



Växtodlingsenheten
Staffan Eklöf

YTTRANDE

Dnr 22-3501/96

2004-04-08

EU-kommissionen,
GDMILJÖ;

Utsläppande på marknaden av potatis genetiskt modifierad för ändrad stärkelsesammansättning i enlighet med ansökan C/SE/96/3501

1. Yttrande innehållande bedömning i enlighet med artikel 14.3.a. och Annex VI.5

Jordbruksverket tillstyrker ett utsläppande på marknaden av den genetiskt modifierade potatisklonen EH92-527-1 med följande villkor:

- Sökanden ska följa ansökan.
- Om Jordbruksverket anser att det är nödvändigt ska oberoende aktörer utforma, utföra eller delta i de studier som eventuellt kan föranledas av resultatet från övervakningen, på bekostnad av sökanden.
- Sökanden ska bekräfta tillförlitligheten hos detektionsmetoden innan utsläppande på marknaden sker. Ett ytterligare, oberoende laboratorium ska därför testa parametrarna under punkterna 5.1 och 5.2 i sökandens rapport om detektionsmetoden. Proverna ska vara avidentifierade och alla steg i analysen inklusive DNA-extraktion ska utföras i det laboratoriet.
- Tillståndet gäller i 10 år från dagen för tillståndet.

Föreslagen användning

Potatis EH92-527-1 avses att användas för:

Odling och hantering som annan stärkelsepotatis.

Detta inkluderar produktion och teknisk användning av stärkelsen, användning av biprodukten pulpa som foder och användning av andra biprodukter från stärkelseframställningen som gödsel.

Jordbruksverket bedömer att den föreslagna användningen är säker men att det är viktigt att EH92-527-1 och produkter från EH92-527-1 hindras från att komma in i livsmedelskedjan, eftersom potatisklonen inte är godkänd för livsmedelsanvändning. De åtaganden sökanden har gjort i kvalitetssäkringssyfte och övervakning anser Jordbruksverket räcka även för att hindra EH92-527-1 och produkter från EH92-527-1 från att komma in i livsmedelskedjan.

Riskhantering

Sökanden föreslår ingen riskhanteringsplan, men de åtaganden som sökanden gjort resulterar i en separation från livsmedelskedjan och kontroll av spillplanter.

Jordbruksverket instämmer med sökanden att resultatet från riskbedömningen inte visar på behov av en riskhanteringsplan. De potentiella riskerna är mycket små och är kopplade till vissa osannolika förändringar hos potatisen och effekter som inte förväntas i riskbedömningen. Dessa aspekter behandlas i övervakningsplanen.

ÖVERVAKNINGSPLAN

Den fall-specifika delen övervakningsplanen kommer att fokusera på några osannolika förändringar av potatisen som dock inte kan uteslutas och som kan resultera i en förändrad riskprofil.

Den allmänna delen av övervakningsplanen kommer att fokusera på några nyckelparametrar som skulle kunna signalera senare oväntade negativa effekter på hälsa och miljö.

Jordbruksverket anser att övervakningsplanen uppfyller kraven på att kunna verifiera de antaganden som gjorts i riskbedömningen. Övervakningsplanen utgör också ett väl utformat system för att upptäcka eventuella oväntade händelser som skulle kunna leda till negativa effekter på människors hälsa, djurs hälsa och miljön.

Planen innehåller tillräckligt med detaljer för att göra det troligt att den kommer att fungera.

Sökanden åtar sig även att göra uppföljande studier om resultat från den initiala övervakningen kräver det.

2. Introduktion

Amylogen HB (nedan kallad sökanden) lämnade in en ansökan till Jordbruksverket för utsläppande av en genetiskt modifierad potatis, EH92-527-1 på den europeiska gemensamma marknaden under direktiv 90/229/EG, den 5 augusti 1996 och har senare uppdaterat ansökan till det nu gällande direktiv 2001/18/EG.

Inga dokument i ansökan är konfidentiella.

EH92-527-1 har odlats under många år i fältförsök i Sverige och utfodningsförsök med potatispulpan har genomförts.

3. Genetisk modifiering

Potatis av sorten Prevalent har modifierats genom att genen granule bound starch synthase (*gbss*), från potatis, har satts in i antisense-orientering (bakvänd), för att minska uttrycket av potatisens endogena (inneboende) *gbss*-gen. Syftet är att minska mängden av ogrenad stärkelse, amylos, och öka mängden grenad stärkelse, amylopektin. Genen neomycinfosfotransferas (*nptII*, också kallad *aph* (3')-II), från bakterien *Echerishia coli*, vilken ger resistens mot antibiotikumen kanamycin, neomycin och geniticin, har också introducerats med den genetiska konstruktionen, för att fungera som selektiv markör och därigenom möjliggöra skapandet av den genetiskt modifierade växten.

4. Resultterande förändringar

Den genetiska modifieringen har resulterat i att potatisens endogena *gbss* har nedreglerats och halten amylos är 2 % jämfört med ca 15 % i moderklonen Prevalent och halten amylopektin är 98 % jämfört med ca 85 % i Prevalent. Introduktionen av *nptII* har resulterat i att EH92-527-1 har erhållit resistens mot kanamycin och sannolikt mot neomycin och geniticin.

EH92-527-1 har analyserats för näringsämnen och andra ämnen med betydelse för människors och djurs hälsa. Inga statistiskt signifikanta skillnader finns för de flesta ämnen när hänsyn tas till utbytet (torrsubstans). Även efter det att hänsyn tas till utbytet är dock halterna av socker och C-vitamin högre och halterna av glykoalkaloider lägre i EH92-527-1 än i Prevalent.

EH92-527-1 skiljer sig inte från Prevalent i övriga studerade parametrar.

5. Spårbarhet och märkning

Säckar eller partier av potatis EH92-527-1 kommer att märkas med etikett eller medföljande dokument enligt kraven i bilaga IV till direktiv 2001/18/EG. Bl.a. kommer potatisens unika identifieringskod (BPS-25271-9), transformationshändelsens namn, att potatisen är en genetiskt modifierad organism och att den är avsedd för stärkelseproduktion och inte livsmedelsanvändning att framgå.

Krav på spårbarhet och märkning av produkter vid utsläppande på marknaden samt krav på de aktörer som hanterar den genetiskt modifierade potatisen EH92-527-1 kommer att följa förordningarna (EG) nr 1830/2003¹ och (EG) nr 1829/2003². Kraven på aktörer vad gäller vidarebefordrande och bevarande av uppgifter enligt förordning (EG) nr 1830/2003 kommer att framgå av etiketten eller medföljande dokument.

¹ om spårbarhet och märkning av genetiskt modifierade organismer och spårbarhet av livsmedel och foderprodukter som är framställda av genetiskt modifierade organismer och om ändring av direktiv 2001/18/EG

² om genetiskt modifierade livsmedel och foder

Sökanden har upprättat ett system för särskållning, kontroll och dokumentation, Identity Preservation System (IPS), i kvalitetsst rkingssyfte. IPS kommer även att underlätta uppfyllandet av kraven i de ovan nämnda förordningarna. All odling och hantering kommer att ske inom ramarna för IPS.

Tekniska produkter som produceras av stärkelsen, t.ex. papper avses inte att märkas med GMO. Sådana produkter omfattas inte av några krav på märkning i befintliga regelsystem.

Jordbruksverket bedömer att det system för s rsk llning, kontroll och dokumentering, (IPS) som sökanden, i kvalitetsst rkingssyfte, har upprättat kommer att underlätta uppfyllandet av kraven på spårbarhet och märkning i förordningarna (EG) nr 1829/2003 och (EG) nr 1830/2003.

6. S rsk llning

Jordbruksverket bedömer att s rsk llning av EH92-527-1 är mycket viktig. I synnerhet är det viktigt att EH92-527-1 hindras att komma in i livsmedelskedjan, eftersom potatisklonen inte är godkänd för livsmedelsanvändning.

Sökanden har upprättat ett system för s rsk llning, kontroll och dokumentation, Identity Preservation System (IPS), som innefattar detaljerade redogörelser för uppgifter och ansvar för olika aktörer. Odling och hantering kommer att styras, kontrolleras och övervakas genom manualer, instruktioner, checklistor och rapporteringsformulär i alla produktionskedjans led. Syftet med IPS  r att försäkra att kvaliteten hos EH92-527-1 bibeh lls genom att utesluta att annan potatis blandas in i partier av EH92-527-1. Jordbruksverket bedömer att IPS även omvänt kommer att vara ett effektivt verktyg för att förhindra inblandning av EH92-527-1 i annan potatis och att spårandet av eventuella sammanblandningar underlättas mycket av systemet. Dessutom har sökanden  tagit sig, som en del av den allmänna övervakningen, att anstränga sig att upptäcka och spåra potatisar av klon EH92-527-1 om det finns någon misstanke om att sådana har kommit in i livsmedelskedjan.

7. Detektionsmetoder

GeneScan Analytics har utvecklat en detektionsmetod baserad på TaqMan-realtids-PCR. Metodens känslighet anges till en genkopia. Metoden förefaller vara tillräckligt känslig, robust och specifik för att uppfylla grundläggande acceptanskriterier för en kvalitativ detektionsmetod. Metoden är inte kvantitativ, men det behövs inte eftersom det inte finns ett tröskelvärde för inblandning av EH92-527-1 i annan potatis. Gränsvärdet för inblandning  r noll.

Den av sökanden föreslagna metoden för detektion av EH92-527-1 uppfyller de grundläggande acceptanskriterierna f r en kvalitativ detektionsmetod. Därmed  r Jordbruksverkets krav för att skicka ansökan till EU-kommissionen och de andra medlemsstaterna uppfyllt. Jordbruksverket har i diskussioner med Livsmedelsverket kommit fram till att test av metodens specificitets- och selektivitetsparametrar av ett ytterligare, utomstående laboratorium  r tillräckligt för att säkerställa metodens tillförlitlighet och uppfylla de minimikrav som skulle

ställas på att metoden ska kunna överföras till andra laboratorier enligt bilaga 1 punkten 3.B. i kommissionens förordning (EG) nr 641/2004 (om tillämpningsföreskrifter för Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1829/2003 om ansökan om godkännande för nya genetiskt modifierade livsmedel och foder, anmälan av befintliga produkter och oavsiktlig eller tekniskt oundviklig förekomst av genetiskt modifierat material av vilket det gjorts en positiv riskbedömning). Jordbruksverket ställer därför, med hänvisning till 2 kap. 7 § miljöbalken, som villkor att sökanden ska bekräfta tillförlitligheten hos detektionsmetoden innan utsläppande på marknaden sker. Ett ytterligare, oberoende laboratorium ska därför testa parametrarna under punkterna 5.1 och 5.2 i sökandens rapport om detektionsmetoden. Proverna ska vara avidentifierade och alla steg i analysen inklusive DNA-extraktion ska utföras i det laboratoriet.

8. Samexistens

Det finns inga EU-regler som harmoniserat reglerar samexistens på EU-nivå. Enligt artikel 26a i direktiv 2001/18/EG får medlemsstaterna vidta lämpliga åtgärder för att förhindra oavsiktlig förekomst av genetiskt modifierade organismer i andra produkter. Jordbruksverket bedömer att de eventuella krav som kommer att ställas i samexistenssyfte i olika EU-länder kommer att gälla för de aktörer som odlar och hanterar EH92-527-1.

Sannolikheten för spridning av potatis till angränsande fält är generellt liten. EH92-527-1 faller de flesta av sina blommor innan dessa hinner sprida pollen och pollenproduktionen är låg, varför sannolikheten för spridning av EH92-527-1 är ännu mindre.

Odling och hantering av EH92-527-1 kommer att ske inom ramarna för kvalitetssäkringssystemet IPS, som säkerställer särhållning, kontroll och dokumentering. Jordbruksverket bedömer att detta system tillsammans med potatisens inneboende egenskaper gör att sannolikheten för inblandning av EH92-527-1 i livsmedelskedjan är mycket liten.

9. Bedömning av molekylära data

Sökandens molekylära studier visar sammantaget att större delen av T-DNA:t har gått in vid transformeringen. En rearrangering vid T-DNA:ts vänstra gränsssekvens har skett på så sätt att nopalinsyntetas termineringssekvens och en mindre del av *gbss*-genen har förlorats medan en större del av *gbss*-genen har gått in i omvänd riktning. Sådana rearrangeringar är vanligt förekommande vid transformering med *Agrobacterium tumefaciens*.

Studierna visar även att inga delar av vektorns DNA-sekvens utanför det DNA som avsågs introduceras har introducerats i växten. Inga andra okända DNA-sekvenser har heller rekombinerats in i det insatta T-DNA:t. Några baser av potatisens DNA som flankerar T-DNA:t har sekvenserats på båda sidor. DNA-sekvenserna är inte långa nog för att avgöra dessas ursprung. Mest sannolikt utgörs de flankerande regionerna av kromosomalt potatis-DNA. (De DNA-sekvenser i potatisens kromosom där T-DNA:t integrerades.) Främmande DNA

skulle eventuellt kunna föras in samtidigt med T-DNA:t. Det torde bara kunna finnas två källor till sådant DNA, DNA från *Agrobacterium tumefaciens* och potatisens egna DNA, från ett annat ställe. Jordbruksverket bedömer att resultatet av databassökning visar att DNA:t är av eukaryot ursprung. Det kommer därför högst sannolikt inte från *Agrobacterium tumefaciens*.

Sökanden har sekvenserat hela den införda DNA-sekvensen efter amplifiering med hjälp av PCR. Tre baser som skilde från vektorsekvensen hittades. Detta ligger inom den förväntade felmarginalen för det använda polymeraset. Endast en av dessa baser ligger inom en sekvens som kan ge upphov till ett protein, NptII. Teoretiskt sett skulle en mutation av en antibiotikaresistensgen kunna ändra dess specificitet eller aktivitet. Jordbruksverket anser dock att även om basförändringen i sekvenseringsreaktionerna skulle motsvara verkliga mutationer i det införda DNA:t, så skulle sannolikheten vara mycket liten för att en sådan mutation skulle kunna ge proteinet en ny egenskap som påverkar riskbedömningen. Genen är hämtad från bakterien *Echerishia coli* och finns i naturliga bakteriepopulationer och torde vara optimerad för de förhållanden som råder naturligt. Ett basutbyte är en process som sker ofta under naturliga förhållanden och om det aktuella basutbytet skulle ge bakterien en fördel skulle detta basutbyte redan ha skett och skulle kunna ske när som helst. En enstaka slumpvis förändring av NptII torde i de allra flesta fall leda till oförändrad eller försämrad funktion snarare än förbättrad eller ny funktion.

Ingen Open Reading Frame (ORF, potentiellt aktiv gen) kodande för ett fullständigt protein har hittats förutom *nptII*. Emellertid finns en sekvens med homologi mot första delen av en gen som ger resistens mot antibiotikumet bleomycin (50 av 126 aminosyror) i ORF 4. DNA-sekvensen kommer från *Echerishia coli*. ORF 4 innehåller också en sekvens med homologi mot en del av ornitincyklodeaminas som kommer från *Agrobacterium tumefaciens* (68 av 354 aminosyror). Sökanden har visat att ORF 4 uttrycks på RNA-nivå på samma transkript som ORF 1. En translationsstart i rätt läsram saknas och en stoppkodon finns innan ORF 4. Inget protein kan detekteras och när fragmentet klonas in i *Echerishia coli* under en prokaryot promotor ger det inte resistens mot antibiotikat bleomycin. Ingen homologi finns heller mot kända allergener.

Jordbruksverket bedömer att det är mycket osannolikt att närvaron av ORF 4 i EH92-527-1 skulle kunna innebära en risk.

Själva integreringen i genomet skulle teoretiskt kunna leda till förändringar som skulle kunna påverka bedömningen av hälso- och miljörisker. De risker som är förknippade med en förändring av T-DNA vid införandet i växten och eventuell introduktion av DNA från vektorn utanför T-DNA kan avfärdas efter fullständig sekvensering av det införda DNA:t och studierna av närvaro av DNA från vektorn utanför T-DNA. Endogena (inneboende) gener skulle också kunna ha slagits ut eller ändrat uttrycksnivå eller sammankopplats med andra endogena gener som en följd av introduktionen av T-DNA:t. Detta skulle kunna ske till följd av T-DNA-integrering i en befintlig gen eller av rearrangeringar i samband med integreringen. Sådana effekter kan bli en följd av normala

mutationsprocesser och är således inget som väsentligt skiljer EH92-527-1 från konventionell potatis. En sådan aktivering av endogena gener är också osannolik p.g.a. att vid höger gränsssekvens läser promotorn bort från växtgenomet och vid vänster gränsssekvens finns gbss sekvensen vars transkript bryts ned till följd av antisense/sense inhibition. Det enda kvarvarande scenariot som skulle vara specifikt för EH92-527-1 handlar om uppkomst av eventuella fusionsproteiner mellan produkter av endogena gener och de införda generna. Emellertid finns stoppkodoner mellan generna i T-DNA och växtens genom som gör att fusionsproteiner är mycket osannolika. Därmed ser Jordbruksverket inget behov för riskbedömningen av att bättre känna DNA-sekvensen för det DNA:t i växtens genom som flankerar det införda DNA:t.

10. Bedömning av miljörisiker

Vertikal genöverföring

Potatis förökar sig främst vegetativt med knölar men vissa sorter kan även bilda frön. Pollen kan endast spridas korta sträckor. Korsning mellan potatis och vilda släktingar som finns i Europa kan under naturliga förhållanden inte ge upphov till livskraftiga hybrider. Den genetiskt modifierade potatisen kan därför endast sprida sina gener till odlad potatis. EH92-527-1 och moderklonen Prevalent aborterar de flesta blommorna i förtid och ståndarna producerar nästan inget pollen. Fröplantor och kvarblivna knölar i odlingen förstörs i regel av jordbearbetning och kemisk ogräsbekämpning och konkurreras ut av den efterföljande grödan. Utanför åkermarken har potatis mycket liten konkurrensförmåga, i synnerhet i norra Europa, där potatisen avses odlas.

Horisontell genöverföring

I 1 kap. 6 § förordning (2002:1086) om utsättning av genetiskt modifierade organismer i miljön och i Artikel 4.2 i direktiv 2001/18/EG nämns att genetiskt modifierade organismer som innehåller antibiotikaresistensgener särskilt ska beaktas vid riskbedömningen.

Om spridning av antibiotikaresistensgener sker till patogena bakteriestammar skulle eventuella infektioner orsakade av dessa bakterier inte kunna behandlas med de aktuella antibiotikumen. För att den aktuella användningen av en antibiotikaresistensgen, *nptII*, i potatisen EH92-527-1 ska kunna leda till ett sådant scenario måste horisontell genöverföring ske från potatisen till patogena bakteriers genom. Detta skulle teoretiskt kunna ske i mag-tarmkanalen hos djur utfodrade med restprodukter av EH92-527-1 eller indirekt via DNA-upptag av jordbakterier från växtdelar under nedbrytning följt av en horisontell genöverföring från jordbakterier till patogena bakterier.

Studier visar att mycket hög grad av homologi mellan växtens och bakteriens DNA krävs för att horisontell genöverföring överhuvudtaget ska kunna ske i riktade studier. Under naturliga förhållanden inträder dessutom flera andra begränsningar för att en horisontell genöverföring ska kunna ske och resultera i en population av resistent bakterier, såsom frånvaron av prokaryota

regleringssekvenser kopplade till *nptII* i den aktuella genetiska konstruktionen, fragmentering av DNA och behov av ett selektionstryck vid tiden för genöverföringen. Sannolikheten för att en sådan horisontell genöverföring ska inträffa och resultera i en population av resistenta bakterier under den aktuella användningen bedöms av Jordbruksverket som mycket osannolik om inte samma DNA-sekvens redan finns i mottagarbakterien. De sekvenser som kan vara aktuella är *nptII*-genen och mindre sannolikt promotorn Pnos. Den förra finns hos gram-negativa bakterier som redan är kanamycinresistenta och den senare finns i *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA som är utformat för att sättas in i växter och uttryckas där, inte i bakterien.

Kanamycinresistenta bakterier är allmänt förekommande. *nptII* kan isoleras från människors avföring, gödsel, flodvatten och jordar. Om trots allt en horisontell genöverföring sker till en bakterie som inte redan har kanamycinresistens eller som inte har förmåga att uttrycka och använda sig av resistensgenen, kommer bidraget till poolen av kanamycinresistenta bakterier att vara helt försumbart och mycket mindre än t.ex. vid användning av naturgödsel.

Kanamycin, neomycin och geneticin har liten betydelse inom human- och veterinärmedicin (inget av antibiotikumen används invärtes i Sverige) vilket påverkar både selektionstrycket och därmed sannolikheten för horisontell genöverföring och eventuella konsekvenser av det osannolika scenariet att användning av EH92-527-1 skulle bidra på ett märkbart sätt till poolen av kanamycinresistenta bakterier.

Jordbruksverket bedömer med hänsyn till förhållandena ovan att risken till följd av närvaron av antibiotikaresistensgenen *nptII* i den aktuella potatisklonen är försumbar vid den aktuella användningen.

Konkurrensförmåga

Utanför åkermarken har potatis mycket låg konkurrensförmåga. Detta gäller i synnerhet i norra Europa, där potatisen avses odlas. EH92-527-1 och moderklonen Prevalent kan antas ha ännu mindre långsiktig konkurrensförmåga på grund av att de faller de flesta blommorna i förtid och att de producerar mycket lite pollen. För att potatisen trots dessa egenskaper ska kunna etablera och sprida sig utanför fältet i norra Europa krävs en kraftigt ökad konkurrensförmåga samt förbättrad spridningsförmåga.

Den genetiska konstruktion som har införts ändrar halterna av två stärkelseformer i förhållande till varandra och ger potatisen resistens mot kanamycin. Jordbruksverket utesluter att kanamycinresistens skulle kunna påverka potatisens konkurrensförmåga. Förhöjningen av amylopektinhalten och sänkningen av amyloshalten förväntas inte heller kunna ge någon ökad konkurrensförmåga. Däremot skulle ett högre innehåll av socker teoretiskt kunna ge högre köldtålighet. Med ökad köldtålighet skulle knölna eventuellt få en förbättrad övervintringsförmåga, vilket skulle kunna påverka antalet överliggare och potatisens förmåga att konkurrera utanför fältet. Sökanden har utfört studier av frosttolerans i fält som visar på att EH92-527-1 och Prevalent uppför sig lika.

Sökanden har också gjort ett frystest där knölar av både EH92-527-1 och Prevalent förlorade sin förmåga att gro till följd av behandlingen. Antal överliggare och spridning utanför fältet skiljer inte heller mellan Prevalent och EH92-527-1. De fältförsök som har utförts visar att EH92-527-1 uppför sig på liknande sätt som moderklonen Prevalent under produktionsförhållanden även med avseende bl.a. på morfologi, känslighet för kemisk behandling samt mottaglighet för sjukdomar och skadegörare.

De skillnader som har uppmätts i halter av C-vitamin och glykoalkaloider ligger inom variationen för annan potatis. EH92-527-1 förväntas inte på grundval av dessa ämnen få ökad konkurrensförmåga jämfört med konventionell potatis.

Påverkan på målorganismer

EH92-527-1 har inga målorganismer.

Påverkan på icke-målorganismer

Inga studier har påvisat några signifikanta skillnader i effekterna av Prevalent och EH92-527-1 på icke-målorganismer. Jordbruksverket anser dock att det inte är orimligt att förvänta sig att förändrad stärkelsesammansättning kan komma att påverka vissa mikroorganismer (se Biogeokemiska processer). Högre innehåll av socker och lägre innehåll av glykoalkaloider skulle eventuellt kunna leda till att skadegörare, t.ex. insekter, skulle angripa potatisen i större utsträckning. Flera år av fältförsök på stor areal under produktionsförhållanden har dock inte visat på några sådana skillnader. Dessutom ligger halterna av dessa ämnen inom variationen för konventionell potatis. Antibiotikaresistensen och det högre C-vitamininnehållet bör inte heller kunna påverka icke-målorganismer. C-vitaminhalterna ligger även de inom variationen för konventionell potatis.

Teoretiskt skulle EH92-527-1 kunna påverka andra organismer genom att etablera sig i naturliga växtpopulationer, t.ex. genom att förändra konkurrensförhållanden. I Sverige där potatisen först ska odlas har modersorten Prevalent, som i fältförsök inte har uppvisat skillnader från EH92-527-1 med avseende på spridningsförmåga, inte kunnat etablera sig utanför odlingsmark. En faktor som långsiktigt ger en låg konkurrensförmåga är att både Prevalent och EH92-527-1 faller de flesta blommorna i förtid och nästan inte producerar något pollen.

Biogeokemiska processer

Biogeokemiska processer skulle potentiellt kunna påverkas genom påverkan av olika nedbrytande organismer såsom maskar, collemboler, svampar och bakterier. En påverkan skulle kunna ske vid odling eller vid spridning i fält av restprodukter som gödsel. En viktig förutsättning för en sådan påverkan saknas då EH92-527-1 inte skiljer sig signifikant vad gäller potatisens beståndsdelar från den konventionella potatissorten Prevalent, med undantag för de små skillnader som uppmätts för socker, C-vitamin och glykoalkaloider. Jordbruksverket finner ingen anledning att tro att nedbrytande djur skulle

påverkas betydande av skillnaden i stärkelsesammansättningen eller de små skillnaderna i andra beståndsdelar som uppmätts.

Däremot kan det tänkas att mikrofloran till någon del skulle kunna påverkas av vissa ämnen, främst indirekt som en följd av att ämnena kan fungera som substrat för olika mikroorganismer och att olika mikroorganismer föredrar olika substrat.

Det finns resultat som indikerar att stärkelse av olika sammansättning kan ge små skillnader i mikrofloras sammansättning. Jordbruksverket håller för sannolikt att skillnaderna beror på att stärkelsen erbjuder lite olika substrat. Skillnaderna i tillgängligt substrat och i ämnen som kan påverka andra organismer är emellertid större mellan olika grödor än mellan två potatiskloner med något annorlunda stärkelsesammansättning.

Mikrofloran står under ständigt skiftande påverkan från klimatfaktorer, olika odlingsmetoder och odling av olika grödor och sorter. De skillnader som eventuellt skulle kunna uppmätas vid odling av EH92-527-1 i jämförelse med konventionell potatis skulle vara små och kortvariga, eftersom sammansättningen av mikrofloran drastiskt skulle ändras nästa odlingssäsong, till följd av byte av gröda och annat väder. Sådana eventuella skillnader skulle sannolikt sakna betydelse. En detaljerad utredning av påverkan på mikrofloran inför utsläppande på marknaden eller vid övervakning efter utsläppande på marknaden står inte i proportion till den eventuella risken vid upptäckt av en mindre skillnad i mikrofloras sammansättning.

Hantering och metoder

EH92-527-1 kommer i fält att hanteras som konventionell stärkelsepotatis och odlingsmetoderna kommer att vara desamma som för konventionell stärkelsepotatis. EH92-527-1 har inte befunnits vara mer mottaglig för skadegörare eller sjukdomar.

Sammanfattning av miljörisker

Sammantaget anser Jordbruksverket att sannolikheten för att den sökta användningen av EH92-527-1 skulle resultera i negativa miljöeffekter är mycket liten. Av försiktighetsskäl anser dock Jordbruksverket att det övervakningsprogram som ingår i ansökan är berättigat för att bekräfta antaganden gjorda i riskbedömningen och för att upptäcka eventuella förbisedda risker.

11. Bedömning av hälsorisker

Djurhälsa

Biprodukten pulpa, dvs. det material som återstår efter det att stärkelsen har tillvaratagits, kommer att användas som foder för nötboskap.

Dokumentation visar på variationer mellan år och produktionsplats på flera parametrar. Statistiskt säkerställda förändringar i näringsammansättning i den aktuella klonen och i modersorten Prevalent förekommer med avseende på:

- Högre halt för mono- och disackarider (socker).
- Högre C-vitaminhalt.
- Lägre glykoalkaloidhalt (bl.a. solanin).

Jordbruksverket delar företagets uppfattning att eventuella risker som skulle kunna föreligga med presenterade förändringar är en ökning av halten glykoalkaloider. Den aktuella klonen har emellertid visats ha lägre halter än modersorten Prevalent.

Uppmätta skillnader ligger inom det naturliga variationsintervallet för potatis och bedöms av Jordbruksverket vara av mindre betydelse. Foderprodukten bedöms vara i huvudsak likvärdig (substantially equivalent) med motsvarande icke genetiskt modifierade produkter och inga hälsorisker bedöms föreligga. Den förändring som har dokumenterats ligger inom det normala variationsintervallet för potatis och förändringen som dokumenterats bör snarare ge en positiv hälsoeffekt för djuren än tvärtom.

Skillnaderna kan från närings- och hälsosynpunkt inte betraktas vara betydande vilket stärks av utförd foderförsök. Jordbruksverkets bedömning är med utgångspunkt från uppgifterna i ansökan och den långa kunskap som finns samlad från utfodringsförsök med de aktuella biprodukterna från stärkelseframställning att inga ytterligare utfodringsförsök krävs i detta skede. Det kan dock vara av intresse för sökanden att variationen dokumenteras i uppföljningsprogrammet (post-market monitoring plan) för att säkerställa data under fler säsonger.

Jordbruksverket anser att övervakningsprogrammet även skall omfatta användningen av biprodukten som foder och att betydande avvikelser och eventuella negativa effekter vid användning av biprodukter som foder omedelbart ska rapporteras till Jordbruksverket.

Människors hälsa

EH92-527-1 är inte avsedd till livsmedel. Ansökan och godkännandet under direktiv 2001/18/EG omfattar inte livsmedelsanvändning. Därför har heller ingen fullständig livsmedelsbedömning utförts. Jordbruksverket anser därför att det är mycket viktigt att potatisen hålls utanför livsmedelskedjan. Sökanden har upprättat ett långtgående system för särhållning av EH92-527-1 från konventionell potatis, främst i kvalitetssäkringssyfte, (se rubriken Särhållning). Jordbruksverket anser att detta system tillsammans med potatisens inneboende egenskaper gör att sannolikheten för inblandning av EH92-527-1 i livsmedelskedjan är mycket liten. Den kan dock inte helt uteslutas varför vi nedan beskriver verkets bedömning, med ledning av Livsmedelsverkets remissvar, av hälsoeffekter vid ett litet eller tillfälligt intag.

Amylopektinrik stärkelse utgör ingen hälsorisk för en frisk normalkonsument. Det bör dock nämnas att den grenade stärkelsemolekylen (amylopektin) är snabbare nedbrytbar än motsvarande ogrenade stärkelsemolekyl (amylos). Detta skulle kunna ge oönskade effekter för t.ex. diabetiker som kan få en snabbare höjning av blodglukoshalten än vid intag av annan potatis. I studier där djur eller personer har fått foder eller livsmedel av konventionellt ursprung med olika stärkelsesammansättning under lång tid har effekter på insulin kunnat noteras. Det är därför viktigt att EH92-527-1 hålls väl åtskild från annan potatis så att den inte av misstag förväxlas med matpotatis. Den erhållna ändringen av stärkelsesammansättningen från ca 85 % amylopektin och ca 15 % amylos till 98 % amylopektin och 2 % amylos antas sakna betydelse vid ett litet eller tillfälligt intag. Stärkelse med högt innehåll av amylopektin används redan idag inom livsmedelsindustrin.

Signifikanta skillnader av halter av socker, glykoalkaloider och C-vitamin finns vid en jämförelse mellan EH92-527-1 och moderklonen Prevalent. Dessa halter ligger dock inom den normala variationen för matpotatis. Den lägre halt av glykoalkaloider och högre halt av C-vitamin som finns i EH92-527-1 är snarare till fördel än till nackdel.

EH92-527-1 producerar bara ett nytt protein, NptII, vilket inte visats sig vara toxiskt eller allergent.

12. Övervakning efter marknadsutsläppande

Fallspecifik övervakning

Den fallspecifika övervakningen kommer att omfatta verifiering av följande antaganden från riskbedömningen:

- Potatisen är genetiskt stabil.
- ORF 4 uttrycks inte på proteinnivå.
- Stärkelsesammansättningen och innehållet av glykoalkaloider är stabilt.

Jordbruksverket bedömer att även om sannolikheten är liten för att dessa antaganden är felaktiga så är de viktiga komponenter att övervaka. I synnerhet så är det viktigt att studera hur halten av glykoalkaloider kan komma att variera med odling på olika platser eller vid annan väderlek eftersom tidigare studier har visat på lägre halt hos EH92-527-1 jämfört med moderklonen Prevalent vid stress.

Genetisk och epigenetisk stabilitet är mindre vid *in vitro* kultur än i senare odling i fält. Avvikande individer sorteras ut på tidigt stadium. Klonen EH92-527-1 har odlats under flera år i fält och på stor yta. Den har uppvisat stor stabilitet. Jordbruksverket finner ingen anledning till att stabiliteten ska ändra sig nu. Dessutom förutser Jordbruksverket att sannolikheten är mycket liten för att en eventuell rearrangering av DNA-sekvensen eller ett tystande av den enda aktiva genen *nptIII* skulle kunna leda till förändringar av betydelse för hälso- eller miljörisker.

Jordbruksverket anser att sannolikheten för att translation av ORF4 ska börja ske i potatisen är mycket liten, med tanke på bl.a. att en translationsstart i rätt läsram saknas. Dessutom finns det mycket liten anledning att förvänta sig att ett eventuellt protein från ORF 4 skulle ge negativa hälsoeffekter hos de djur som kommer att äta av potatisens restprodukter, bl.a. med tanke på att ORF 4 innehåller bara en del av två gener och att sekvensen inte har likhet med något känt allergen. Det är därför rimligt att övervakningen utformas så att den uppfyller det viktigaste kriteriet i det här sammanhanget, att upptäcka och undvika det osannolika scenariot att ORF 4 ger upphov till ett protein i en betydande andel av potatisarna.

Allmän övervakning

Allmän övervakning ska möjliggöra upptäckt av negativa effekter som inte förutsågs i riskbedömningen.

I sökandens övervakningsplan under rubiken 2.2. Allmän övervakning sägs att allmän övervakning till stor del grundas på rutinobservationer och innebär insamlande, vetenskaplig utvärdering och rapportering av tillförlitliga vetenskapliga bevis, i syfte att kunna identifiera huruvida oväntade, direkta eller indirekta, omedelbara eller fördröjda negativa effekter har orsakats av utsläppandet på marknaden av en genetiskt modifierad organism i den mottagande miljön i eller utanför jordbruksmiljön.

Dels kommer lantbrukare som odlar EH92-527-1 och lantbrukare som använder restprodukter från EH92-527-1 till foder att få formulär där de kan notera alla möjliga oväntade effekter. I övrigt fokuserar sökandens allmänna övervakningsplan på ett antal nyckelparametrar som skulle kunna signalera att en oförutsedd risk kan finnas. Förändring av vissa av dessa parametrar skulle också vara en förutsättning för att vissa typer av miljöeffekter ska kunna uppstå. Följande fokusområden finns vid starten av den allmänna övervakningen:

- Allmänna egenskaper hos växten, såsom bladverkets färg, växtens storlek och form, tid till blomning, fällning av blommor och tid till mognad.
- Känslighet för sjukdomar och skadegörare.
- Standardmetoders effektivitet för hantering av överliggare/spillplantor i fält.
- Förekomst av potatis utanför fältet – spridning.

Jordbruksverket anser att fokusområdena tillsammans med beredskapen att upptäcka alla möjliga oväntade effekter vid odling och foderanvändning är ett gott verktyg för att upptäcka och motverka eventuella oväntade negativa effekter.

De ingående studierna omfattar nyckelparametrar. För att en miljöeffekt skulle kunna uppstå till följd av användning av EH92-527-1 torde en förändring av någon eller flera av dessa parametrar krävas.

Jordbruksverket anser inte att övervakning av användningen av biprodukter som gödsel behöver göras, av de skäl som nämns under Biogeokemiska effekter. De

övervakningsåtgärder som krävs måste ha en rimlig chans att ge ett användbart resultat och vara rimligt kostnadseffektiva.

Analys, rapportering, översyn och tillsyn

Analys av data och rapportering kommer att utföras av sökanden. De behöriga myndigheterna, i synnerhet Jordbruksverket, kommer att ta emot rapporterna, göra egna analyser och vara involverade i översynen av övervakningen. Samtliga data kommer att göras tillgängliga för de behöriga myndigheterna.

Den fallspecifika övervakningen kommer att generera siffervärden enligt förutbestämda metoder. Myndigheternas objektiva analys underlättas av detta. Den allmänna övervakningen däremot kommer att handla om att upptäcka eventuella effekter som inte tidigare har förutsetts. Till viss del kommer denna övervakning inte att generera siffervärden. Därför är behovet av en utomstående aktör i denna del av den allmänna övervakningen större. Upptäckt och primär rapportering av oväntade effekterna ska ske till viss del av lantbrukare vid odling, hantering och foderanvändning. Av många skäl är lantbrukarna en ändamålsenlig grupp övervakningsaktörer. De är i högre grad oberoende än anställda hos sökanden och de har kännedom om vad som är förväntat vid deras odlingsförhållanden.

Tillsyn av att övervakningssystemet fungerar tillfredsställande med avseende på rapportering och analys av oförväntade effekter kan göras av tillämpliga tillsynsmyndigheter. Jordbruksverket kommer att utföra sådan tillsyn inom Sverige genom stickprov.

Sökanden har åtagit sig att upprätta studier för kvantifiering av en upptäckt effekt eller andra riktade studier som föranleds av övervakningsresultatet. Beslut om sådana ska tas i samråd med de behöriga myndigheterna. Jordbruksverket har dessutom fogat in ett villkor till godkännandet att om Jordbruksverket anser att det är nödvändigt ska oberoende aktör(-er) utforma, utföra eller delta i de studier som eventuellt kan föranledas av resultatet från övervakningen

Jordbruksverket bedömer sökandens övervakningsplan, tillsammans med Jordbruksverkets villkor, som ändamålsenlig och tillräcklig.

I detta ärende har generaldirektören Mats Persson beslutat. Handläggaren Staffan Eklöf har varit föredragande. I den slutliga handläggningen har också deltagit chefsjuristen Ellinor Persson, avdelningschefen Carl Johan Lidén, enhetscheferna Gabriella Cahlin och Stig Widell, handläggarna Jenny Andersson, Malin Carlsson, Kjell Wejdemar och Anders Wennström samt juristen Conny Öhman.



Mats Persson



Staffan Eklöf

Kopia till: Amylogen HB, c/o Plant Science Sweden AB

2004-04-15

European Commission
DG ENV,

Assessment report of the Swedish Competent Authority on the placing on the market according to notification C/SE/96/3501

1. Statement containing the conclusions according to Article 14.3.a and Annex VI.5

The Swedish Board of Agriculture concludes that the genetically modified potato clone EH92-527-1 should be placed on the market for the proposed use, on the following conditions:

- The Notifier shall comply with the commitments in the notification.
- If the Swedish Board of Agriculture considers it necessary, external experts, on the Notifiers expense, shall design, carry out or participate in those studies that may potentially be triggered by the results of the monitoring.
- The Notifier shall confirm the reliability of the detection method before EH92-527-1 is placed on the market. An additional external laboratory shall therefore test the parameters under points 5.1 and 5.2 in the Notifiers report on the detection method. The samples shall be deidentified and all steps in the analysis, including DNA-extraction, shall be performed in that laboratory.
- The consent is valid for 10 years from the day of the issuing of the permit.

Proposed use

Potato clone EH92-527-1 is proposed to be used for:

Cultivation and handling as any other starch potato.

This will include production and non-food, non-feed use of the starch, feed use of pulp from starch processing and use of by-products as fertilisers.

The Swedish Board of Agriculture concludes that the proposed use is safe but that it is important that EH92-527-1 and products derived from EH92-527-1 are kept separated from the food chain, since a full assessment for food use has not been performed. The commitments of Amylogen HB (hereafter called the Notifier) in the notification, for the purpose of quality assurance and monitoring,

are sufficient for The Swedish Board of Agriculture to conclude that these products will be kept out of the food chain.

Risk management

The Notifier suggests no risk management actions, but commitments of the Notifier will result in separation of EH92-527-1 from the food chain and the management of volunteer plants.

The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that the result of the risk assessment does not call for risk management actions. The potential risks are very small and connected with certain unlikely changes of the potato and effects that have not been anticipated in the risk assessment. These are addressed by the Monitoring plan.

Monitoring plan

The case-specific part of the monitoring plan focuses on some unlikely changes of the potato that might lead to an altered risk-profile and which cannot be excluded.

The general surveillance part of the plan focuses on key parameters, which could signal later unanticipated negative effects on health and environment.

The Swedish Board of Agriculture considers that the monitoring plan fulfils the requirements to verify the assumptions from the risk assessment. The monitoring plan also constitutes a system fit to detect the potential occurrence of unanticipated events that might lead to adverse effects on human health, animal health and the environment.

The plan has enough details to make plausible that it will function.

The plan also contains commitments for follow-up studies if this would be needed as a consequence of initial monitoring results.

2. Introduction

The Swedish competent authority, The Swedish Board of Agriculture, has received a notification from the Notifier for consent to market the genetically modified potato, EH92-527-1. The dossier was first received on 5 August 1996 under directive 90/220/EC, but has since been updated on 17 January 2003 to follow the directive 2001/18/EC.

The Notifier claims no confidentiality of documents in the dossier.

EH92-527-1 has been cultivated for many years in field releases in Sweden and a study using the pulp as feed has been performed.

3. Genetic modification

The potato variety Prevalent has been modified by incorporating the gene granule bound starch synthase (*gbss*) in antisense orientation to reduce the expression of the potatoes endogenous *gbss*-gene. The purpose is to reduce the

level of amylose, and increase the level of amylopectin. The gene neomycin phosphotransferase (*nptII* also known as *aph (3')-II*) from the bacterium *Escherichia coli*, that gives resistance to the antibiotic Kanamycin, Neomycin and Geneticin, has also been introduced as a selective marker gene.

4. The result of the modifications

The genetic modification has caused a reduced expression of the potatoes endogenous *gbss* and as a result, the content of amylose in EH92-527-1 is 2% compared to approximately 15% for the parent variety Prevalent and the content of amylopectin is 98% compared to approximately 85% in Prevalent. The introduction of *nptII* has also resulted in that EH92-527-1 has received a resistance against Kanamycin and possibly also against Neomycin and Geneticin.

Nutrients and other substances important for human and animal health have been analysed in EH92-527-1, and no statistical differences are found for most substances when difference in yield is compensated for (counted as dry-weight). Even after compensation for difference in yield, EH92-527-1 contains more sugar and C-vitamin and less glycoalkaloids compared to the parent variety Prevalent.

In all other parameters studied no difference was found between the two potato clones.

5. Traceability and labelling

Bags and consignments containing the potato EH92-527-1 will be labelled or have enclosed documents according to the requirements in appendix IV of the directive 2001/18/EC. The information will include for example the unique identification code (BPS-25271-9), the name of the transformation event, that the potato has been genetically modified and that it is meant for starch production and not as food.

Demands on traceability and labelling of products at the time of placing on the market and demands on actors handling the genetically modified potato EH92-527-1 will be subjected to the requirements of Regulations (EC) No 1830/2003 and (EC) No 1829/2003. The demands on actors to forward and save information according to the requirements of Regulation (EC) No 1830/2003 will be evident on labels or on enclosed documents.

The Notifier has established a system for separation, control, and documentation, Identity Preservation System (IPS) in order to assure quality. IPS will also make it easier to fulfil the requirements of the above-mentioned regulations. All growing and handling will take place under the IPS setting.

Technical products produced from the starch, e.g. paper, will not be GMO-labelled. Such products are not encompassed by existing requirements for traceability and labelling.

The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that the system of separation, control and documentation, (IPS), that the Notifier has established for quality

assurance, will facilitate the fulfilling of the demands of traceability and labelling in the Regulations (EG) No 1829/2003 and (EG) No 1830/2003.

6. Separation of the product line

The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that keeping the product line EH92-527-1 separate is very important. Particularly, it is important to prevent EH92-527-1 from entering the food production chain, since EH92-527-1 is not approved for food-use.

The Notifier has created a system for separation, control and documentation, the Identity Preservation System (IPS), which gives detailed account for the tasks and responsibilities of the different actors. The cultivation and handling will be governed, controlled and supervised through manuals, instructions, checklists and report forms at all the levels of the production. The purpose of IPS is to assure the quality of EH92-527-1 by keeping other potato cultivars separated from EH92-527-1. The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that IPS also will work the other way and effectively prevent EH92-527-1 to be mixed into other cultivars of potato and that the tracking of potential mix-ups will be facilitated by the IPS. In addition, the Notifier has committed itself, as a part of the general surveillance, to make efforts to detect and track down potatoes of the line EH92-527-1 if there is any suspicion that such potatoes have entered the food production chain.

7. Detection methods

GeneScan Analytics has developed a detection system based on TaqMan-real time-PCR. The sensitivity of the method has been declared to be one gene copy. The detection method appears to have satisfying sensitivity, robustness and specificity to fulfil the basic acceptance criteria for a qualitative detection method. The method is not quantitative. This is not needed, as there is no threshold value for presence of EH92-527-1 in lots of other potatoes. There is null acceptance for admixture.

Since the method of detection of EH92-527-1 suggested by the Notifier fulfils the fundamental acceptance criteria for a qualitative detection method, the Swedish Board of Agriculture considers that the notification can be submitted to the EU-commission and the other member states. The Swedish Board of Agriculture has after discussions with the Swedish National Food Administration come to the conclusion that validation of the specificity and selectivity parameters by one additional, external laboratory will be sufficient to determine the reliability of the method and to fulfil the minimum demands that would be put on the robustness of the method for inter-laboratory transferability according to Annex 1 point 3.B. in Commission Regulation (EC) No 641/2004 (on detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council as regards the application for the authorisation of new genetically modified food and feed, the notification of existing products and adventitious or technically unavoidable presence of genetically modified material which has benefited from a favourable risk evaluation). The Swedish

Board of Agriculture therefore adds a condition to the suggested approval that the Notifier shall confirm the reliability of the detection method before the market release. One, additional external laboratory shall therefore test the parameters mentioned under points 5.1 and 5.2 in the Notifiers report of the detection method. The samples shall be deidentified and the external laboratory shall perform all steps in the analysis, including the DNA-extraction.

8. Co-existence

Today there are no EU regulations that regulate coexistence on the EU-level in a harmonised fashion. According to article 26a in directive 2001/18/EG member states may take appropriate measures to prevent unintentional presence of genetically modified organisms in other products. The Swedish Board of Agriculture makes the assessment that any resulting demands posed in different member states will be valid also for the actors cultivating and handling EH92-527-1.

The probability of dispersal of potatoes to adjacent fields is generally small. The pollen production of the flowers of EH92-527-1 is low and most of the flowers are shed before the pollen is ready, which makes the probability of dispersal through pollen very low.

Cultivation and handling of EH92-527-1 will take place within the frames of the quality assurance system IPS, which will secure separation, control and documentation. The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that this system together with the inherent traits of the potato will make the probability very unlikely of EH92-527-1 involuntarily entering the food production chain.

9. Evaluation of molecular data

From the studies provided by the Notifier it can be concluded that most parts of the T-DNA have been inserted during transformation. A rearrangement at the T-DNAs left boarder sequence has taken place so that the nopalin syntethase terminator sequence and a smaller part of the *gbs*-gene have been deleted, whereas a larger part of the *gbs*-gene has been inserted in reversed orientation. Such rearrangements are commonly found after transformations with *Agrobacterium tumefaciens*.

The studies also show that no parts of the DNA-sequence of the vector apart from the T-DNA have been introduced into the plant genome. No other unknown DNA-sequences have been recombined in to the inserted T-DNA. Some bases from the DNA flanking the T-DNA have been sequenced on both sides. The DNA-sequences are not long enough to determine their origin. Most likely, the flanking regions are made up of chromosomal potato-DNA (those DNA-sequences in the potato chromosome where T-DNA has been integrated). Foreign DNA could possibly be integrated together with the T-DNA. However, there should only be two sources for this DNA, DNA from *Agrobacterium tumefaciens* and DNA from the potato itself from another part of the genome. The Swedish Board of Agriculture argues, based on the result of a data base

search on the immediately flanking sequences, that the DNA is most probably of eucaryote origin, and not from *Agrobacterium tumefaciens*.

The Notifier has sequenced the whole inserted DNA-sequence after amplification with PCR. Three bases that differed from the vector sequence were found. This is within the expected error for the used polymerase. Only one of these bases is placed within a sequence that may give rise to a protein, NptII. Theoretically a mutation of an antibiotic resistance gene could result in altered specificity or activity of the protein. The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that even if the base changes in the sequence reaction would correspond to real mutations in the inserted DNA, the likelihood would be very small for those mutations to cause altered qualities to the protein which would affect the risk assessment. The gene comes from the bacteria *Echerishia coli* and is found in natural bacterial populations and should be well adapted to natural conditions of its environment. If the current discussed base exchange would give the bacteria an advantage under natural conditions this would already have been taken place as base exchange is a natural process that frequently occurs in natural situations. Furthermore, single random alterations of NptII are likely to, in most situations, result in unchanged or reduced functions rather than enhanced or new functions.

No Open Reading Frame (ORF, potentially active gene) coding for a complete protein has been found except for *nptII*. However, there is a sequence with homology to the first part of a gene that gives resistance against the antibiotic Bleomycin (50 of 126 amino acids) in ORF4. The DNA-sequence comes from *Echerishia coli*. ORF4 contains also a sequence with homology to a part of the ornitincyklodeaminase that comes from *Agrobacterium tumefaciens* (68 of 354 amino acids). The Notifier has shown that ORF 4 is expressed on RNA-level on the same transcript as ORF 1. A translation start in the correct reading frame is missing and a stop codon is present before ORF 4. No protein can be detected and when the fragment has been cloned in to *Echerishia coli* under a prokaryotic promoter it does not provide resistance against the antibiotic Bleomycin. No homology is found to known allergens.

Therefore, the Swedish Board of Agriculture considers it to be highly unlikely that the presence of ORF 4 in EH92-527-1 would imply a risk.

The integration itself could theoretically lead to changes that could influence the estimation of health and environmental risks. The risks that are connected with changes in the T-DNA at the introduction into the plant and a potential introduction of DNA from the vector outside the T-DNA can be dismissed after a complete sequencing of the introduced DNA and analyses of potential presence of DNA from the vector outside T-DNA. Endogenous genes may also have been knocked out, have changed expression level, or been fused with other endogenous genes, as a consequence of the introduction of the T-DNA. This could happen as a consequence of T-DNA introduction in an already present gene or by rearrangements in connection with the introduction itself. Such effects may also arise as a consequence of normal mutations and are thus nothing

that especially distinguishes EH92-527-1 from conventional potatoes. Such an activation of endogenous genes is also improbable because at the right border sequence, the promoter does not read towards the plantgenome and at the left border sequence is the gbss-sequence whose transcript is broken down as a consequence of the antisense/sense inhibition. The only remaining scenario that would be specific to EH92-527-1 would be formation of potential fusion-proteins between products of endogenous genes and the introduced genes. However, there are stop-codons between the genes in the T-DNA and the genome of the plant, that will make the formation of fusion-proteins very unlikely. The conclusion of the reasoning above is that the Swedish Board of Agriculture sees no need for the risk assessment of further analysing the sequences of the plant genome flanking the introduced DNA.

10. Environmental risk assessment

Vertical gene flow

Potato is mostly propagated vegetatively with tubers, but certain varieties can also form seeds. Pollen can only spread a short distance. Crosses between potato and wild relatives in Europe cannot under natural conditions result in vital hybrids. The genetically modified potato can therefore only spread its genes to cultivated potatoes. EH92-527-1 and the mother clone Prevalent abort most flowers prematurely, and the stamens produce almost no pollen. Seed plants and plants from tubers that have been left behind during cultivation are usually destroyed by tilling or chemical weed management, and are out-competed by the next crop in the rotation. Outside arable land, potato has a very low competitiveness, particularly in northern Europe, where the potato in question is meant to be cultivated.

Horizontal gene flow

In Article 4 (2) of Directive 2001/18/EC, it is stated that genetically modified organisms which contain genes expressing resistance to antibiotics shall be taken into particular consideration when carrying out an environmental risk assessment.

If genes expressing resistance to antibiotics are spread to pathogenic strains of bacteria, infections caused by such bacteria would not be treatable by the antibiotics in question. In order for the use in question of the antibiotic resistance gene, *nptII*, in the potato EH92-527-1 to result in such a scenario, horizontal gene transfer must take place from the potato to the genome of pathogenic bacteria. Theoretically, this could happen in the gastro-intestinal tract of animals fed by-products of EH92-527-1, or indirectly via DNA uptake of soil bacteria from decomposing plant parts followed by horizontal gene transfer from soil bacteria to pathogenic bacteria.

Studies show that a very large degree of homology is required between the plant's and the bacteria's DNA in order for horizontal gene transfer to take place at all in targeted studies. Under natural conditions, several other factors become

important, which further limit the possibility of horizontal gene transfer resulting in a population of resistant bacteria, such as the absence of prokaryote regulation sequences linked to *nptII* in the genetic construct in question, DNA fragmentation and the need for selection pressure at the time of the gene transfer. The Swedish Board of Agriculture believes that it is very unlikely that such a horizontal gene transfer would take place and result in a population of resistant bacteria as a consequence of the use in question, unless the same DNA sequence already exists in the receiving bacteria. The sequences that may be relevant are the *nptII* gene and, less likely, the promoter Pnos. The former exists in gram-negative bacteria that already are resistant to kanamycin, and the latter in *Agrobacterium tumefaciens* T-DNA, which is designed to be inserted into plants and expressed there, not in the bacteria.

Kanamycin-resistant bacteria are common. *nptII* can be isolated from human faeces, manure, river water and soils. In the unlikely event that a horizontal gene transfer takes place to a bacterium that does not already have a functional kanamycin resistance, the contribution to the pool of kanamycin-resistant bacteria will anyway be negligible and much less than for instance as a result of the use of manure.

Kanamycin, neomycin and geneticin are of little importance for human and veterinary medicine (neither antibiotic is for internal use in Sweden), which has an effect on both the selection pressure and thereby the likelihood of horizontal gene transfer, and on possible consequences of the unlikely scenario that use of EH92-527-1 would significantly contribute to the pool of kanamycin-resistant bacteria.

Taking the facts above into account, the Swedish Board of Agriculture considers that the risk posed by the presence of the antibiotic resistance gene *nptII* in the relevant potato clone is negligible for the use in question.

Competitive ability

Potato has a very low competitiveness outside arable land. This is particularly true in northern Europe, where the potato in question is to be grown. EH92-527-1 and the mother clone Prevalent can be assumed to have even less long-term competitive ability, since they shed most flowers prematurely and produce very little pollen. In order for the potato to establish itself in spite of these characteristics and spread outside the field in northern Europe, its competitive ability would have to increase considerably.

The genetic construct that has been introduced alters the content of two forms of starch in relation to each other, and makes the potato resistant to kanamycin. The Swedish Board of Agriculture rules out the possibility that kanamycin resistance could influence the potato's competitive ability. The increased level of amylopectin and the reduced level of amylose are also not believed to result in increased competitive ability. On the other hand, increased sugar content could theoretically result in greater freezing resistance. Increased freezing resistance might give the tubers improved ability to survive during the winter, which could

have an effect on the number of volunteers and the potato's ability to compete outside the field. The Notifier has performed studies of frost tolerance in the field, showing that EH92-527-1 and Prevalent behave in the same way. The Notifier has also carried out a freezing test where tubers of both EH92-527-1 and Prevalent lost their germination capacity because of the treatment. There is also no difference in the number of volunteers or spreading outside the field between Prevalent and EH92-527-1. The field trials carried out show that EH92-527-1 behaves in a similar way to the mother clone Prevalent under production conditions also as regards i.a. morphology, sensitivity to chemical treatment and receptiveness to diseases and pests.

The differences measured as regards levels of vitamin C and glycoalkaloids are within the variation for other potatoes. EH92-527-1 is not expected to obtain increased competitive ability compared to conventional potatoes as a result of the observed changes of these substances.

Effect on target organisms

EH92-527-1 has no target organisms.

Effect on non-target organisms

No studies have indicated any significant difference as regards the effect of Prevalent and EH92-527-1 on non-target organisms. However, the Swedish Board of Agriculture believes that it is not unreasonable to expect that altered starch composition may have an effect on certain micro-organisms (see Biogeochemical processes). Increased content of sugar and reduced content of glycoalkaloids might possibly result in pests (e.g. insects) attacking the potato to a larger extent. However, several years of field trials on large areas under production conditions have not indicated any such differences. In addition, the levels of these substances are within the variation for conventional potatoes. Also, the antibiotics resistance and the increased vitamin C content should not be able to affect non-target organisms. The levels of vitamin C are also within the variation for conventional potatoes.

Theoretically, EH92-527-1 could have an effect on other organisms if it would be establishing itself in natural plant populations, for instance by competing or changing interactions between other organisms, so called apparent competition. In Sweden, where the potato is to be grown first, the mother variety Prevalent – which is not significantly different in spreading ability from EH92-527-1 – has not been able to establish itself outside arable land. A factor that provides low competitive ability in the long term is that both Prevalent and EH92-527-1 shed most flowers prematurely, and produce almost no pollen.

Biogeochemical processes

Biogeochemical processes could potentially be influenced through effects on various decomposition organisms like worms, collembols, fungi and bacteria. Such an effect could occur during cultivation or when residue products like

manure are spread on fields. One important precondition for such an influence is lacking, since EH92-527-1's composition is no different from that of the conventional potato variety Prevalent, with the exception of the small differences observed for sugars, C-vitamin and glycoalkaloids. The Swedish Board of Agriculture sees no reason to believe that animal decomposers would be significantly affected by the difference in starch composition or the small differences in other substances that have been observed.

On the other hand, micro-flora might be affected to some extent by certain of these substances, mainly as a consequence of the substances' ability to function as substrates for various microorganisms, and the fact that different microorganisms prefer different substrates.

There are results that indicate that starch of different composition may result in small differences in the soil micro-flora composition. The Swedish Board of Agriculture finds it likely that the differences depend on the starch offering slightly different substrates. The differences in available substrates and in substances that can affect other organisms are however larger between two different crops than between two potato clones with slightly different starch composition.

The micro-flora is constantly exposed to shifting effects of climate factors, different cropping methods and cultivation of different crops and varieties. Differences that might be measured during cultivation of EH92-527-1 in comparison with conventional potatoes would be small and of short duration, since micro-flora composition would change radically the next cropping season as a result of switching to other crops and different weather. Such possible differences would probably be of no significance. A detailed investigation of effects on the micro-flora before placing on the market or in a monitoring program would not be proportional to the possible risk from the putative detection of a minor difference in micro-flora composition.

Handling and methods

EH92-527-1 will in the field be handled like conventional starch potatoes, and the cropping methods will be the same as for such potatoes. EH92-527-1 has not been found to be more susceptible to pests or diseases.

Summary of environmental risks

On the whole, the Swedish Board of Agriculture believes that there is a very small possibility that the use of EH92-527-1 applied for could result in negative environmental effects. For reasons of caution, however, the Swedish Board of Agriculture believes that the monitoring programme included in the application is justified, in order to confirm assumptions made in the risk analysis, and in order to detect any risks that have been overlooked.

11. Health risk assessment

Animal health

The by-product pulp, that is the material that remains after the starch has been extracted, will be used as bovine feed. Documentation shows variations in several compositional parameters between years and place of production. Statistically significant changes in nutrient composition in the relevant clone and in the mother variety Prevalent exist as regards

higher level of mono- and disaccharides,

higher level of vitamin C,

lower level of glycoalkaloids (i.a. solanine).

The Swedish Board of Agriculture shares the company's view that the risk that might result as a consequence of the changes presented is that of increased level of glycoalkaloids. However, the clone in question has been shown to contain lower levels than the mother variety Prevalent.

The measured differences fall within the natural variation interval for potatoes, and the Swedish Board of Agriculture finds it of little significance. The feed product is deemed to be substantially equivalent to the corresponding non-GM products, and no health risk is believed to exist. The documented change is within the normal variation interval for potatoes, and the documented change should rather result in a positive health effect on the animals rather than the reverse.

From a nutrition and health point of view the differences cannot be seen as significant, a view that is emphasised by feed trials. Given the data provided in the application and the long experience gained from feed trials of such by-products of starch production, the Swedish Board of Agriculture believes that no additional feed trials are required at this stage. However, the Notifier may have an interest in documenting the variation in the post-market monitoring plan, in order to obtain data for several seasons.

The Swedish Board of Agriculture is of the opinion that the monitoring plan should also include the use of the by-product as feed. Significant deviations and any negative effects associated with the use of by-products as feed should be reported immediately to the Swedish Board of Agriculture.

Human health

EH92-527-1 is not intended for food. The application and approval under Directive 2001/18/EC does not comprise food use. Therefore, no complete food evaluation has been performed. The Swedish Board of Agriculture therefore finds it very important that the potato is kept out of the food chain. The Notifier has established a far-reaching quality assurance system for keeping EH92-527-1 separate from other potatoes (see under the heading Separation). The Swedish Board of Agriculture believes that this system in combination with the innate

characteristics of the potato makes it very unlikely that EH92-527-1 would get into the food chain. However, it cannot be completely ruled out. Therefore, we describe below the Board's estimation – based on the comments from the Swedish National Food Administration – of health effects of a small or temporary intake.

Starch rich in amylopectin does not constitute a health risk to a healthy normal consumer. However, the branched starch molecule (amylopectin) is digested quicker than the corresponding non-branched starch molecule (amylose). This could result in undesirable effects for i.a. diabetics, who could experience a swifter increase in blood glucose levels than intake of other potatoes would result in. Effects on insulin have been noted in studies where animals or people for a long time ate feed or food of conventional origin with different starch composition. It is therefore important that EH92-527-1 is kept well separated from other potatoes, in order to avoid confusion with food potatoes. The obtained difference in starch composition, from ca 85 % amylopectin and ca 15 % amylose to 98 % amylopectin and 2 % amylose, is believed to be of no importance in cases of low or temporary intake. Starch rich in amylopectin is already today used in the food industry.

Significant differences in levels of sugar, glycoalkaloids and vitamin C exist in a comparison between EH92-527-1 and the mother clone Prevalent. However, these levels are within the normal variation for food potatoes. The lower level of glycoalkaloids and higher level of vitamin C in EH92-527-1 is an advantage rather than a drawback.

EH92-527-1 produces only one new protein, NptII, which has not been shown to be neither toxic nor allergenic.

12. Post-Market Monitoring

Case-specific monitoring

The case-specific monitoring will comprise verification of the following assumptions of the risk assessment:

- the genes of interest remain stably inserted,
- the ORF 4 is not expressed at the protein level, and
- the starch composition and the glycoalkaloid content are stable.

The Notifier has developed methods and accounted for sampling and analysis. The suggested case-specific monitoring will continue for five years. After that period the monitoring plan will be evaluated and there will be a possibility for the Swedish Board of Agriculture to revise the monitoring which may result in extension and alterations to the monitoring plan.

The base-line for the parent variety Prevalent and the genetically modified EH92-527-1 are the data the Notifier gathered during previous years cultivation and analysis.

In the Swedish Board of Agriculture's opinion, there is little probability of these assumptions being wrong, but it is still important to monitor these components. In particular, it is important to study how the glycoalkaloid content may turn out to vary depending on the place of cultivation or the weather, since previous studies have indicated a lower level in EH92-527-1 compared to the mother clone Prevalent under stress.

Genetic and epigenetic stability is lower for *in vitro* culture than in later cultivation in the field. Deviating individuals are sorted out at an early stage. The clone EH92-527-1 has been grown for several years in the field and on large areas. It has shown large stability. The Swedish Board of Agriculture sees no reason why this stability should change now. In addition, the Swedish Board of Agriculture predicts that it is very unlikely that a possible rearranging of the DNA sequence or a silencing of the only active gene, *ntpII*, could lead to changes of importance for health or environmental risks.

The Swedish Board of Agriculture considers it very unlikely that translation of ORF4 could happen in the potato, considering i.a. that a translational start in the right reading frame is missing. Furthermore, there is very little reason to expect that the possible expression of a protein from ORF4 would result in negative health effects in animals that will eat the by-products of the potato, considering i.a. that ORF 4 only contains a part of two genes, and that the sequence does not show significant homology to any known allergen. It is therefore reasonable that monitoring is designed to fulfil the most important criterion in this context, that is to detect and avoid the unlikely scenario that ORF 4 causes a protein to occur in a significant share of the potatoes.

General surveillance

General surveillance shall enable detection of effects unanticipated in the risk assessment.

In the Post-market monitoring plan under the heading 2.2. General surveillance it is stated the following: General surveillance is largely based on routine observation and implies the collection, scientific evaluation and reporting of reliable scientific evidence, in order to be able to identify whether unanticipated, direct or indirect, immediate or delayed adverse effects have been caused by the placing on the market of a genetically modified crop in its receiving agronomic or non-agronomic environment.

Farmers that cultivate EH92-527-1 and farmers that use by-products of EH92-527-1 in feed will receive forms where they are told to note all possible unexpected effects. The other part of the Notifier's general monitoring plan focuses on a number of key parameters that could signal the existence of an unforeseen risk. Changes in some of these parameters should also be a precondition for certain kinds of environmental effects to arise. The following focus areas apply at the beginning of the general monitoring:

- General characteristics of the plant, as to colour of the foliage, size and shape of the plant, time to flowering, abortion of flowers, and time to maturity.
- Susceptibility to diseases and pests.
- Management of volunteer potatoes by standard practices.
- The presence of potatoes outside the field – spread.

The general surveillance plan will run throughout the whole consent period, 10 years.

The base-line is the data that the Notifier has gathered during previous years of cultivation and analysis.

The Swedish Board of Agriculture believes that the monitoring of the chosen focus areas and the preparedness to detect all possible unexpected effects during cultivation and feed use are good tools for detecting and counteracting any unexpected adverse effects.

The relevant studies comprise key parameters. In order for an environmental effect to arise as a result of the use of EH92-527-1, a change in one or several of these parameters would probably be necessary.

The Swedish Board of Agriculture does not find it necessary to monitor the use of by-products as fertilizer, for the reasons mentioned under Biogeochemical effects. The monitoring measures required must have a reasonable chance of producing a useful result, and be reasonably cost-efficient.

Analysis, reporting, review and supervision

Data analysis and reporting will be carried out by the Notifier. The competent authorities, especially the Swedish Board of Agriculture, will receive the reports, perform their own analyses and be involved in the review of the monitoring. All data will be made available to the competent authorities.

The case-specific monitoring will generate figures in accordance with established methods. This facilitates the authorities' objective analysis. On the other hand, the general monitoring will be about detecting possible unforeseen effects. To a certain extent, this monitoring will not result in figures. This means that there is more need for an external actor in this part of the general monitoring. To some extent, detection and primary reporting of the unexpected effects will be done by farmers during cultivation, handling and feed use. For many reasons, the farmers are a useful group of monitoring actors. They are more independent than the Notifier's employees, and they have experience from their cultivation conditions.

Supervision of that the monitoring system is functioning satisfactory as regards reporting and analysis of unexpected effects can be done by the relevant inspection authorities. The Swedish Board of Agriculture will carry out such supervision in Sweden via spot checks.

The Notifier has committed itself to establish studies on quantifying a detected effect, or other targeted studies motivated by the outcome of the monitoring. Decisions on such studies shall be taken in consultation with the competent authorities. The Swedish Board of Agriculture has also added a condition to the approval: if The Swedish Board of Agriculture considers it necessary, external experts, on the Notifiers expense, shall design, carry out or participate in those studies that may potentially be triggered by the results of the monitoring.

The Swedish Board of Agriculture finds that the Notifier's monitoring plan, together with the Swedish Board of Agriculture's condition constitute an appropriate and sufficient monitoring system.

Director General Mats Persson has decided in this matter. Administrative Officer Staffan Eklöf has presented the matter. In the final handling have also participated Chief Lawyer Ellinor Persson, Head of Department Carl Johan Lidén, Heads of Divisions Gabriella Cahlin and Stig Widell, Administrative Officers Jenny Andersson, Malin Carlsson, Kjell Wejdemar and Anders Wennström and the Lawyer Conny Öhman.

Mats Persson

Staffan Eklöf

Copy to: Amylogen HB, c/o Plant Science Sweden AB and BASF Plant Science Holding GmbH