



VKM Report 2016: 19

## Endelig helse og miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid MON 863 x NK 603

**Helse- og miljørisikovurdering av insektsresistent og herbicidtolerant  
genmodifisert maishybrid MON 863 x NK 603 til mat, fôr, import og prosessering  
under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/UK/2004/06)**

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

Rapport fra Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) 2016: 19  
Endelig helse og miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid MON 863 x NK 603.

Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet  
21.04.2016

ISBN: 978-82-8259-209-3

Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM)

Postboks 4404 Nydalen

N – 0403 Oslo

Telefon: 21 62 28 00

Epost: [vkm@vkm.no](mailto:vkm@vkm.no)

[www.vkm.no](http://www.vkm.no)

[www.english.vkm.no](http://www.english.vkm.no)

**Nøkkelord :** Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maishybrid MON 863 x NK 603, EFSA/GMO/UK /2004/06, insektresistens, herbicidtoleranse, glyfosat, Cry3Bb1, NPTII, CP4-EPSPS, helse og miljørisiko, forordning 1829/2003/EF, direktiv 2001/18/EF VKM (2013) ISBN: 978-82-8259-209-3, Oslo, Norge. Endelig helse og miljørisikovurdering, Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

## **Bidragstere**

Den som utfører arbeid for VKM, enten som oppnevnt medlem 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:**

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

### **Koordinatorer fra sekretariatet:**

Merethe Aasmo Finne, Ville Erling Sipinen

# Innholdsfortegnelse

<b>Sammendrag .....</b>	<b>6</b>
<b>Forkortelser og ordforklaringer .....</b>	<b>10</b>
<b>Bakgrunn .....</b>	<b>14</b>
<b>Oppdrag fra Mattilsynet .....</b>	<b>15</b>
<b>Risikovurdering .....</b>	<b>17</b>
<b>1 Innledning .....</b>	<b>17</b>
<b>2 Molekylær karakterisering .....</b>	<b>18</b>
2.1 Hybridproduksjon.....	18
2.2 Evaluering av foreldrelinjer .....	19
2.2.1 Foreldrelinje MON 863 .....	19
2.2.2 Foreldrelinje NK 603 .....	23
2.2.3 Delkonklusjon .....	26
2.3 Hybriden MON 863 x NK 603 .....	27
2.4 Konklusjon .....	29
<b>3 Komparative analyser .....</b>	<b>30</b>
3.1 Valg av komparator og forsøksdesign .....	30
3.1.1 Analyser av ernæringsmessige komponenter .....	30
3.2 Agronomiske karakterer.....	33
3.3 Konklusjon .....	33
<b>4 Helserisikovurdering .....</b>	<b>34</b>
4.1 Produktbeskrivelse og tiltenkte bruksområder.....	34
4.2 Effekt av prosessering .....	34
4.3 Toksikologi.....	34
4.3.1 Toksikologisk vurdering av de uttrykte proteinene Cry3Bb1, NPTII og CP4 EPSPS 34	
4.3.1.1 Degradering av NPTII, Cry3Bb1 og CP4 EPSPS i fordøyelsesvæske .....	34
4.3.1.2 Akutt oral toksisitet.....	35
4.3.2 Toksikologisk vurdering av MON 863 x NK 603 i hel mat/fôr.....	35
4.3.2.1 Fôringforsøk med rotter:.....	35
4.4 Allergenitet .....	35
4.4.1 Adjuvans (fremming av immunreaksjon mot andre stoffer) .....	35
4.5 Ernæringsmessig vurdering.....	36
4.5.1 Fôringforsøk med broiler.....	36

4.6	Konklusjon .....	37
<b>5</b>	<b>Miljøriskovurdering .....</b>	<b>38</b>
5.1	Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen.....	38
5.2	Potensiale for genoverføring .....	39
5.3	Horisontal genoverføring (HGT).....	39
5.3.1	Vertikal genoverføring.....	41
5.4	Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer .....	42
5.5	Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer .....	42
5.6	Konklusjon .....	43
<b>6</b>	<b>Overvåking .....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>Kunnskapshull.....</b>	<b>45</b>
<b>8</b>	<b>Konklusjoner .....</b>	<b>46</b>
<b>9</b>	<b>Referanser.....</b>	<b>49</b>

# Sammendrag

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

Den genmodifiserte maishybriden MON 863 x NK 603 fra Monsanto Company ble godkjent i EU til import, videreforedling og bruk som mat og fôr under forordning 1829/2003 i 2010 (søknad EFSA/GMO/UK/2004/06). I forbindelse med EFSA's offentlige høring av søknaden vurderte VKM maishybriden med hensyn på mulig helserisiko i 2005 (VKM 2005a).

Helse- og Miljørisikovurderingen av MON 863 x NK 603 er basert på uavhengige vitenskapelige publikasjoner og dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside EFSA GMO Extranet. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i forordning 1829/2003/EF, utsettingsdirektiv 2001/18/EF (vedlegg 2,3 og 3B) og veiledende notat til Annex II (2002/623/EF), samt prinsippene i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledete næringsmidler (EFSA 2006, 2010, 2011) og Organisasjonen for økonomisk samarbeid og utvikling (OECD) konsensusdokumenter for mais (OECD 2002, 2003) lagt til grunn for vurderingen..

Den vitenskapelige risikovurderingen av MON 863 x NK 603 omfatter molekylær karakterisering av transformasjonsprosessen, vektorkonstruksjonen(e), genuttrykk, nedarving og stabilitet av transgenene, komparative analyser av agronomiske og fenotypiske egenskaper, næringsmessige vurderinger, toksikologi og allergenitet, utilsiktede effekter, potensialet for genoverføring, fitness, effekter på målorganismer og ikke-målorganismer og biogeokjemiske prosesser. Det presiseres at VKMs mandat ikke omfatter vurderinger av etikk, bærekraft og samfunnsnytte, i henhold til kravene i den norske genteknologiloven og dens konsekvensutredningsforskrift. Disse aspektene blir derfor ikke vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer.

Maishybriden MON 863 x NK 603 er resultat av konvensjonelle kryssinger mellom foreldrelinjene MON 863 og NK 603.

Foreldrelinje MON 863 er produsert ved biolistisk transformasjon av den innavlete maislinjen A634, og inneholder et modifisert *cry3Bb1*-gen fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Cry3Bb1-proteinet som uttrykkes gir plantene toleranse mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. Maislinjen inneholder også antibiotikaresistensmarkørgenet *nptII*, som uttrykker resistens mot aminoglykosider som kanamycin og neomycin.

Foreldrelinje NK 603 uttrykker CP4-EPSPS-proteiner, som et resultat av introduksjon av *cp4-epsps*-genet fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt i nærvær av N-fosfonometyl glycin (glyfosat). De transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av herbicider med virkestoffet glyfosat sammenlignet med konkurrerende ugras.

### **Molekylær karakterisering**

Southern analyser viser at de rekombinante gensekvensene som er satt inn i maislinjene MON 863 og NK 603 er bevart i den kryssede maishybriden MON 863 x NK 603. Genetisk stabilitet av de innsatte sekvensene har tidligere blitt vist for MON 863 og NK 603. Nivåene av uttrykt Cry3Bb1- og CP4 EPSPS- protein målt i korn og vegetativt vev fra mais MON 863 x NK 603 samsvarer med nivåene målt i de respektive foreldrelinjene. Nivået av NPTII-protein var under deteksjonsgrensen for analysene. VKMs faggruppe for GMO anser den molekylære karakteriseringen av mais MON 863 x NK 603 som tilfredsstillende.

### **Komparative analyser**

Komparative analyser av mais MON 863 x NK 603 og konvensjonell kontroll ble utført av søker under feltforsøk i Argentina vekstsesongen 2002-2003. Tretten konvensjonelle maissorter var inkludert i feltforsøkene og brukt som referanser. Med unntak av små variasjoner, insekts-resistens og herbicidtoleransen mediert av Cry3Bb1 og CP4 EPSPS - proteinene, viste resultatene ingen biologisk relevante forskjeller mellom maishybriden MON 863 x NK 603 og konvensjonell kontroll.

Basert på gjennomgangen av tilgjengelige data konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON 863 x NK 603 er vesentlig lik konvensjonell kontroll med hensyn til næringsstoffsammensetning og agronomiske og fenotypiske egenskaper, med unntak av de nye proteinene.

## Helserisikovurdering

En fôringsstudie utført på broilere indikerer ikke helseskadelige effekter av mais MON 863 x NK 603, og studien viser at den er ernæringsmessig lik konvensjonell mais. Proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII viser ingen relevante sekvenslikheter med andre kjente toksiner eller IgE-avhengige allergener, og er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON 863 x NK 603 er ernæringsmessig lik konvensjonell mais, og at det er lite sannsynlig at proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII vil føre til økt risiko for toksiske eller IgE-medierte allergiske reaksjoner fra mat eller fôr basert på mais MON 863 x NK 603 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

## Miljørisiko

### Antibiotikaresistens

Maishybrid MON 863 x NK 603 inneholder antibiotikasresistensmarkørgenet *nptII*.

Faggruppen konkluderer med at risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra maishybrid antas å være lav. Dette grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av bakterier etter sjeldne tilfeller av horisontal genoverføring (HGT) fra plante til bakterie. I tillegg er det variabel forekomst av andre aminoglykosid-resistens determinanter i relevante bakteriepopulasjoner.

Det påpekes videre store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt. Det påpekes også at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter (bakterier som har tatt opp og inkorporert *nptII*-genet i eget genom) derfor ikke kan utelukkes.

### Øvrig miljørisiko

Søknad EFSA/GMO/UK/2004/06 gjelder godkjenning av maishybrid MON 863 x NK 603 til import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maisen.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 x NK 603 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.



## Samlet vurdering

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO, at maishybriden MON 863 x NK 603 er vesentlig lik konvensjonell kontroll med hensyn til næringsstoffsammensetning og ernæringsmessige, agronomiske og fenotypiske egenskaper, med unntak av de nye proteinene. Det lite sannsynlig at proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII vil føre til økt risiko for toksiske eller IgE-medierte allergiske reaksjoner fra mat eller fôr basert på mais MON 863 x NK 603 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner knyttet til husdyrproduksjon forårsaket av eventuell spredning av *nptII*-genet fra MON 863 x NK 603 antas av faggruppen å være lav. Det påpekes store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på naturlig forekomst av *nptII*-genet i Norge. En positiv seleksjon av eventuelle sjeldne transformanter (bakterier som har tatt opp og inkorporert *nptII*-genet fra mais MON 863 x NK 603 i eget genom) kan derimot ikke utelukkes ettersom neomycin brukes i norsk landbruk. Forekomsten av slike sjeldne transformante bakterier må også ses i sammenheng med den naturlige forekomsten av *nptII*-genet og andre antibiotikaresistensgener som allerede eksisterer blant bakteriepopulasjoner i relevante norske miljøer.

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer finner det lite trolig at den omsøkte bruken av mais MON 863 x NK 603 vil medføre endret risiko for miljøet for øvrig i forhold til konvensjonell mais.

**Nøkkelord:** Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maishybrid MON 863 x NK 603, EFSA/GMO/UK /2004/06, insektresistens, herbicidtoleranse, glyfosat, Cry3Bb1, NPTII, CP4-EPSPS, helse og miljørisiko, forordning 1829/2003/EF, direktiv 2001/18/EF

# Forkortelser og ordforklaringer

Allel	Et bestemt gen kan foreligge i ulike varianter (alleler). Allelene kan være dominante (bestemmende for fenotypen) eller recessive (vikende).
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 sykdomsresistens, til elitelinjer av både kryssbefruktede og selvpollinerte arter.
	Gjentatte tilbakekryssinger reduserer det genetiske bidraget, som uønskede alleler fra den andre donorplanten.
	BC <sub>1</sub> , BC <sub>2</sub> etc: betegnelse på 1. og 2. tilbakekryssingsgenerasjon, etc.
BLASTn	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av nukleotidsekvenser.
BLASTP	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av aminosyresekvenser i proteiner.
BLASTx	Algoritme som benyttes for oversetting fra kodende nukleotidsekvenser til aminosyresekvenser.
bp	Basepar i DNA
<i>B.t.</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 versjon av enzymet 5-enolpyruvylsukinat-3-fosfatsyntetase EPSPS, essensielt i syntesen av aromatiske aminosyrer i planter
<i>cp4 epsps</i>	DNA-sekvensen fra <i>Agrobacterium</i> sp. stamme CP4, som koder for CP4 EPSPS-enzymet, som ikke inaktiveres av virkestoffet glyfosat i bredspektrede ugressmidler som f.eks. Roundup.
Cry	Krystallprotein fra <i>Bacillus thuringiensis</i>
Cry3Bb1	δ-endotoksin, som gir plantene resistens mot angrep fra bladbiller i slekten <i>Diabrotica</i> .

DG JRC-EURL	Directorate-General Joint Research Centre - European Union Reference Laboratory.
DNA	Deoxyribonukleinsyre (DNA)
Dominant allel	Et allel som uttrykker samme fenotype, uavhengig av om allelene i genparet er like (homozygot) eller ulike (heterozygote).
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FAO	Food and Agriculture Organization, FNs organisasjon for ernæring og landbruk.
FIFRA	US EPA Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. USAs føderale lov om insektdrepende midler, soppdrepende midler og midler mot skadedyr.
Fitness	Et individs relative evne til å føre sine gener/alleler videre til kommende generasjoner.
GLP	Good Laboratory Practices, retningslinjer for godt laboratoriearbeid.
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
HGT	Horisontal genoverføring
Konstitutiv	Cellulær produksjon av et molekyl med konstant hastighet og som ikke reguleres av indre og ytre stimuli.
Konstitutivt gen	Et gen hvis aktivitet bare avhenger av hvordan promoteren til genet binder RNA polymerase.
Lokus	Spesifikk posisjon på kromosomet der et gen er lokalisert.
MALDITOF	Massespektrometrimetode for å måle molekylvekt til peptider
MDIR	Miljødirektoratet
Mendelsk nedarving	Lovmessig nedarvingsmønster ved ulike typer kryssinger.
MT	Mattilsynet
Northern blot	Teknikk for overføring av RNA til en membran for påvisning av uttrykte RNA-sekvenser.

NPTII	Neomycin phosphotransferase II
<i>nptII</i>	DNA- sekvens som koder for enzymet neomycin phosphotransferase II
Nær-isogen linje	Linjer eller sorter som er genetisk identiske, med unntak av ett lokus eller kromosomsegment
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
ORF	Open Reading Frame (åpen leseramme)
OSWP	Overseason whole plant
PCR	Polymerase chain reaction. Polymerase kjedereaksjon. Metode for å syntetisere et stort antall kopier av en DNA-sekvens vha primere.
RNA	Ribonukleinsyre
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat (SDS)-polyakrylamidelektroforese. Elektroforesemetode for separasjon av proteiner.
Southern blot	Teknikk for overføring av DNA til en membran for videre studier av overførte DNA-sekvenser.
T-DNA	DNA fra Ti-plasmidet som er i jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmidet (Transfer-DNA) overføres fra bakterien, og settes inn i plantecellenes kjernegenom. T-DNAet som overføres avgrenses av V (venstre) og H (høyre) flankesekvenser, og begrenser derfor den delen av Ti-plasmidet som overføres og gjør at resten av vektoren ikke blir satt inn i plantekromosomene.
USDA	United States Department of Agriculture
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USAs miljøvernmyndigheter

Utviklingsstadier hos mais:

Vegetative stadier

VE: oppspiring

V1: 1. blad

V2: 2. blad

V(n): n'te blad

VT: synlige hannblomsterstand (tassel)

Reproduktive stadier

R1: synlige hunnblomster  
R2: 'blister'  
R3: melkemosning  
R4: deigmosning  
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

# Bakgrunn

Den genmodifiserte maishybriden MON 863 x NK 603 (Unik kode MON-ØØ863-5 x MON-ØØ6Ø3-6) fra Monsanto Company ble søkt godkjent til import, prosessering, og som mat og fôr under forordning 1829/2003/EF i 2004 (EFSA/GMO/UK/2004/06). Søknaden ble fremmet og anbefalt av belgiske myndigheter i november 2004, og funnet komplett og lagt ut på offentlig høring på EFSA's GMO Extranet 4.01.2005. EFSA's helse- og miljørisikovurdering av maishybriden ble publisert 6. juli 2005 (EFSA 2005), og søknaden godkjent 2. mars 2010 (Kommisjonsbeslutning 2010/141/EU).

I forbindelse med EFSA's offentlige høring av søknad EFSA/GMO/UK/2004/06 i 2005, vurderte VKM maishybriden MON 863 x NK 603 med hensyn på mulig helserisiko (VKM 2005a). Endelig miljørisikovurdering av MON 863 x NK 603 ble utført av VKM i 2013 (VKM 2013)

Utenfor EU/EØS-området er MON 863 x NK 603 godkjent for alle bruksområder (inkludert dyrking) i Japan (CERA 2013). I tillegg er maislinjen godkjent for omsetning som mat og/eller fôr i Sør-Korea, Taiwan og Filippinene.

# Oppdrag fra Mattilsynet

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

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

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

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

VKM er også bedt om å vurdere den landbruksrelaterte miljørisikoen for genmodifiserte planter i de tilfeller søknaden gjelder en art som er relevant for dyrking i Norge. Avhengig av hvilket bruksområde de genmodifiserte plantene søkes godkjent for, gjelder oppdraget miljørisiko knyttet til import, transport, videreforedling/prosessering og dyrking.

Ved søknader om dyrking skal følgende vurderes: (i) Miljørisiko som følge av andre, nye egenskaper i den genmodifiserte planten enn i dagens sortsmateriale og (ii) Miljørisiko som følge av endret dyrkingspraksis ved dyrking av den genmodifiserte planten (bl.a. plantevernmiddelbruk og jordarbeiding) i forhold til dagens vanlige driftsopplegg. Dette gjelder både direkte og sekundære effekter av endret dyrkingspraksis.

Hvis søknaden omfatter dyrking, er VKM videre bedt om å vurdere risiko knyttet til sameksistens. Dette omfatter potensialet for spredning av transgener til arealer og avlinger

fra arealer der det ikke dyrkes genmodifiserte planter, utvikling av ugraspopulasjoner, samt spredning til ville populasjoner av samme art eller nærstående arter utenfor dyrking. Vurderingen skal også inkludere risiko ved bruk av aktuelle virkemidler som har til hensikt å muliggjøre sameksistens. Vurderingen skal omfatte tiltak eller operasjoner som pågår fram til og med høsting. VKM skal bare vurdere sameksistens når søknaden gjelder en art som er relevant for dyrking i Norge.

Vurderinger av søkers overvåkingsplaner er ikke en del av Mattilsynets oppdrag.



# Risikovurdering

## 1 Innledning

Helse og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maishybriden MON 863 x NK 603 er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAs nettside EFSA GMO Extranet. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. MON 863 x NK 603 er risikovurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området, og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i matloven og genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser, lagt til grunn for vurderingen.

Faggruppen har vedtatt å benytte EFSAs retningslinjer som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSAs veiledningsdokumenter for risikovurdering av genmodifiserte planter og avledede næringsmidler og fôrvarer (EFSA 2006, 2010, 2011).

### **Beskrivelse av egenskaper og virkningsmekanismer**

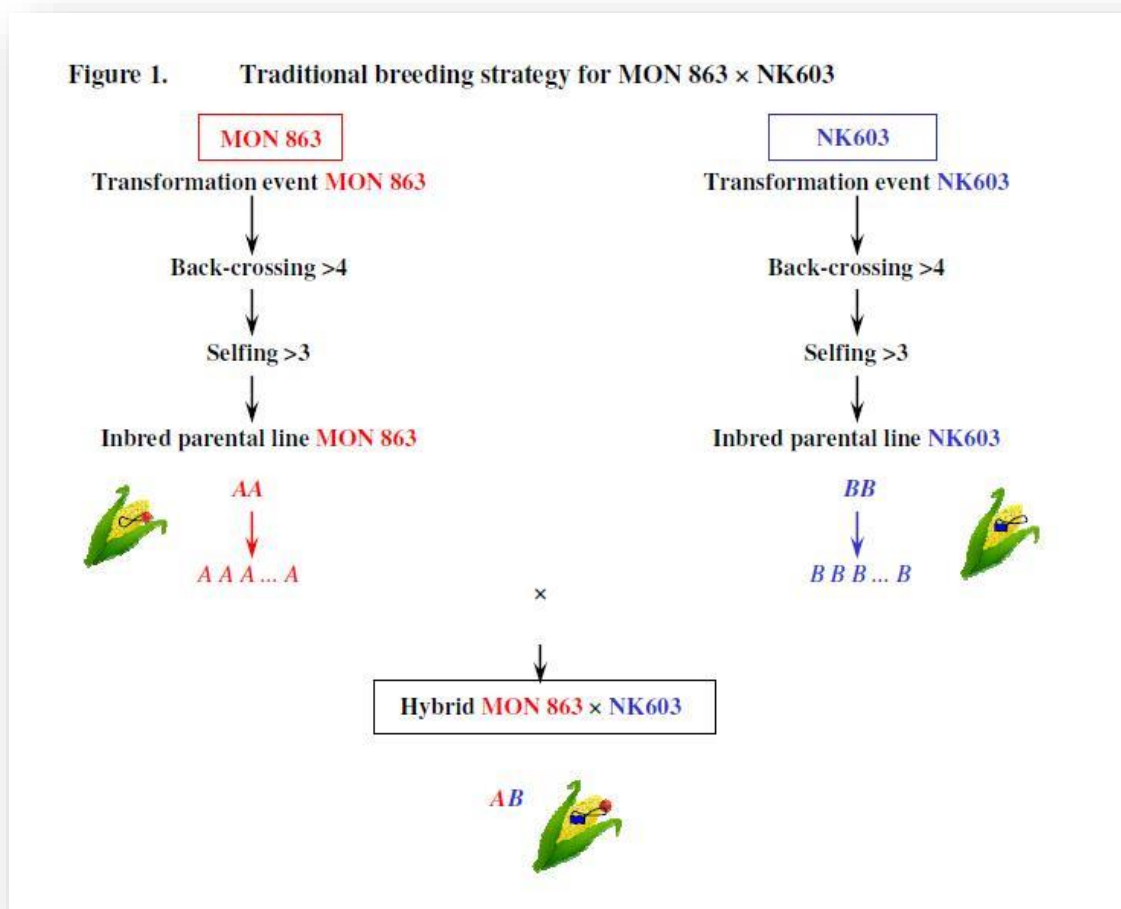
Foreldrelinjen MON 863 er produsert ved biolistisk transformasjon (partikkelakselerasjon) av kallusvev fra den innavlete maislinjen A634. Linjen har vært mye benyttet i produksjon av konvensjonelle hybridsorter i USA. Den innsatte genkonstruksjonen inneholder *cry3Bb1*-genet fra jordbakterien *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Uttrykket av *cry*-genet kontrolleres av en modifisert utgave av *CaMV 35 S* promotoren (4-AS1) fra blomkålmosaikkvirus. *Cry3Bb1*-genet koder for et  $\delta$ -endotoksin, som gir plantene toleranse mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. Maislinjen inneholder også antibiotikaresistensmarkørgenet *nptII* fra *E. coli*, under kontroll av promotoren *CaMV 35 S*. *NptII* koder for enzymet neomycin fosfotransferase II, og gir resistens mot aminoglykosidantibiotika som kanamycin og neomycin. Genet er introdusert som seleksjonsmarkør for identifikasjon av transformanter under regenerasjonen.

Foreldrelinje NK 603 uttrykker CP4-EPSPS-proteiner, som er resultat av introduksjon av *cp4-epsps*-genet fra jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Genet koder for enzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. I motsetning til plantens enzym er det bakterielle enzymet også aktivt ved nærvær av N-fosfonometyl glycin (glyfosat). De transgene plantene vil derfor tolerere høyere doser av herbicider med virkestoff glyfosat sammenlignet med konkurrerende ugras.

## 2 Molekylær karakterisering

### 2.1 Hybridproduksjon

Hybridforedling er den dominerende foredlingsstrategien i konvensjonell foredling og sortsutvikling i mais i dag. Metodikken innebærer utvikling av innavlede, tilnærmet homozygote foreldrelinjer, som så krysses for produksjon av F1-hybridfrø. Dette gir ensartede og produktive sorter (heterosiseffekt). Den transgene hybriden MON 863 x NK 603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom maislinjene MON 863 og NK 603 (figur 1).



Figur 1. Kryssingsskjema for maishybriden MON 863 x NK 603.

## 2.2 Evaluering av foreldrelinjer

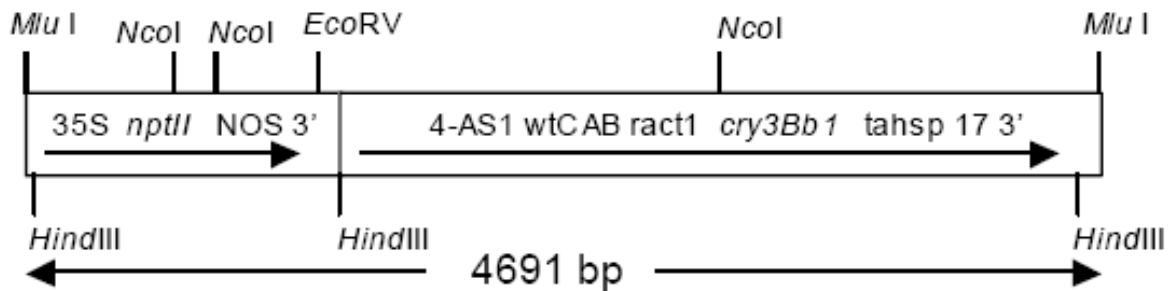
### 2.2.1 Foreldrelinje MON 863

#### Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

MON 863 inneholder et rekombinant DNA-fragment på 4691 basepar fra PV-ZMIR13-plasmidet. DNA-fragmentet inkluderer to ekspresjonskassetter. Ekspresjonskassetene inneholder henholdsvis ett *cry3Bb1*-gen med regulatoriske områder og ett *nptII*-gen med regulatoriske områder (tabell 1, figur 2).

#### Cry3Bb1- og *nptII*-ekspresjonskassetene inneholder følgende DNA-elementer:

- CaMV *e35s* promotor,
- *nptII* åpen leseramme som koder for proteinet NPTII,
- trunkert *ble* (150 basepar) og *NOS* 3'-termineringsekvens for transkripsjon,
- 4*ASI* 4 tandemkopier av ASI (modifisert *35s* promotor),
- *wtCAB* 5'-mRNA-ledersekvens fra hvete, klorofyll a/b protein,
- *rac1* intron fra ris, aktin 1 gen,
- *cry3Bb1 ORF*, som koder for Cry3Bb1-proteinene,
- *tahsp17* 3'-polyadeninsekvens fra hvete *hsp17.3* gen som avslutter ekspresjonen.



Figur 2. Illustrasjon av det rekombinante DNA-fragment i genomet til maislinjen MON 863.

## **Karakterisering av geninnsettingen og det rekombinante DNA-fragmentet**

Det er foretatt en rekke undersøkelser av antall kopier av ekspresjonskassetten og antall insersjonssteder i genomet. Videre er det foretatt sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettingsstedet (5'- og 3'-flankesekvenser). I tillegg er integriteten til ekspresjonskassene i genomet, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn, og fravær av annet transformasjonsplasmid DNA i MON 863 vurdert.

Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten i MON 863. Sammenlignende DNA-analyser mellom MON 863 og ikke-transgen hybridlinje MON864 (A1xA634) viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt.

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

I henhold til dokumentasjon fra søker er nivået av uttrykk av Cry3Bb1-protein målt i prøver av hel plante, blad, røtter, og frø fra fire feltforsøk i USA vekstsesongen 1999. I tillegg ble konsentrasjon av Cry3Bb1 målt i hunnblomster (arrene) fra forsøk i USA og Argentina, mens toksinnivået i pollen ble målt i plantemateriale fra tre lokaliteter i Argentina. Nivået av Cry3Bb1-protein varierte mellom 10 og 81 µg/g ferskvekt, avhengig av utviklingsstadium og vevstype. Konsentrasjonen av proteinet i blad, hel plante og rotvev ble redusert utover i vekstsesongen, og var i gjennomsnitt 81 µg/g i unge blad, 70 µg/g i frø, 41 µg/g i røtter, 39 µg/g i hel plante og 62 µg/g i pollen.

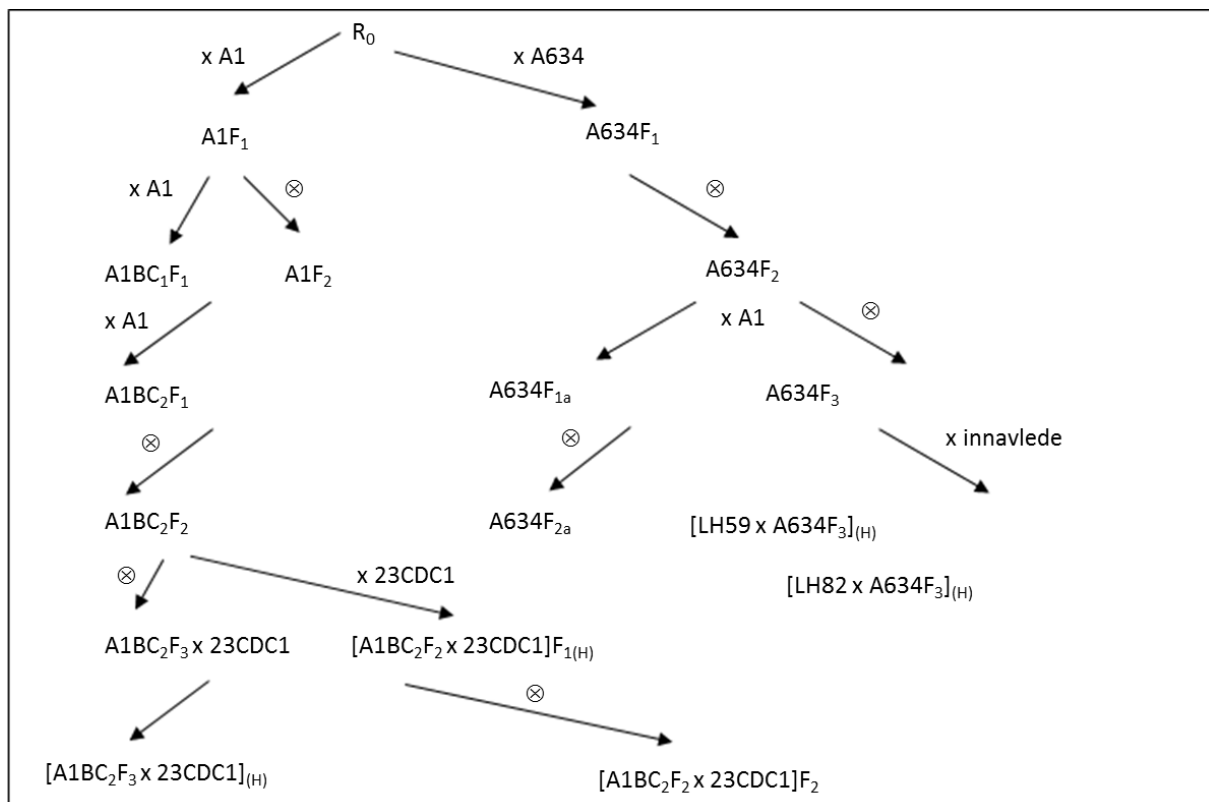
Uttrykk av NPTII ble målt i unge blad, hel plante og frø av MON 863, og varierte fra ikke detekterbar (< 0,076 µg/g) til 1,4 µg/g ferskvekt.

Tabell 1. Genelementer fra plasmid PV-ZMIR13, som er satt inn i genomet til MON 863.

Genetic Element	Size (kb)	Function
<b><i>cry3Bb1</i> gene cassette:</b>		
4-AS1	0.22	Promoter for the <i>cry3Bb1</i> gene in MON863 corn. The promoter consists of four tandem repeats of activating sequence-1 (AS1)(Lam and Chua 1990) and a single portion of the 35S promoter (Odell et al 1985) both derived from cauliflower mosaic virus (CaMV). AS1 is a 21 base pair element associated with the 35S promoter, which has been linked with high levels of protein expression in roots (Lam et al 1989).
wt CAB	0.06	The 5' non-translated leader sequence of the wheat chlorophyll a/b binding protein. This leader sequence facilitates mRNA translation (Lamppa et al 1985).
act 1 intron	0.49	The first intron from the rice actin 1 gene, which enhances DNA transcription (McElroy et al 1990).
<i>cry3Bb1</i>	1.96	The coding sequence for the Cry3Bb1 variant protein produced in <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i> .
thsp 17 3'	0.23	The 3' nontranslated region of the coding sequence for wheat heat shock protein 17.3, which ends transcription and directs polyadenylation (McElwain and Spiker 1989).
<b>Selectable marker:</b>		
35S	0.35	The 35S promoter from CaMV (Odell et al 1985).
<i>nptII</i>	0.97	Coding sequence for gene encoding the enzyme neomycin phosphotransferase II from <i>Escherichia coli</i> transposon Tn5 (Beck et al 1982). The DNA derived from <i>E. coli</i> also includes a 153 base pair segment of the bleomycin binding protein gene ( <i>ble</i> ). The fragment of <i>ble</i> is located 20 base pairs downstream of the <i>nptII</i> stop codon.
NOS 3'	0.26	The 3' nontranslated region of the nopaline synthase gene of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA, which ends transcription and directs mRNA polyadenylation (Bevan et al 1983).

## Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Monsanto viser til en rekke undersøkelser som dokumenterer at det rekombinante DNA-innskuddet er stabilt integrert i genomet, og stabilt nedarvet over generasjoner. Analyser av Southern blot viser stabilitet av det rekombinante innskuddet over 3 selvpollineringsgenerasjoner og 9 generasjoner fra kryssinger av  $R_0 \times A1$  and  $R_0 \times A634$  (figur 3). Videre er fenotypisk stabilitet demonstrert ved spaltingsdata fra tre kryssingsgenerasjoner og to generasjoner med selvbestøvning etter  $R_0 \times A1$ . Segregeringsanalysene (Chi-kvadrat-analyser) viser forventet mendelsk nedarving av *cry3Bb1*-genet.



$R_0$  - Opprinnelig modifisert plante

$\otimes$  - Selvpollinert

H - Hybrid

Figur 3. Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje MON 863.

## Delkonklusjon

Faggruppen har tidligere vurdert karakteriseringen av det rekombinante innskuddet, de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av MON 863 til å være tilfredsstillende (VKM 2006, 2008).

## 2.2.2 Foreldrelinje NK 603

### Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

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

### Beskrivelse av de innsatte genene

Det er benyttet Southern blot og sekvensering for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Den molekylærbiologiske karakteriseringen viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment i NK 603 fôrmals. Innsatte gener og regulatoriske elementer i fragmenter er vist i tabell 2, og figur 4.

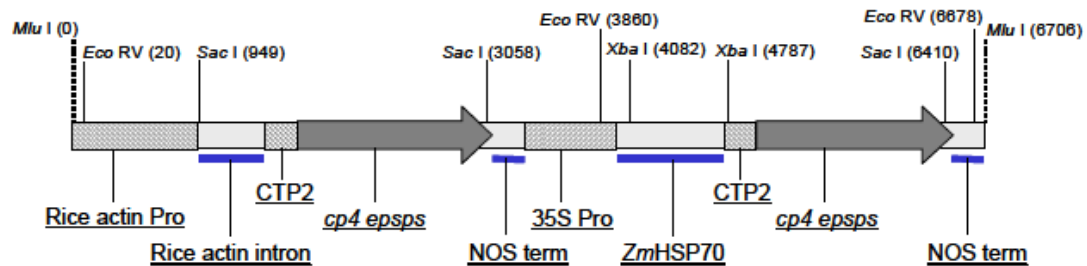
Tabell 2. Beskrivelse av innsatte gener og regulatoriske elementer i NK 603.

<b>CP4-epsps ekspresjonskasset 1</b>	
<i>P-RactI/I-RactI</i>	Promoter og intron fra ris ( <i>Oryza sativa</i> ) aktin 1 gen (1,4 kb). Uttrykkes ikke i planten.
<i>TS-CTP2</i>	N-terminal kloroplasttransittpeptid (TS-CTP) fra <i>EPSPS</i> -genet fra vårskrinneblom ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )-genet. Overfører CP4-EPSPS protein til kloroplast.
<i>CS-Cp4-epsps</i>	Gen som koder for et syntetisk CP4-EPSPS protein. Genet <i>5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase</i> stammer fra jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> stamme CP4 (1,4 kb).
<i>T-nos 3'</i>	DNA- sekvens fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Avslutter transkripsjonen. Uttrykkes ikke i planten.
<b>CP4-epsps ekspresjonskasset 2</b>	
<i>P-e35S</i>	Promoter fra blomkålmosaikkvirus ( <i>Cauliflower mosaic virus</i> ) (0,6 kb). Uttrykkes ikke i planten.
<i>I-Hsp70</i>	Promoter fra heatshockprotein 70 (0,8 kb). Stammer fra mais.
<i>TS-CTP2</i>	N-terminal kloroplasttransittpeptid (TS-CTP) fra <i>EPSPS</i> -genet fra vårskrinneblom ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )-genet. Overfører CP4-EPSPS protein til kloroplast.
<i>CS-Cp4-epsps I214p</i>	Gen som koder for et syntetisk CP4-EPSPS protein. Genet <i>5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase</i> stammer fra jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> stamme CP4 (1,4 kb).
<i>T-nos 3'</i>	DNA-sekvens fra <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Avslutter transkripsjonen. Uttrykkes ikke i planten.



## Karakterisering av geninnsettingen

Molekylærbiologisk analyser av NK 603 viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i bakterien. EPSPS-proteinet som uttrykkes i NK 603 er, med unntak av en aminosyre, identisk med proteinet som uttrykkes i bakterien.



Figur 4. Rekombinant lineært DNA-fragment i genomet til maislinjen NK 603. Det rekombinante DNA-fragmentet er på 6706 basepar og stammer fra plasmidet PV-ZMGT32.

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

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er analysert, 300 bp oppstrøms og 500 bp nedstrøms. Sammenlignende analyse med foreldrelinjen LH82xB73 viste at de flankerende sekvensene til NK 603s DNA-fragment stammer fra foreldrelinjen.

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

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

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

### **2.2.3 Delkonklusjon**

Faggruppen har tidligere vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av CP4 EPSPS-proteinet og funnet at informasjonen er tilstrekkelig (VKM 2005b). Faggruppen konkluderer med at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i NK 603 er tilfredsstillende.

## 2.3 Hybriden MON 863 x NK 603

### Molekylær karakterisering

MON 863 x NK 603 er dannet ved konvensjonelle kryssinger mellom foreldrelinjene MON 863 og NK 603. Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelse og antall kopier av MON 863- og NK 603-ekspresjonskassetene i maishybriden MON 863 x NK 603. Det er påvist én enkel kopi av henholdsvis MON 863- og NK 603-ekspresjonskassetene. Monsanto hevder at analyser av insersjonssteder i genomet, sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettingsstedet, integriteten til ekspresjonskassetene i genomet, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn fra de to hybridene, og fravær av annet transformasjonsplasmid-DNA i NK 603 og MON 863 ikke er nødvendig fordi det er liten sannsynlighet for molekylær gjensidig påvirkning mellom innskuddene fra MON 863 og NK 603 i MON 863 x NK 603 fordi de to ekspresjonskassetene ligger på hvert sitt kromosom.

Sammenlignende Southern blot-analyser mellom hybridene MON 863 x NK 603 og de to foreldrelinjene viser at bruttostørrelsen på de innsatte DNA-fragmentene er intakte. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra disse elementene.

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

Det har blitt utført feltstudier i Argentina på fire ulike lokaliteter (to i Buenos Aires, og to i Córdoba), vekstsesongen 2002–2003. Mais-hybrider, foreldrelinjene MON 863 og NK 603, samt en umodifisert kontroll-mais ble sådd etter en randomisert blokk-design i tre gjentak for hver av sortene. Maisen ble analysert ved bruk av ELISA for nivåer av uttrykte proteiner for hver av de innsatte genene: *cry3Bb1*, *cp4-epsps* og *nptII*. Verdiene som er oppgitt i søknaden for hybridmais (Technical dossier, 22. October 2004) er kun vist for fôr og korn. Verdiene er oppgitt for både tørrvekt (tabell 3) og ferskvekt (tabell 4), og viser at uttrykket av de innsatte genene i hybridmais er i tråd med nivåene av proteinene i de respektive foreldrelinjene.

Tabell 3. Proteininnhold ( $\mu\text{g/g}$  tørrvekt) i korn og fôr for de innsatte genene i hybridmais MON 863 x NK 603, og de tilsvarende foreldrelinjene. Verdiene oppgitt for CP4 EPSPS representerer summen av CP4 EPSPS og CP4 EPSPS L214P, ettersom ELISA ikke skiller mellom disse.

Maislinje		Cry3Bb1 $\mu\text{g/g t.v.} \pm \text{S.D.}$	CP4 EPSPS $\mu\text{g/g t.v.} \pm \text{S.D.}$	NPTII $\mu\text{g/g t.v.} \pm \text{S.D.}$
MON863 x NK603	Maiskorn	34 (5,4)	11 (1,5)	Under deteksjonsgrensen (0,21 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt)
	Fôr	40 (7,9)	110 (26)	
MON863	Maiskorn	29 (3,9)		Under deteksjonsgrensen (0,21 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt)
	Fôr	39 (15)		
NK603	Maiskorn		12 (1,8)	

t.v. = tørrvekt

Tabell 4. Proteininnhold ( $\mu\text{g/g}$  ferskvekt) i korn og fôr for de innsatte genene hybridmais MON 863 x NK 603, og de tilsvarende foreldrelinjene.

Maislinje		Cry3Bb1 $\mu\text{g/g f.v.} \pm \text{S.D.}$ variasjonsområde	CP4 EPSPS $\mu\text{g/g f.v.} \pm \text{S.D.}$ variasjonsområde	NPTII $\mu\text{g/g f.v.} \pm \text{S.D.}$ variasjonsområde
MON863 x NK603 (n = 12)	Maiskorn	29 (SD 4,9) 23 - 42	9,7 (SD 1,2) 7,5 - 12	Under deteksjonsgrensen (0,21 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt)
	Fôr	11 (SD 2,4) 8,4 - 17	30 (SD 7,3) 12 - 39	
MON863 (n = 12)	Maiskorn	25 (SD 3,5) 21 - 32		Under deteksjonsgrensen (0,21 $\mu\text{g/g}$ ferskvekt)
	Fôr	11 (SD 4,8) 5,4 - 19		
NK603 (n = 12)	Maiskorn		10 (SD 1,5) 7,7 - 13	
	Fôr		28 (SD 5,5) 16 - 35	

f.v. = ferskvekt

### Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Molekylærbiologiske analyser av F<sub>1</sub>-hybriden viser at det er molekylær ekvivalens og identisk kopitall med de rekombinante DNA-innskuddene i de respektive foreldrelinjene. Søker konkluderer derfor med at er det svært sannsynlig de rekombinante innskuddene i hybrid

er stabilt integrert i genomet. Videre vises det til at F<sub>2</sub>-generasjonen som høstes ikke skal inngå i videre foredlingsarbeid. Søker vurderer det derfor ikke nødvendig å undersøke stabilitet over generasjoner. Det vises også til at det er vist genetisk og fenotypisk stabilitet hos foreldrelinjene MON 863 og NK 603, og at agronomiske data knyttet til insektsresistens og herbicidtoleranse tilsier at de innsatte egenskapene er stabilt nedarvet.

## **2.4 Konklusjon**

Southern analyser viser at de rekombinante gensekvensene som er satt inn i maislinjene MON 863 og NK 603 er bevart i den kryssede maishybriden MON 863 x NK 603. Genetisk stabilitet av de innsatte sekvensene har tidligere blitt vist for MON 863 og NK 603. Nivåene av uttrykt Cry3Bb1- og CP4 EPSPS- protein målt i korn og vegetativt vev fra mais MON 863 x NK 603 samsvarer med nivåene målt i de respektive foreldrelinjene. Nivået av NPTII-protein var under deteksjonsgrensen for analysene. VKMs faggruppe for GMO anser den molekylære karakteriseringen av mais MON 863 x NK 603 som tilfredsstillende.

# 3 Komparative analyser

## 3.1 Valg av komparator og forsøksdesign

I henhold til søkers dokumentasjon er det foretatt registreringer av morfologiske og agronomiske parametere og analyser av ernæringsmessige viktige komponenter fra NK 603, MON 863 og MON 863 x NK 603 ved fire forsøksfelt i Argentina vekstsesongen 2002-2003 (Ridley *et al.* 2004). Som kontroll er det benyttet en kontrollhybrid (DKC-46-26) og tretten kommersielt tilgjengelige referansesorter (fire sorter pr. lokalitet). NK 603 ble ekskludert fra et felt og kontrollhybrid DKC46-26 fra tre felt på grunn av urenheter (trait impurities). MON 863 x NK 603, MON 863, NK 603, kontrollhybrid og kommersiell mais ble plantet i randomiserte blokkmonstre. Alle blokker med herbicidtolerante planter ble sprøytet med Roundup UltraMAX. For vurdering av MON 863 og NK 603 henviser Monsanto også til forsøk utført i USA og Europamen disse er ikke lagt ved i denne søknaden.

### 3.1.1 Analyser av ernæringsmessige komponenter

For MON 863, NK 603 og MON 863 x NK 603 er valget av analyseparameter gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais, med unntak av enkelte komponenter (selen, vitamin A og vitamin C er ikke målt). Det er foretatt forskjellige analyser av hovedkomponenter for fôr og korn. I fôr ble det analysert for aske, fett, protein, vann, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), kalsium og fosfat. I korn ble det analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, kalorier, vann, aminosyrer, fettsyrer, jern, kalium, kalsium, magnesium, mangan, sink, vitaminene B1, B2, B6, E, niacin, folinsyre, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-kumarinsyre, og for anti-næringsstoffene fytinsyre og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP). Monsanto har ikke utført sammenlignende statistiske analyser mellom MON 863 x NK 603 og foreldrelinjene MON 863 og NK 603.

Ut av de 22 undersøkte fettsyrene, ble 13 ekskludert fra de statistiske analysene fordi mengdene lå under deteksjonsgrensene. Det ble vist statistisk signifikante forskjeller over alle forsøksfelt for de tre fettsyrene: 18:1 oljesyre, 18:2 linolensyre og 20:0 arakidonsyre i mais MON 863 x NK 603 i forhold til kontrollen (DKC-46-26). Forskjellene var derimot mindre enn 10 %, og verdiene lå innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

For aminosyrene ble det vist statistiske forskjeller for alanin, asparaginsyre, leucin og threonin over alle forsøksfelt. Forskjellene lå innenfor 5 %, og innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer som bør undersøkes i henhold til OECDs konsensusdokument for mais er: A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin (Vitaminene A og C ble ikke målt av søker i feltforsøkene fra Argentina).

Resultatene for folat og niacin viste for MON 863 x NK 603 til dels store statistiske forskjeller innenfor enkelte forsøksfelt, men forskjellene var ikke konsistente for alle feltene. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller for noen av de målte vitaminene når forsøksfeltene var samlet under ett i de statistiske analysene.

Med unntak av selen, ble innholdet av mineraler målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Feltforsøkene i Argentina viste statistisk signifikante forskjeller for jern og kalsium mellom kontrollhybriden DKC46-26 og MON 863 x NK 603. Forskjellene lå imidlertid innenfor 10 %, og også innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Det ble ikke funnet statistiske forskjeller for andre mineraler mellom kontroll, referansesorter og MON 863 x NK 603.

I alle feltforsøkene i Argentina ble det funnet statistisk signifikante forskjeller for ferulsyre mellom kontroll og MON 863 x NK 603. Forskjellene var mindre enn 10 %, og verdiene lå innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Søker har ikke gjort målinger for det endogene toksinet DIMBOA (2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one) eller metabolitten MBOA (6-methoxybenzoxazolin-3-one).

De statistisk signifikante forskjellene mellom målte ernæringsmessige komponenter i mais MON 863 x NK 603 og kontrollhybriden DKC-46-26, er oppsummert i Tabell 5.

Tabell 5. Liste over ernæringsmessige komponenter i hybriden MON 863 x NK 603 som er signifikant forskjellig fra nivåene i kontrollhybriden DKC-46-26. Alle de oppgitte verdiene ligger imidlertid innenfor verdiene til de oppgitte referansesortene (99% Tolerance interval).

Tissue/Site/ Component (Units) <sup>a</sup>		Mean Test <sup>b</sup>	Mean Control <sup>b</sup>	Mean Diff. (% of Control Value) <sup>b</sup>	Signif. (p-value) <sup>b</sup>	Test (Range) <sup>b</sup>	99% Tolerance Interval <sup>b,c</sup>
<b>Grain</b>							
Alanine (% Total AA)	All Sites	7.60	7.69	-1.17	0.025	(7.42 - 7.78)	[7.14,8.33]
Aspartic Acid (% Total AA)	All Sites	6.71	6.57	2.05	0.020	(6.40 - 7.10)	[5.49,7.75]
Leucine (% Total AA)	All Sites	12.45	12.76	-2.45	0.011	(11.57 - 13.09)	[9.87,15.67]
Threonine (% Total AA)	All Sites	3.49	3.39	3.00	0.032	(3.34 - 3.70)	[2.81,3.97]
18:1 Oleic (% Total FA)	All Sites	30.30	29.48	2.80	0.003	(28.97 - 31.30)	[15.95,40.11]
18:2 Linoleic (% Total FA)	All Sites	51.88	53.06	-2.23	0.018	(50.28 - 53.44)	[42.62,72.43]
20:0 Arachidic (% Total FA)	All Sites	0.45	0.42	6.40	<0.001	(0.42 - 0.49)	[0.31,0.59]
Iron (mg/kg DW)	All Sites	17.64	19.63	-10.12	0.017	(13.55 - 20.72)	[6.82,36.65]
Ferulic Acid (µg/g DW)	All Sites	2011.70	2187.56	-8.04	0.006	(1666.67 - 2528.09)	[947.52,3316.22]

<sup>a</sup>dw=dry weight; fw=fresh weight; AA=amino acids; FA=fatty acids

<sup>b</sup>Data obtained from Ridley *et al.* 2004, Appendix 2, Table 22.

<sup>c</sup>With 95% confidence, interval contains 99% of the values expressed in the population of commercial lines. Negative limits were set to zero.



## 3.2 Agronomiske karakterer

I henhold til søker viser feltforsøkene nevnt over, små eller ingen signifikante forskjeller mellom den transgene maishybriden og umodifisert, nær-isogen kontroll med hensyn på karakterer som frøplantevitalitet, tidlighet (antall dager til blomstring og pollenspredning), plantehøyde, rotlengde, stikklengde, kolbehøyde, plantetetthet, plantebestandets beskaffenhet ("stay green"), frøavling og resistens mot ulike skadegjørere (sykdom, insekter).

## 3.3 Konklusjon

Komparative analyser av mais MON 863 x NK 603 og konvensjonell kontroll ble utført av søker under feltforsøk i Argentina vekstsesongen 2002-2003. Tretten konvensjonelle maissorter var inkludert i feltforsøkene og brukt som referanser. Med unntak av små variasjoner, insekts-resistens og herbicidtoleransen mediert av Cry3Bb1 og CP4 EPSPS - proteinene, viste resultatene ingen biologisk relevante forskjeller mellom maishybriden MON 863 x NK 603 og konvensjonell kontroll.

Basert på gjennomgangen av tilgjengelige data konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON 863 x NK 603 er vesentlig lik konvensjonell kontroll med hensyn til næringsstoffsammensetning og agronomiske og fenotypiske egenskaper, med unntak av de nye proteinene.

# 4 Helserisikovurdering

## 4.1 Produktbeskrivelse og tiltenkte bruksområder

Søknad om godkjenning av maishybriden MON 863 x NK 603 omfatter bruksområdene mat, fôr, næringsmidler, import og prosessering. De genetiske modifiseringene i hybridene gjør planten tolerant overfor angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica* (MON 863), i tillegg til toleranse for herbicider med virkestoffet glyfosat (NK 603). Det uttrykte proteinet NPTII (neomycin fosfotransferase II) gir resistens mot aminoglykosidantibiotika som kanamycin og neomycin, og er introdusert som seleksjonsmarkør for identifisering av transformanter under regenerasjon.

## 4.2 Effekt av prosessering

Produksjon av ferdige mat og fôrvarer innebærer ofte tøffe behandlinger i bearbeidelsen av råvarene, hvilket er med på å denaturere de fleste proteiner og DNA. Eksempler er koking eller annen oppvarming ved høye temperaturer og/eller trykk, og behandling med lav pH. Det er liten grunn til å anta at ferdige produkter avledet fra mais MON 863 x NK 603 vil være forskjellige fra umodifisert konvensjonell mais, eller at proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII, eller de innsatte transgenene vil reagere annerledes på foredlingsprosesser enn de fleste proteiner og DNA generelt. Cry- proteiner er generelt ikke varmestabile. Imidlertid varierer denatureringstemperaturen mellom forskjellige Cry- proteiner og det kan dermed ikke utelukkes at noen Cry- proteinvarianter tåler høye temperaturer. Denaturerte Cry- proteiner antas ikke å være biologisk aktive.

## 4.3 Toksikologi

### 4.3.1 Toksikologisk vurdering av de uttrykte proteinene Cry3Bb1, NPTII og CP4 EPSPS

#### 4.3.1.1 Degradering av NPTII, Cry3Bb1 og CP4 EPSPS i fordøyelsesvæske

Studier viser at NPTII, Cry3Bb1, og CP4 EPSPS, brytes raskt ned i testsystemer som etterlikner fordøyelse hos pattedyr, det antas derfor at proteinene også brytes raskt ned i menneskets mage- og tarmkanal. Flere studier har blitt publisert hvor man har undersøkt nedbrytning av Cry-proteiner i ulike forsøksdyr. VKM har tidligere vurdert degradering av Cry-proteiner og fordøyelse i forbindelse med helserisikovurdering av Cry-proteiners adjuvanseffekter (VKM 2012).

#### **4.3.1.2 Akutt oral toksisitet**

Fôringsforsøk med renfremstilt NPTII, Cry3Bb1, og CP4 EPSPS er dokumentert i søknadene for omsetting av MON 863, og NK 603 og har tidligere blitt vurdert av VKM (VKM 2006 og 2008, 2005b). Studiene dokumentert i disse søknadene viser at proteinene NPTII, CP4 EPSPS, og Cry3Bb1 ikke er akutt toksiske.

#### **4.3.2 Toksikologisk vurdering av MON 863 x NK 603 i hel mat/fôr**

##### **4.3.2.1 Fôringsforsøk med rotter:**

VKM har tidligere vurdert fôringsforsøk med foreldrelinjene MON 863 og NK 603 (VKM 2006 og 2008, 2005b), utført på både rotter og broilere, i tillegg til hybridene MON 863 x NK 603 men da kun på broiler (VKM 2005a). Studiene viser at fôr som inneholder de genmodifiserte maisene ikke fører til påvisbare negative helseeffekter hos forsøksdyrene.

Ifølge Monsanto er det ikke nødvendig å foreta sub-kroniske fôringsforsøk med korn fra MON 863 x NK 603 ettersom slike forsøk allerede er utført med foreldrelinjene MON 863 og NK 603. Monsanto's begrunnelse er blant annet at de introduserte egenskapene nedarves direkte av MON 863 x NK 603 ved konvensjonell avl mellom MON 863 og NK 603 og at det kombinerte uttrykket av Cry3Bb1, NPTII, CP4 EPSPS i hybridene ikke vil påvirke proteinenes egenskaper.

### **4.4 Allergenitet**

Allergene egenskaper til Cry3Bb1, NPTII og CP4 EPSPS har blitt vurdert i VKMs tidligere risikovurderinger av foreldrelinjene MON 863 og NK 603 og hybridene MON 863 x NK 603 (VKM 2006 og 2008, 2005b, 2005a). Basert på dagens litteratur har ingen av de uttrykte proteinene blitt påvist å være allergener eller å ha likheter med kjente allergener. Det er heller ingen studier som har vist at de genmodifiserte maissortene har økt allergisk potensiale sammenliknet med konvensjonell mais.

#### **4.4.1 Adjuvans (fremming av immunreaksjon mot andre stoffer)**

Kun Cry1Ab og Cry1Ac har vært eksperimentelt studert med hensyn på adjuvanseffekter.

Cry1Ac er vist i musemodellforsøk å virke som adjuvans via slimhinner ved å stimulere IgM-, IgG- og IgA- produksjon. Spørsmålet er om denne adjuvanseffekten kan føre til økt forekomst av allergi mot andre proteiner via en "bystander"-effekt ved inntak av mat fra genmodifiserte planter som inneholder Cry-proteiner. Dersom Cry3Bb1 har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Da ville man kunne forvente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. Matallergi

mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i andre områder, bl.a. Nord-Italia. Cry3Bb1 brytes derimot raskt ned i magesaft slik at eksponering av tarmepitel for proteinet antas å være marginal. Basert på dagens kunnskap mener faggruppen det er lite sannsynlig at Cry-proteiner vil øke det allergiske potensialet til mat/fôr produsert fra MON 863 x NK 603 sammenliknet med konvensjonelle maissorter (VKM 2012).

## 4.5 Ernæringsmessig vurdering

Både foreldrelinjene og maishybriden er tidligere vurdert av VKM og ansett som næringsmessig likeverdig til konvensjonell mais.

### 4.5.1 Fôringsforsøk med broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringsforsøk på broilere (Ross × Ross 508) (Taylor *et al* 2004).

800 dyr ble fordelt på åtte grupper á 100 dyr, med 10 bur i hver gruppe, 5 bur pr kjønn. Gruppene ble gitt fôr med mais fra enten MON863 x MON810 x NK603, MON863xNK603, konvensjonell kontroll (DKC 46-26) eller en av fem referansesorter (LH176 × LH177 × LH224, DK477, LH295 × LH224, DKC48-83, og LH224 × LH225 × LH295). Korn fra de åtte maissortene ble analysert for pesticidrester og mykotoksiner i forkant av studien, og i følge søker viste ingen av maisene uakseptable nivåer for studien.

Hver av de åtte test og kontroll-gruppene fikk fôr med 55 % mais fra dag 0 – 21, og 60 % mais fra dag 21 – 42. Alle dyr hadde fri tilgang til fôr og vann gjennom hele studien, og ble observert daglig for kliniske tegn og/eller dødsfall. Individuell vekt på alle dyr ble målt ved start og slutt. Statistiske beregninger av fôr-inntak, vektøkning, slaktevekt, og kvalitetsvurderinger av kjøtt, fett-innhold etc. ble brukt til å vurdere fôr-effektivitet.

Det ble påvist testrelaterte endringer i de målte parameterne, men hovedparten av endringene var mellom gruppene gitt fôr med referansemais. For de fleste målte parameterne var det ingen statistisk signifikante forskjeller mellom dyr fôret med mais fra MON863 x NK603, konvensjonell kontroll og referansegruppene. Faggruppen konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

## 4.6 Konklusjon

En fôringsstudie utført på broilere indikerer ikke helseskadelige effekter av mais MON 863 x NK 603, og studien viser at den er ernæringsmessig lik konvensjonell mais. Proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII viser ingen relevante sekvenslikheter med andre kjente toksiner eller IgE-avhengige allergener, og er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON 863 x NK 603 er ernæringsmessig lik konvensjonell mais, og at det er lite sannsynlig at proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII vil føre til økt risiko for toksiske eller IgE-medierte allergiske reaksjoner fra mat eller fôr basert på mais MON 863 x NK 603 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

## 5 Miljørisikovurdering

Søknad om godkjenning av maishybriden MON 863x NK 603 under forordning 1829/2003/EF og direktiv 2001/18/EF omfatter bruksområdene fôrvarer, næringsmidler, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og ulike industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning.

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

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

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

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

Insektresistens og herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten i områder med målorganismen tilstede og der tiltenkte herbicider benyttes. Overlevelse og spredning av mais til andre habitater i Europa er imidlertid hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøhvile, mottagelighet for sykdom og liten toleranse for lave temperaturer. Undersøkelsene av fenotypiske karakterer som er foretatt av søker viser ingen forskjeller mellom den genmodifiserte maishybriden og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene. Det er ingen indikasjoner på at de introduserte egenskapene hos MON 863 x NK 603 vil medføre økt fitness, og økt evne til overvintring eller etablering av ugraspopulasjoner utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

## 5.2 Potensiale for genoverføring

En forutsetning for genspredning er tilgjengelige veier for overføring av genetisk materiale, enten via horisontal genoverføring av DNA, eller vertikal genflyt i form av frøspredning og krysspollinering. Eksponering av mikroorganismer for rekombinant DNA skjer under nedbryting av plantemateriale på dyrket mark og/eller pollen i åkrer og omkringliggende arealer. Rekombinant DNA er også en komponent i en rekke mat- og fôrprodukter, som er avledet av plantemateriale fra transgene sorter. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA. Mais har ikke viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, og vertikal genoverføring vil være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

## 5.3 Horisontal genoverføring (HGT)

En mulig risiko knyttet til maishybrid MON 863 x NK 603 er utilsiktet horisontal spredning av *nptII*-transgenet til sykdomsfremkallende bakterier, og derav nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjonen.

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 863 x NK 603 skal kunne overføres til andre enn plantens naturlige kryssingspartnere (se utfyllende oversikt og vurdering i EFSA 2009; VKM 2005c).

Data fra eksperimentelle studier viser at genoverføring fra transgene planter til bakterier inntreffer svært sjelden, og at denne overføringen forutsetter sekvenshomologi mellom overført DNA og bakteriens genom (EFSA 2009; VKM 2005c).

En forutsetning for HGT fra genmodifiserte planter er at naturlig kompetente bakterier eksponeres til plantens DNA under naturlige forhold. Det er gjort en rekke ulike forsøk som ser på stabilitet av DNA i ulike mat- og fôrkilder samt opptak av dette fra tarmkanalen i ulike organismer (Rizzi et al. 2009). I et forsøk med mus ble stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen av oralt tilført M13 DNA undersøkt. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter fôring. 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 studier av 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 DNA fra GM soya i feces. Denne studien indikerte imidlertid at deler av *epsps*-transgenet hadde blitt tatt opp av tarmbakterier i forsøkspersonene før forsøket startet. Nielsen et al. (2000) og de Vries & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av rekombinant DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det påvist svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi

mellom plantetransgenet og mottagerbakterien. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og naturlig forekommende bakterier er usikkert, men siden de fleste transgenene inneholder rekombinerte DNA-sekvenser fra jordbakterier kan dette ikke utelukkes (Bensasson et al. 2004)

Positiv seleksjon er en forutsetning for at sjeldne HGT-begivenheter skal kunne etableres seg i bakteriepopulasjoner tilstede i fordøyelseskanal og/eller miljøet (Pettersen et al. 2005, Townsend et al. 2012). For mange transgener er det ikke sannsynlig at HGT vil gi selektive fordeler eller økt fitness hos mottagerorganismen (Nielsen 2003). Transgener som gir resistens mot antibiotika kan forventes å gi vertsbakterien økt overlevelsessevne under visse miljøbetingelser. Slike betingelser kan være at bakterien er eksponert både for plantetransgener som gir resistens mot bestemte antibiotika, samt til det antibiotikumet som selekterer for en slik egenskap.

For plantetransgenet *nptII* som er til stede i MON 863 x NK 603 kan enkelte aminoglykosider (e.g. kanamycin og neomycin) positivt selektere for disse; forutsatt at plantetransgenet kan uttrykkes som et funksjonelt protein i den transformerte bakteriens cytoplasma. Aminoglykosidet neomycin, som *nptII*-genet gir resistens mot, benyttes i veterinærmedisin i Norge. Årlig oppdatert oversikt over forbruksdata for aminoglykosider i Norge utarbeides av NORM NORM-VET og kan finnes på Veterinærinstituttets hjemmesider (<http://www.vetinst.no/Publikasjoner/Norm-Vetrapporten>). Neomycin benyttes i norsk veterinærmedisin i behandling av enteritt hos gris. I 2006 var forbruket av neomycin 29 kg virkestoff, mens det totale forbruket av antibiotika til landdyr i Norge var på ca 6,5 tonn virkestoff (NORM/NORM-VET 2006). En temporær positiv seleksjon av eventuelle bakterietransformanter i tarmkanalen hos dyr som behandles med slike antibiotika kan derfor ikke utelukkes. Det anses som usannsynlig at gener fra MON 863 x NK 603 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr uten et slikt seleksjonstrykk.

Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil forekomme påvisbare horisontale genoverføringer av DNA-materiale fra MON 863 x NK 603 i mikrobiologiske prøver fra miljøet (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004). Dette skyldes at slik overføring er forventet å være så lavfrekvent at de enten ikke forekommer i et gitt miljø og tidsperiode, eller at de forekommer ved så lav prevalens at de ikke kan påvises ved tilgjengelig metodologi (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004). Det er tidligere påpekt store metodologiske utfordringer ved en slik påvisning (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004; Townsend et al. 2012).

Antibiotikaene som *nptII* gir resistens imot er klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som "highly important" og "cannot be classified as of no or minor therapeutic relevance" og VKMs GMO-panel anser enhver økning av resistensnivået til disse antibiotikaene som uønsket. Risikoen knyttet til bruk av *nptII*-genet i MON 863 x NK 603 kan derfor betraktes isolert sett i forhold til bruksområde til MON 863 x NK 603, eller



som et element i en større vurdering av antibiotikaresistenssituasjonen der en samlet ønsker å begrense kilder og muligheter for utvikling av resistens i patogene bakteriepopulasjoner.

En så langt hypotetisk forekomst av HGT fra maishybrid MON 863 x NK 603 til bakterier som eksponeres for plantens DNA må sees i sammenheng med prevalensen av *nptII*-genet i norsk miljø. Hvis *nptII*-genet allerede finnes utbredt i miljø som vil eksponeres for MON 863 x NK 603, er det høyst usannsynlig at sjeldne HGT-begivenheter fra MON 863 x NK 603 vil endre resistensnivået.

Det er lite informasjon tilgjengelig om forekomst av *nptII*-genet i relevante miljøet i Norge. Søker har heller ikke vedlagt slik informasjon. Overvåking av resistenssituasjonen i Norge (se årlig NORM NORM-VET publikasjon) viser at forekomsten av aminoglykosidresistens og derav *nptII*-genet er lav i patogene bakterier i Norge. Forekomst av kanamycin/neomycin-resistens er beskrevet i *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* og *Staphylococcus intermedius* fra svin, svinefaeces, kalkunfaeces, storfekjøtt, hund og hundefaeces i Norge. Forekomsten av resistente isolater varierte mellom 1 til 10 % (NORMVET rapportene 2004-2007). Imidlertid gir disse observasjonene ikke grunnlag for å bestemme hvilke resistensgener som forårsaker den fenotypiske resistensen i disse isolatene. Det understrekes at kunnskap om forekomsten av *nptII*-genet i norske miljø er mangelfull.

EFSA og VKM har tidligere utredet problemstillingen rundt mulig HGT av antibiotikaresistensmarkørgener i detalj (EFSA 2004, 2009; VKM 2005c), og konkludert med at bidraget av *nptII*-genet fra mat og fôr produsert fra genmodifiserte planter ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier som lever i tarmen hos mennesker og dyr. Konklusjonen var basert på lav sannsynlighet for HGT, samt et eksisterende nivå av *nptII*-gener i miljøet. Den geografiske utbredelsen av antibiotikaresistens i Europa varierer mellom land og vurderingene gjort i disse tidligere publikasjonene er ikke basert på faktisk forekomst av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt.

### 5.3.1 Vertikal genoverføring

Tatt i betraktning det tiltenkte bruksområdet for maishybrid MON 863 x NK 603, vil potensialet for vertikal genspredning være begrenset til utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, handtering og prosessering av maisen.

Overlevelse og spredning av mais utenfor dyrking i Europa er hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøhvile, mottagelighet for soppsykdommer og liten toleranse for lave temperaturer. Insektsresistens og herbicidtoleranse kan bare betraktes å være en selektiv fordel for den transgene planten på arealer der målorganismene er til stede under dyrking og der det tiltenkte herbicidet benyttes. Disse egenskapene vil imidlertid ikke representere økt sannsynlighet for spredning av mais i Europa. Som for konvensjonelle sorter er det ingenting som tilsier at eventuelle spillplanter vil overleve til neste vekstsesong eller etablere uønskede populasjoner i Norge.

Eventuell krysspollinering mellom maishybrid MON 863 x NK 603 og konvensjonelt foredlete maissorter vil være betinget av frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, påfølgende etablering og blomstring den transgene hybridene. Det er imidlertid lite sannsynlig at eventuelle sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt. Dyrkingsomfanget av mais i Norge er dessuten svært begrenset. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig.

## 5.4 Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Maishybriden MON 863 x NK 603 er transformert med *cry3Bb1*-genet fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, subsp. *kumamotoensis*.

Cry3Bb1-proteinet, som uttrykkes gir plantene resistens mot angrep fra skadegjørere i billeslekten *Diabrotica*, eksempelvis *D. virgifera virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm'). *D. virgifera virgifera* er det eneste målinsektet for MON 863 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>).

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

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

Sporadiske spillplanter av maishybrid MON 863 x NK 603 med opphav i utilsiktet frøspredning under ulike omsetningsledd antas ikke å medføre risiko for ikke-målorganismer.

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

## 5.6 Konklusjon

### Antibiotikaresistens

Risikoen for mulig spredning av *nptII*-genet fra MON 863 x NK 603 og derav nedsatt terapi-effekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon antas å være lav grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av svært sjeldne tilfeller av horisontal genoverføring (HGT) fra plante til bakterie. Eventuell forekomst av slike HGT-begivenheter må sees i sammenheng med eksisterende prevalens av aminoglykosidresistens og *nptII*-genet i relevante norske miljø.

Det påpekes at datagrunnlaget vedrørende forekomsten av *nptII*-genet i Norge er svært begrenset. Oppdaterte data fra NORM-NORM-VET-overvåkingen av resistenssituasjonen i Norge indikerer imidlertid lav forekomst av *nptII*-genet. Den veterinære bruken av aminoglykosidet neomycin er slik at disse kan gi selektive fordeler for bakterie-transformanter som har tatt opp *nptII*-transgenet, hvis dette uttrykkes funksjonelt i bakterien.

Antibiotikaene som *nptII*-genet gir resistens imot er klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som «highly important».

### Øvrig miljørisiko

Søknad EFSA/GMO/UK/2004/06 gjelder godkjenning av maishybrid MON 863 x NK 603 til import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maisen.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 x NK 603 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

## 6 Overvåking

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

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

Søknad EFSA/GMO/UK/2004/06 omfatter ikke dyrking, og potensiell miljøeksponering av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning. Miljørisikovurderingen som er presentert av søker identifiserer ingen endret risiko for miljø i forhold til annen mais. Monsanto har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohåndtering eller en særskilt plan for overvåking av MON 863 x NK 603.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for MON 863 x NK 603 anser VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av maislinjen.

## 7 Kunnskapshull

- Det er kunnskapshull knyttet til forekomsten av *nptII*-genet i Norge og Europa.
- Det er kunnskapshull knyttet til i hvilken grad det er sammenheng mellom HGT-frekvenser og klinisk effekt av bakteriepopulasjoner som bærer nye HGT-eventer.
- Det er kunnskapshull knyttet til vurderinger av adjuvans (VKM 2012).
- Det er kunnskapshull knyttet til rester av sprøytemidler i herbicidtolerante planter

# 8 Konklusjoner

## Molekylær karakterisering

Southern analyser viser at de rekombinante gensekvensene som er satt inn i maislinjene MON 863 og NK 603 er bevart i den kryssede maishybriden MON 863 x NK 603. Genetisk stabilitet av de innsatte sekvensene har tidligere blitt vist for MON 863 og NK 603. Nivåene av uttrykt Cry3Bb1- og CP4 EPSPS- protein målt i korn og vegetativt vev fra mais MON 863 x NK 603 samsvarer med nivåene målt i de respektive foreldrelinjene. Nivået av NPTII-protein var under deteksjonsgrensen for analysene. VKMs faggruppe for GMO anser den molekylære karakteriseringen av mais MON 863 x NK 603 som tilfredsstillende.

## Komparative analyser

Komparative analyser av mais MON 863 x NK 603 og konvensjonell kontroll ble utført av søker under feltforsøk i Argentina vekstsesongen 2002-2003. Tretten konvensjonelle maissorter var inkludert i feltforsøkene og brukt som referanser. Med unntak av små variasjoner, insekts-resistens og herbicidtoleransen mediert av Cry3Bb1 og CP4 EPSPS - proteinene, viste resultatene ingen biologisk relevante forskjeller mellom maishybriden MON 863 x NK 603 og konvensjonell kontroll.

Basert på gjennomgangen av tilgjengelige data konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON 863 x NK 603 er vesentlig lik konvensjonell kontroll med hensyn til næringsstoffsammensetning og agronomiske og fenotypiske egenskaper, med unntak av de nye proteinene.

## Helserisikovurdering

En fôringsstudie utført på broilere indikerer ikke helseskadelige effekter av mais MON 863 x NK 603, og studien viser at den er ernæringsmessig lik konvensjonell mais. Proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII viser ingen relevante sekvenslikheter med andre kjente toksiner eller IgE-avhengige allergener, og er heller ikke rapportert å ha forårsaket IgE-medierte allergiske reaksjoner. Enkelte studier har derimot indikert at Cry-proteiner potensielt kan forsterke andre allergiske reaksjoner (virke som adjuvans).

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO at mais MON 863 x NK 603 er ernæringsmessig lik konvensjonell mais, og at det er lite sannsynlig at proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII vil føre til økt risiko for toksiske eller IgE-medierte allergiske reaksjoner fra mat eller fôr basert på mais MON 863 x NK 603 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

## Miljørisiko

### Antibiotikaresistens

Maishybriden MON 863 x NK 603 inneholder antibiotikasresistensmarkørgenet *nptII*.

Faggruppen konkluderer med at risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner i husdyrproduksjon forårsaket av spredning av *nptII*-genet fra maishybriden antas å være lav. Dette grunnet begrenset mulighet for positiv seleksjon av bakterier etter sjeldne tilfeller av horisontal genoverføring (HGT) fra plante til bakterie. I tillegg er det variabel forekomst av andre aminoglykosid-resistens determinanter i relevante bakteriepopulasjoner.

Det påpekes videre store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge. Det foreligger ikke vitenskapelig litteratur som indikerer at forekomsten av *nptII*-genet i Norge er utbredt. Det påpekes også at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter (bakterier som har tatt opp og inkorporert *nptII*-genet i eget genom) derfor ikke kan utelukkes.

### Øvrig miljørisiko

Søknad EFSA/GMO/UK/2004/06 gjelder godkjenning av maishybrid MON 863 x NK 603 til import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige miljøeffekter knyttet til dyrking av maisen.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 x NK 603 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

## Samlet vurdering

Ut i fra dagens kunnskap konkluderer VKMs faggruppe for GMO, at maishybriden MON 863 x NK 603 er vesentlig lik konvensjonell kontroll med hensyn til næringsstoffsammensetning og ernæringsmessige, agronomiske og fenotypiske egenskaper, med unntak av de nye proteinene. Det lite sannsynlig at proteinene Cry3Bb1, CP4 EPSPS og NPTII vil føre til økt risiko for toksiske eller IgE-medierte allergiske reaksjoner fra mat eller fôr basert på mais MON 863 x NK 603 sammenliknet med konvensjonelle maissorter.

Risikoen for nedsatt terapieffekt ved enkelte infeksjoner knyttet til husdyrproduksjon forårsaket av eventuell spredning av *nptII*-genet fra MON 863 x NK 603 antas av faggruppen å være lav. Det påpekes store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på naturlig forekomst av *nptII*-genet i Norge. En positiv seleksjon av eventuelle sjeldne transformanter (bakterier som har tatt opp og inkorporert *nptII*-genet fra mais MON 863 x NK 603 i eget genom) kan derimot ikke utelukkes ettersom neomycin brukes i norsk landbruk. Forekomsten av slike sjeldne transformante bakterier må også ses i sammenheng med den naturlige forekomsten av *nptII*-genet og andre antibiotikaresistensgener som allerede eksisterer blant bakteriepopulasjoner i relevante norske miljøer.

VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer finner det lite trolig at den omsøkte bruken av mais MON 863 x NK 603 vil medføre endret risiko for miljøet for øvrig i forhold til konvensjonell mais.



## 9 Referanser

- Bensasson D, Boore JL, Nielsen KM (2004) Genes without frontiers. *Heredity* 92: 483-489
- CERA (2013) Center for Environmental Risk Assessment. GM Database for safety information. [http://cera-gmc.org/index.php?action=gmc\\_crop\\_database](http://cera-gmc.org/index.php?action=gmc_crop_database)
- 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
- EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal* 48: 1-18.  
[http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo\\_opinions/384.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html)
- EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (EFSA/GMO/UK/2004/06) for the placing on the market of insect protected glyphosate tolerant genetically modified maize MON 863 x NK 603 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 by Monsanto. *The EFSA Journal* 255: 1-21
- EFSA (2006) Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. ISBN: 92-9199-019-1. European Food Safety Authority, Parma, Italy. 100 p.  
[http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo\\_guidance/660.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html)
- EFSA (2009) Use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) and the Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *The EFSA Journal* 1034: 1-82  
[http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo\\_biohaz\\_st\\_ej1108\\_ConsolidatedARG\\_en.pdf?ssbinary=true](http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/gmo_biohaz_st_ej1108_ConsolidatedARG_en.pdf?ssbinary=true)
- EFSA (2010) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. Scientific opinion from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). *EFSA Journal* 8 (11):1-111  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1879.pdf>
- EFSA (2011) Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. Scientific opinion from the EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). *The EFSA Journal* 9(5): 2150  
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2150.pdf>
-

- EMEA (2007) Presence of the antibiotic resistance marker gene nptII in GM plants for food and feed uses. EMEA/CVMP/56937/2007  
[http://www.emea.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Other/2010/01/WC500054091.pdf](http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2010/01/WC500054091.pdf)
- Hallauer AR (2000) Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Heinemann JA, Traavik T (2004) Problems in monitoring horizontal gene transfer in field trials of transgenic plants. *Nat Biotechnol* 22: 1105–1109 doi: 10.1038/nbt1009
- Lid J, Lid DT (2005) Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. ISBN: 82-521-6029-8. 1230s.
- Netherwood T, Martín-Orúe SM, O'Donnell AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC, Gilbert HJ. (2004) Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nature Biotechnology* 22: 204-209
- Nielsen KM, van Elsas JD, Smalla K (2000) Transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 (pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Applied Environmental Microbiology* 66: 1237-1242
- Nielsen K (2003) An assessment of factors affecting the likelihood of horizontal transfer of recombinant plant DNA to bacterial recipients in the soil and rhizosphere. *Collection of Biosafety Reviews (Italy)* 1: 96-149
- Nielsen KM, Townsend JP. (2004) Monitoring and modeling horizontal gene transfer. *Nature Biotechnology* 22(9): 1110-1114
- Nordgård L, Brusetti L, Raddadi N, Traavik T, Averhoff B, Nielsen KM (2012) An investigation of the potential of horizontal transfer of feed introduced DNA to the microbiota of the gastrointestinal tract of rats. *BMC Res. Notes* 5: 170
- 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
- Petterson A K, Primicero R, Bøhn T, Nielsen KM (2005) Modeling suggests frequency estimates are not informative for predicting the long-term effect of horizontal gene transfer in bacteria. *Environ. Biosafety Res* 4: 222–233 doi: 10.1051/ebr:2006008.
- Rizzi A, Raddadi N, Sorlini C, Nordgård L, Nielsen KM, Daffonchio D (2012) The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals - implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs. *Crit Rev Food Science Nutr* 52: 142-161.

- Ridley WP, Nemeth MA, Riordan SG, Trujillo WA and Sorbet RD (2004)  
Compositional analysis of corn forage and grain collected from MON 863 x NK603 x MON 810 and MON 863 x NK603 grown in Argentina field trials during 2002-2003. Monsanto Technical Report, MSL 19157.
- Schubbert GW, Lettmann C, Doerfler W (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Molecular & general Genetics* 242: 495-504
- Taylor ML, Hyun Y, Hartnell GF, Nemeth MA, Karunanandaa K, and Glenn KC (2004)  
Comparison of broiler performance and carcass parameters when fed diets containing MON 863 x MON 810 x NK603, MON863 x NK 603, non-transgenic control or commercial corn. Monsanto Technical Report, MSL 18762.
- Townsend J P, Bøhn T, Nielsen K M (2012) Probability of detecting horizontal gene transfer in bacterial populations. *Front Microbiol* 3, art. 27
- VKM (2005a) Helserisikovurdering av genmodifisert mais MON 863 x NK 603 (EFSA/UK/2004/06). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 8.4.2005.
- VKM (2005b) Helserisikovurdering av NK 603 (C/EC/00/01) etter ny mat forordning 258/97/EF. Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 8.3.2005.
- VKM (2005c) 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 (2006) Uttalelse om Monsanto's genmodifiserte mais MON 863 (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 16.1.2006.
- VKM (2008) Helse- og miljørisikovurdering av genmodifisert mais MON 863 fra Monsanto Company (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppen for genmodifisert organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet 28.11.2008.
- VKM (2012) Helserisikovurdering av Cry-proteiners adjuvanseffekt. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer 25.4.2012 -11/313/3-endelig. Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge. [Lenke](#)

VKM 2013 VKM (2013) Endelig miljørisikovurdering av genmodifisert maishybrid MON 863 x NK 603 til mat, fôr, import og prosessering under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/UK/2004/06)

WHO (2007) Critically important antimicrobials for human medicine: Categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to nonhuman antimicrobial use. Report of the second WHO expert meeting, Copenhagen, 29-31 May 2007.