Introduction of GM Crops into European Agriculture. Publishable Final Activity Report. http://www.inra.fr/sigmae/final_report
- SIGMEA (2009). SIGMEA WP2: conclusions relevant to GM coexistence from research on gene flow by pollen and seed.
http://www.scri.ac.uk/scri/file/EPI/SIGMEA_WP2_species_summaries_May09.pdf
- Sims, S.R. & Martin, J.W. (1997). Effect of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins Cry1A(b), Cry1A(c), CryIIA, and CryIIIA on *Folsomia candida* and *Xenylla grisea* (Insecta: Collembola). *Pedobiologia*, **41**, 412-416.
- Skaland, N. (1993). Grønnfôrvekster. Forelesningshefte, Institutt for plantekultur, NLH.
- Squire, G.R., Brooks, D.R., Bohan, D.A., Champion, G.T. *et al.* (2003). On the rational and interpretation of the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **358**, 1779-1799.
- SSB (2009). Statistikkbanken - Statistisk sentralbyrå. Avling av ymse hagebruksvekster 2008.

<http://www.ssb.no/emner/10/04/10/hagebruk/tab-2009-04-14-01.html>

- Stenrød, M., Ludviksen, G.H., Riise, G., Lundekvam, H., Almvik, M., Tørresen, K.S. & Øygarden, L. (2007). *Redusert jordarbeiding og glyfosat. En sammenstilling av norske og internasjonale forsknings- og overvåkingsresultater, samt en småskala feltstudie av avrenning av glyfosat ved ulik jordarbeiding*. Bioforsk Rapport 2 (145) 87 s.
- Strandberg, B. & Bruus Pedersen, M. (2002). *Biodiversity in Glyphosate Tolerant Fodder Beet Fields- Timing of herbicide application*. NERI Technical Report No. 410.
- Strandberg, B., Bruus Pedersen, M., & Elmegaard, N. (2005). Weed and arthropod populations in conventional and genetically modified herbicide tolerant fodder beet fields. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **105**, 243-253.
- Tabaschnik, B.E., Gassmann, A., Crowder, D.W. & Carrière, Y. (2008). Insect resistance to *Bt* crops: evidence versus theory. *Nature Biotechnology*, **26**, 199-208.
- Tolstrup, K., Andersen, S.B., Boelt, B., Buus, M., Gylling, M., Holm, P.B., Kjellson, G., Pedersen, S., Østergård, H. & Mikkelsen, S.A. (2003). Report from the Danish working group on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops. DIAS report Plant Production no. 94, Fredriksberg Boktryk, Denmark. 275 p.
- Treu, R. & Emberlin, J. (2000). *Pollen dispersal in the crops maize (Zea mays), oil seed rape (Brassica napus ssp- oleifera), potatoes (Solanum tuberosum), sugar beet (Beta vulgaris ssp.vulgaris) and wheat (Triticum aestivum). Evidence from publications*. A report from the Soil Association, January 2000.
- Tørresen, K.S. & Skuterud, R. (2004). Hvorfor virker glyfosat noen ganger dårlig på kveka – er kveka blitt resistant? *Grønn Kunnskap*, **8**, 339-346.
- Van de Wiel, C.C.M. & Lotz, L.A.P. (2006). Outcrossing and coexistence of genetically modified with (genetically) unmodified crops: a case study of the situation in the Netherlands. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **54**, 17-35.
- Vercesi, M.L., Krogh, P.H. & Holmstrup, M. (2006). Can *Bacillus thuringiensis* (Bt) corn residues and Bt-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*? *Applied Soil Ecology*, **32**, 180-187.
- Vettori, C., Paffetti, D., Saxena, D., Stotzky, G. & Giannini, R. (2003). Persistence of toxins and cells of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* introduced in sprays to Sardinia soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **35**, 1635-1642.
- VKM (2005a). *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 (2005b). *Vurdering av bruk av plantevernmidlet Roundup Max med hensyn på risiko for effekter av POEA på amfibier. Uttalelse fra Faggruppe for plantehelse, plantevernmidler og rester av plantevernmidler i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 5.07.05*. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.

- VKM (2006). *Vurdering av foreslåtte virkemidler for sameksistens mellom genmodifiserte vekster og konvensjonelt/økologisk landbruk, og rangering av spredningsrisiko av transgener fra relevante genmodifiserte planter som kan dyrkes i Norge. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 21.12.06. (06/305). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.*
- VKM (2007). *Risikovurdering av genmodifisert åkermais MON 88017 (EFSA/GMO/CZ/2005/27). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 10.04.07. (07/305). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=RiskList_6303&Main_6177=6504:0:31,2365:1:0:0:::0:0&Content_6504=6508:0:31,2625:1:0:0:::0:0&Content_6508=6303:0:31,2315-1,2625-1:1:0:0:::0:0&RiskList_6303=6187:1684419::1:6300:6:::0:0*
- VKM (2009). *Uttalelse om bruk av glyfosat i genmodifisert mais og sukkerbete medfører høyere risiko for helse og/eller miljø enn bruk i allerede godkjente bruksområder. Uttalelse fra Faggruppe for plantevernmidler 23. juni 2009. (09/205). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6482&Main_6177=6498:0:31,2304:1:0:0:::0:0&Content_6482=6187:1686553::1:6566:3:::0:0*
- Young, B.G. (2006). Changes in herbicide use patterns and production practices resulting from glyphosate-resistant crops. *Weed Technology*, **20**, 301-307.
- Zablotowicz, R.M. & Reddy, K.N. (2004). Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: A mini-review. *Journal of Environmental Quality*, **33**, 825-831.
- Zablotowicz, R.M. & Reddy, K.N. (2007). Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate-resistant soybean. *Crop Protection*, **26**, 370-376.
- Zeilinger, A., Andow, D., Zwahlen, C. & Stotzky, G. (2010). Earthworm populations in a northern U.S. Cornbelt soil are not affected by long-term cultivation of Bt maize expressing Cry1Ab and Cry3Bb proteins. *Soil Biology and Biochemistry*. *In press*.
- Zurbrugg, C., Hönemann, L., Meissle, M., Romeis, J. & Nentwig, W. (2010). Decomposition dynamics and structural plant components of genetically modified Bt maize leaves do not differ from leaves of conventional hybrids. *Transgenic Research*, **19**, 257-267.
- Zwahlen, C., Hilbeck, A., Gugerli, P. & Nentwig, W. (2003a). Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Molecular Ecology*, **12**, 765-775.
- Zwahlen, C., Hilbeck, A., Howald, R. & Nentwig, W. (2003b). Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Molecular Ecology*, **12**, 1077-1086.
- Åkerholm Espeby, L. & Fogelfors, H. (2006). *Utveckling av herbicidresistens ogräs i Sverige – identifiering och omfattning. Slutrapport 2006*. Institutionen för växtproduktions-ekologi vid Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

VEDLEGG I

Uttalelse om bruk av glyfosat i genmodifisert mais og sukkerbete medfører høyere risiko for helse og/eller miljø enn bruk i allerede godkjente bruksområder. Faggruppe for plantevernmidler i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 23. juni 2009.