



Direktoratet for naturforvaltning
Tungasletta 2
7485 Trondheim

Vår ref: 521 08/028-002

Deres ref: 2008/14632 ART-BI-BRH

Dato: 13.02.2009

Søknad EFSA/GMO/UK/2008/53:

Genmodifisert sprøytemiddeltolerant maishybrid 98140 ("*Optimum GAT*") fra Pioneer Hi-Bred til import, prosessering, mat og fôr under EU-forordning 1829/2003 (første innspillsrunde)

Bioteknologinemnda viser til brev fra Direktoratet for naturforvaltning (DN) av 25.11.08 vedr. søknad fra Pioneer Hi-Bred om godkjenning i EU/EØS-området av sprøytemiddelresistent maislinje 98140 til import, prosessering, mat og fôr. Søknaden omfatter ikke bruksområdet dyrking.

Maslinjen er nettopp godkjent til mat og fôr i USA, mens amerikanske myndigheter fortsatt har søknad om dyrking til behandling. Pioneer Hi-Bred regner med at linjen vil være fullt ut tilgjengelig på det amerikanske markedet i 2010. I tillegg til i EU er søknader til behandling i Canada og Mexico. Pioneer Hi-Bred opplyser at søknader er på trappene i en rekke andre land.

Genmodifiseringen

Maislinje 98140 er genmodifisert for å tolerere sprøyting med to typer av plantevernmidler, nærmere bestemt glyfosat og såkalte ALS-inhiberende stoffer (ALS står for acetolaktat syntase, et enzym som er involvert i syntesen av essensielle, forgrenede aminosyrer). Søker argumenterer for at dobbelresistensen gir dyrkerne et bredt "sprøytevindu" og bedre kontroll på resistente ugressarter. I Norge er ALS-sprøytemidler tillatt brukt i maiskultur (plantevernmidlene Harmony og Titus).

For hovedtrekkene ved genmodifiseringen, se mer informasjon i slutten av brevet. I linje 98140 er det ikke satt inn markørgener for antibiotikaresistens.

Bioteknologinemndas innspill og kommentarer:

Konfidensialitet

Bioteknologinemnda vil fremheve at det er positivt at denne søknaden ikke inneholder deler som er unndratt offentlighet. Dette er i kontrast til andre GMO-søknader som nemnda har behandlet, hvor betydelige andeler av dokumentasjonen er konfidensiell.

Integrasjon, genuttrykk

Når det gjelder mulige molekytlære rearrangeringer og genomisk stabilitet, har Pioneer Hi-Bred foretatt Southern-blot-analyser av genomisk DNA fra linje 98140 og avkommet i flere

tilbakekryssningsgenerasjoner. Forsøkene viser at det er satt inn én kopi av genkonstruksjonen. Tilbakekryssningene resulterer i en spalting i avkommet i forholdet 3:1, slik man forventer dersom man har å gjøre med ett dominant locus. Dette tyder også på at det innsatte DNA er stabilt integrert i genomet. Rundt integrasjonsstedet har søker analysert sekvensene og avdekket seks nye, åpne leserammer. Ingen av de teoretisk mulige nye peptidene (på mellom 16 og 72 aminosyrer) har likhet til antinæringsstoffer, toksiner eller allergener, herunder proteiner som gir cøliaki. Det er imidlertid ikke gjort forsøk som utelukker at disse peptidene dannes i linje 98140.

Uttrykket av enzymene GAT4621- og ZM-HRA, som gjør planten resistent overfor sprøytemidlene, ble målt med immunologiske metoder under feltforsøk i USA og Canada i sesongene 2006 og 2007. Hele planter, fôrfraksjon, blad, røtter, stilk og frø ble analysert på fire utviklingsstadier og under ulike sprøyteregimer. Uttrykket av GAT4621- og ZM-HRA-proteinene var uavhengig av sprøyteregime. Begge proteinene ble påvist i alle vev og utviklingsstadier, bortsett fra ZM-HRA som ikke kunne detekteres i pollen. Et slikt bredt uttrykksmønster er som forventet, siden både *gat4621*- og *zm-hra*-genet er under kontroll av konstitutive maispromotorer.

Helseaspekter

Pioneer Hi-Bred har gjort målinger av ernæringsmessig viktige komponenter etter å ha dyrket linje 98140 i feltforsøk i statene Iowa, Illinois og Nebraska i USA og Ontario i Canada. OECDs konsensusdokument for mais var utgangspunktet for valg av analyseparametere. Som kontroll har Pioneer Hi-Bred brukt nær-isogene maislinjer med tilsvarende genetiske bakgrunn som linje 98140. Pioneer Hi-Bred har også henvist til et annet feltforsøk med fire umodifiserte, kommersielle maissorter fra sitt eget sortsmateriale for å ha ytterligere referanser til variasjonen for ernæringsmessige komponenter og agronomiske egenskaper.

Fôr- og frøfraksjoner for linje 98140 ble analysert for innholdet av en rekke komponenter*. Alle verdiene lå innenfor variasjonen som er rapportert i litteraturen. Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom transgen linje og kontroll for aske, fett, protein, totalfiber, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), karbohydrater, fettsyresammensetning eller innhold av aminosyrer, vitaminer, mineraler, antinæringsstoffer eller sekundære metabolitter. Bioteknologinemnda vil bemerke at det ikke er analysert for C-vitamin. Dette er en relevant analyseparameter i henhold til OECDs konsensusdokument.

Pioneer Hi-Bred har videre utført toksisitetstudier ved å fôre mus med de transgene proteinene GAT4621 og ZM-GAT4621 hver for seg. Etter å ha observert musene i to uker ble de avlivet og man foretok patologiske undersøkelser. Testrelaterte skader kunne ikke påvises. Bioteknologinemnda vil bemerke at forut for disse analysene ble GAT4621- og ZM-HRA-genene klonet inn i *E. coli*-bakterier for å få tilstrekkelig mengde proteiner isolert for analyse. GAT4621- og ZM-HRA-proteinene som uttrykkes i mais ble sammenholdt med dem isolert fra *E. coli* gjennom vanlig SDS-gel, immunologisk analyse på Western-blot, trypsinbehandling og peptidkartlegging med massespektrometri, analyse av N-terminal ende, glykosyleringsgrad og enzymaktivitet. Forsøkene kunne ikke avdekke strukturelle eller funksjonelle forskjeller på at GAT4621- og ZM-HRA-proteinene avhengig av om de var produsert i plante eller bakterie.

* aske, fett, protein, total fiber, ADF (acid detergent fiber), NDF (neutral detergent fiber), og karbohydrater, mens følgende parametere i tillegg er undersøkt i frø: aminosyrer, fettsyrer (C8-C24), fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, vitaminene B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B3 (niacin), B5 (pantotensyre), B6 (pyridoksim), totalmengde vitamin E, α -tokoferol β -tokoferol, δ -tokoferol, γ -tokoferol og folinsyre (vitamin B9), antinæringsstoffene raffinose, inositol, fytinsyre og trypsinhemmer, samt de sekundære metabolittene furfural, cumarsyre og ferulsyre.

Fôringsforsøk

Søker refererer videre til et 42-dagers fôringsforsøk på 720 broilere. Disse ble fordelt på seks grupper à 120 dyr. Fuglene ble gitt maismel enten fra usprøytet linje 98140, linje 98140 sprøytet med glyfosat/nicosulfuron/rimsulfuron, en ikke-modifisert kontrollsort eller én av tre ulike kommersielle umodifiserte referansemaissorter. Fôret ble undersøkt for innhold av mykotoksiner, mineraler og konsentrasjonen av de transgene proteinene. I tillegg ble det gjort målinger av acetylerede former av aminosyrene aspartat og glutamat. Selv om konsentrasjonene av acetylerede former av disse aminosyrene var i størrelsesorden hundre til tusen ganger høyere i transgen linje 98140 sammenliknet med kontroll og andre referanselinjer, later det ikke til at dette eller har ernæringmessig betydning idet mortalitet, samlet vektøkning, fôreffektivitet og vekten av skrott, bryst, lår, vinger, abdominalt fett, nyre og lever ikke var endret ved fôring med mais fra 98140 (sprøytet eller usprøytet) sammenliknet med kontroll og referansesorter.

Et 90 dagers fôringsforsøk med iblandet maismel er også utført på rotte. Verken makro- eller mikroskopiske undersøkelser av organer eller kjemisk undersøkelse av blod vitnet om statistisk signifikante endringer.

Hvor spesifikk acetylering?

Bioteknologinemnda savner en nærmere redegjørelse fra søker rundt hvorfor det akkurat er undersøkt for acetylerede former av aspartat og glutamat og med hvilken spesifisitet den innsatte acetyltransferasen faktisk virker. Er det slik at den også modifierer andre viktige komponenter? Acetylering er en viktig mekanisme som er konservert gjennom evolusjonen, og som kan endre et stoffs fysiske egenskaper og biologiske, biokjemiske eller katalytiske aktivitet. Har søker undersøkt om enzymet også virker på andre molekyler og komponenter eller om det totale acetyleringsmønsteret er endret i den genmodifiserte linjen?

Allergenisitet

Når det gjelder mulig allergenisitet har ikke GAT4621- eller ZM-HRA-proteinene aminosyresekvenser som likner allergene epitoper. Videre brytes proteinene raskt ned i mage/tarm. Andelen av disse proteinene i fôr og frøfraksjon er bare rundt 0,01 %. Tilsvarende enzymer er en del av et tradisjonelt kosthold i og med at GAT utgjør en stor familie som teller rundt 10000 beslektede enzymer i alle typer organismer. ALS-proteinet ZM-HRA er på sin side involvert i biosyntesen av de kjedete aminosyrene valin og leucin, også det "vanlige" biosyntetiske prosesser. Nemnda finner at disse forholdene peker i retning av at genmodifisert maislinje 98140 neppe utgjør endret risiko for å utvikle allergi enn tradisjonell mais.

Selv om disse forsøkene samlet sett peker i retning av at det ikke er negative helseeffekter ved å benytte linje 98140 i mat og fôr, minner Bioteknologinemnda om at slike effekter først kan gjøre seg gjeldende etter lengre tids eksponering.

Miljø

Selv om det ikke er søkt om dyrking av maislinje 98140 i EU/EØS-området, er det muligheter for at importerte frø kan komme på avveie i ulike omsetningsledd og dermed representere en kilde for uønsket genspredning. Når det gjelder spredning av maisplanter i europeisk natur er det imidlertid liten fare for dette siden frø bare kan overleve milde vintre i det sørlige Europa og plantene krever omfattende kultivering. Mais har ikke ville slektninger i vår verdensdel og Bioteknologinemnda mener linjen derfor bare utgjør en minimal risiko for uønsket genspredning ved foreskrevet bruk. Disse forholdene kan likevel endre seg gjennom gradvise klimaendringer.

Bærekraft, samfunnsnytte og etikk

Søker opplyser at linje 98140 ennå ikke er godkjent til dyrking noe sted i verden. I tråd med sitt mandat ber Bioteknologinemnda om flere opplysninger fra søker om hvilke områder i verden linjen anses å være relevant for dyrking.

Enhver omlegging av dyrkingspraksis kan ha helsemessig betydning gjennom endret eksponering hos bønder og landarbeidere for sprøytemidler og ved at innholdet av sprøytemiddelrester i mat og fôr endres. Sprøytemiddeltoleranseenskapene som linje 98140 er tilført er rettet direkte mot dyrkingspraksis og bruken av sprøytemidler. Bioteknologinemnda mener at det ikke er entydig hvilke følger økt bruk av sprøytemiddelresistente linjer som denne har. Effektene varierer fra sted til sted og har nær sammenheng med hvilke produksjonsmåter som avløses, hvilke sorter som fortrenses og hvor fort nye, sprøytemiddelresistente ugress oppstår. Nemnda ber om at søker diskuterer den antatte bruk av sprøytemidler på linje 98140 og sammenholder dette med bruken av plantevernmidler på konvensjonelle maissorter i sammenliknbare regioner. Nemnda ber også søker om å diskutere nærmere hvorvidt bruken av en linje som 98140, som er resistent overfor to klasser sprøytemidler, kan forsinke utviklingen av resistensegenskaper i ugress.

Konklusjon

I denne første innspillsrunden for Pioneer Hi-Breds søknad for maislinje 98140 har Bioteknologinemnda følgende kommentarer og spørsmål:

- Bioteknologinemnda finner det positivt at denne søknaden ikke inneholder konfidensiell dokumentasjon. Dette bør legge press på andre søkere og samtidig tilrettelegge for en prinsipiell diskusjon rundt nødvendigheten av, og etablert praksis rundt, det å unndra offentligheten deler av dokumentasjonen i GMO-søknader.
- Bioteknologinemnda bemerker at det ikke er analysert for C-vitamininnhold i linjen. Dette er en relevant analyseparameter i henhold til OECDs konsensusdokument. Nemnda mener disse retningslinjene i størst mulig grad skal følges.
- Bioteknologinemnda ønsker at søker diskuterer nærmere hvorfor det akkurat er de acetylerede formene av aminosyrene aspartat og glutamat som er analysert i fôr fra den transgene linjen og kontrollinjer og dessuten drøfter hvor spesifikt glyfosat acetyltransferasen i maislinjen virker.
- Søker må diskutere om dyrking av denne maishybridene medfører endringer i dyrkingspraksis slik at dette i sin tur endrer eksponeringen for plantevernmidler hos bønder og landarbeidere (i negativ eller positiv retning) og kan føre til endret innhold av sprøytemiddelrester i mat og fôr.
- Søker bes diskutere om bruken av denne linjen kan forsinke resistensutviklingen hos ugress, all den tid linjen er resistent overfor to sprøytemiddelklasser.
- Bioteknologinemnda ber søker om å diskutere nærmere hvilke regioner og land som er aktuelle produksjonssteder for linje 98140 i tiden som kommer. Ytterligere informasjon om dyrkingsstedene vil være avgjørende for å vurdere bærekraft og etikk.

Med hilsen

Lars Ødegård
Leder

Sissel Rogne
direktør

Saksbehandler: Casper Linnestad

Appendiks:

Genmodifiseringen i linje 98140

Ved hjelp av bakterien *Agrobacterium* er umodne maisembryo genmodifisert. Fra disse ble det regenerert transformerte planter. Den overførte genkonstruksjonen gjør planten tolerant overfor to klasser av plantevernmidler. Det innsatte modifiserte bakteriegenet *gat4621* koder for enzymet glyfosat acetyltransferase (GAT) som acetylerer en amingruppe i glyfosat slik at virkestoffet i dette herbicidet inaktiveres. Enzymet tilhører en stor "familie". Man regner med at det finnes over 10 000 ulike gener for acetyltransferaser i planter, dyr og mikroorganismer.

Det andre innsatt gen, *ZM-HRA*, er en modifisert utgave av et maisgen (*als*) som gir planten toleranse overfor ALS (acetolaktat syntetase)-inhiberende sprøytemidler som tifensulfuron (Harmony) og klorimuron. Genet er endret på to steder i den kodende sekvensen. Det gjør at ALS-sprøytemidler ikke kan binde seg til det modifiserte enzymet og gjennom dette ikke er i stand til å hindre enzymaktiviteten.

Linje 98140 er således tolerant både overfor glyfosat og ALS-sprøytemidler. Ved sprøyting med slike plantevernmidler dør annen vegetasjon fordi syntesen av bestemte aminosyrer stopper opp og proteinsyntesen opphører.

Begge de innsatte genene styres av promotorsekvenser fra mais. Det er ikke satt inn markørgener for antibiotikaresistens.