



ПРИМЕР 25:

Национальный компетентный орган регистрирует оценку риска и решение об импорте хлопка, устойчивого к гербициду

Задача:

Использовать МПБ для регистрации оценки риска и решения

Ссылки:

Модуль 6 МПБ: Регистрация информации

Сценарий:

Вы работаете в Национальном компетентном органе, и вы недавно утвердили приложенное решение об импорте хлопка, устойчивого к гербициду. Ваша задача заключается в регистрации этого ЖИО, оценке риска и регуляторного решения в МПБ.

Важное примечание:

Пожалуйста, используйте
Учебную базу данных МПБ
для выполнения этого упражнения!

**Документ о высвобождении CNA2008-17:
Оценка безопасности хлопка RR**

Решение Органа НКО по окружающей среде

I. Идентификация нового организма

Обозначение:	Хлопок линии MON 88913, Уид MON-88913-8
Податель заявки:	Monsanto Inc
Родительские виды:	Хлопок (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)
Привнесенное свойство:	Устойчивость к гербициду (глифозат)
Предполагаемое использование:	Производство хлопка для получения волокна, хлопковых семян, муки для корма животных, хлопкового масла для употребления в пищу человеком. Материал будет выращиваться в США, а семена и корма будут импортироваться только в целях использования в качестве корма для скота.

II. Базовая информация

Monsanto Inc. создала линию хлопка, обозначенную MON 88913, которая обладает улучшенной устойчивостью к глифозату, активному ингредиенту гербицидов Roundup®. Усовершенствованное свойство толерантности к гербициду в линии хлопка MON 88913 даст возможность осуществлять полную обработку сельскохозяйственными гербицидами Roundup® на более поздних стадиях развития, чем это было возможно в случае с линиями хлопка MON 1445 и MON 1698. Предполагается, что это обеспечит большую гибкость и удобство методов контроля сорной растительности в ходе производства культур.

Линия хлопка MON 88913 создавалась с использованием технологии переноса гена посредством *Agrobacterium-mediated*, в результате чего произошла интродукция двух копий гена *epsps* (5-энолпирувил шикимат-3-фосфат синтаза) из *Agrobacterium* sp. штамма CP4. Протеин штамма CP4 EPSPS привносит в измененное растение пониженную чувствительность к глифозату. Использование двух различных промоторов для контроля экспрессии генов *cp4 epsps* придает повышенную устойчивость к глифозату. Регион кодирования *cp4 epsps* сливается с транзитной хлоропластовой пептидной последовательностью, которая направляет транскрибируемый протеин к хлоропласту, - месту биосинтеза аминокислот.

Протеин CP4 EPSPS из MON 88913 проявил себя в качестве эквивалента протеина, производимого системой экспрессии *Escherichia coli*, предназначенной для производства протеина. Произведенный *E. coli* CP4 EPSPS использовался для получения в достаточных количествах чистого протеина в целях изучения безопасности. Ссылки на соответствующие научные публикации рассматривались настоящим Органом НКО.

Фенотипические характеристики линии хлопка MON 88913 изучались на четырнадцати полевых площадках в условиях ограниченных полевых исследований. Композиционные данные и данные об экспрессии были получены с четырех полевых участков. Агрономические свойства линии хлопка MON 88913, такие как морфология растений, восприимчивость к болезням, агрономические показатели и репродуктивная приспособленность

сравнивались с таковыми неизмененных растений. Питательные компоненты линии хлопка MON 88913, такие как аминокислоты и жирные кислоты сравнивались с таковыми неизмененных образцов хлопка.

При определении безопасности и эффективности в качестве корма для скота, а также природоохранной безопасности нового корма рассматривались следующие критерии оценки:

- потенциальное воздействие линии хлопка MON 88913 на продукты питания скота,
- потенциальное воздействие линии хлопка MON 88913 на скот и рабочих,
- потенциальная способность линии хлопка MON 88913 стать с/х сорным растением или инвазивным видом среди природных местообитаний,
- потенциальная способность передачи генов от линии хлопка MON 88913 диким сородичам, чьи гибридные отпрыски могут иметь больший потенциал относительно становления сорным или инвазивным растением,
- потенциал линии хлопка MON 88913 стать паразитом растений,
- потенциальное воздействие линии хлопка MON 88913 или их генной продукции на нецелевые виды, включая человека, и
- потенциальное воздействие линии хлопка MON 88913 на биоразнообразие.

III. Описание новых свойств

Метод разработки: Линия хлопка MON 88913 была создана путем инсерции (вставки) фрагмента ДНК, включающей две копии гена, взятого у *Agrobacterium* sp. штамм CP4 (*cp4 epsps*), что привнесло устойчивость к глифозату, активному ингредиенту гербицидов Roundup®. Линия хлопка Coker 312 была трансформирована плазмидным вектором, который перенес гены синтеза *cp4 epsps*, оба из которых были слиты с кодирующей последовательностью растительного происхождения, отвечающей за оптимизированный хлоропластный транзитный пептид.

Устойчивость к глифозату: EPSPS представляет собой фермент, участвующий в пути метаболизма шикиматовой кислоты, которая необходима при производстве ароматических аминокислот. Фермент природного хлопка EPSPS чувствителен к глифозату. Гербицид нарушает пути метаболизма шикиматовой кислоты, что ведет к супрессии (подавлению) роста или смерти растения. Разновидность CP4 EPSPS этого фермента проявляется в линии хлопка MON 88913 и привносит устойчивость к глифозату, поскольку продолжает катализ производства ароматических аминокислот в присутствии глифозата вследствие уменьшения сепливания глифозата с CP4 EPSPS, в отличие от природного EPSPS.

Экспрессия нового фермента в растении иницируется присутствующими активными промоторами, а его количество определяется фермент-связывающим иммуносорбентным анализом (ELISA). Уровень протеина CP4 EPSPS оценивался в молодых листьях, высушенных листьях (OSL), корнях, семенах, пыльце, собранных в ходе полевых испытаний, проводившихся в 2002. Количественный анализ ELISA продемонстрировал, что среднее значение уровня протеинов CP4 EPSPS на всех четырех участках составило для молодых листьев, OSL1, OSL2, OSL3, корни и семенных тканей 970, 1400, 690,

630, 99 и 340 µg/g сухого вещества, соответственно. Среднее значение уровня протеина CP4 EPSPS в пыльце на протяжении всех четырех участков составило 4.0 µg/g в свежем веществе.

В отличие от обычных аллергенов, протеин CP4 EPSPS присутствует в низком количестве в листьях хлопка линии MON 88913 (менее чем 0.12% от всего протеина, содержащегося в семенах), не является гликозилатным, лабилен при пищеварении. Последующее выдерживание в искусственном желудочном соке показало, посредством вестерн-блоттинга, что более 95% протеина CP4 EPSPS переваривалось в течение 15 секунд. А также в отличие от известных аллергенов показано, что активность EPSPS уменьшалась более чем на 90% в течение 15 секунд выдерживания в искусственном желудочном соке.

Аминокислотная последовательность протеина CP4 EPSPS сравнивалась с несколькими базами данных протеиновых последовательностей, в результате чего было выявлено, что у него нет существенной структурной схожести с любыми известными токсическими, аллергическими или фармакологическими протеинами. Дальнейший анализ также показал, что протеину CP4 EPSPS не достает соответствующих иммунологических последовательностей. Экстренные исследования на мышах не выявили никаких отрицательных побочных эффектов вследствие применения протеина CP4 EPSPS в дозах до 475 мг/кг.

Вследствие низкого уровня экспрессии протеина CP4 EPSPS в линии хлопка MON 88913, потребовалось произвести CP4 EPSPS посредством бактериальной ферментации для получения его в количестве, достаточном для проведения ряда испытаний в отношении безопасности (исследование токсичности на мышах, исследование переваривания в желудочном соке). Производимый бактерией протеин сравнивался с таковым из растения, причем было выявлено, что у них схожий молекулярный вес, иммунологическая реактивность и сходная с растительным протеином функциональная активность.

Анализ саузерн-блоттинг выявил стабильность интродуцированной ДНК у первых пяти поколений, удаленных от оригинального трансформанта. Представленные данные также показали, что гены в этих поколениях сегрегированы согласно наследуемости по Менделю.

В компетентный орган представлен метод обнаружения и идентификации MON 88913.

IV. Критерии природоохранной оценки

1. Потенциальная способность линии хлопка MON 88913 стать с/х сорным растением или инвазивным видом среди природных местообитаний

Хлопок (*Gossypium hirsutum*) – многолетнее растение *Malvaceae* (семейства Мальвовых), но культивируется в качестве однолетней культуры. Ни сами растения, ни его семена не переносят низкие температуры. Род *Gossypium* не вызывает никаких определенных тенденций к тому, чтобы стать сорным растением. Хлопок выращивался сотнями лет, и не было случаев, чтобы он превратился в сорное растение.

Свойства гипобиоза и прорастания линии MON 88913, контроль негативной изоляции (базовая генетическая схожесть с MON 88913), наряду с несколькими

контрольными образцами проходили испытания в условиях роста при контроле температуры при семи различных температурных режимах. Все значения для MON 88913 были либо в пределах контрольных значений, либо выходили за рамки контрольных. Никаких существенных различий не было обнаружено в проценте жизнеспособных твердых семенах (потенциальная мера состояния покоя).

Измерения высоты, урожайности, а также характеристики семян/коробочек линии MON 88913 и контрольных растений записывались при сборе урожая. Проверка всего пула со всех участков не выявила существенной разницы в высоте, количестве узлов, общем количестве коробочек, количестве вегетативных коробочек, количестве измененных коробочек, общей численности семян на коробочку, количестве зрелых семян на коробочку или незрелых семян на коробочку. Было отмечено существенная разница в 0.3 г в отношении семенного индекса (г на 100 пушистых семян), но это различие вряд ли способно оказать биологическое воздействие в отношении становления сорным растением.

Поэтому линия MON 88913 считается практически эквивалентной линиям 1445 и 1698 в отношении инвазивности и потенциала стать сорным с/х растением. CFIA делает заключение, что линия хлопка MON 88913 вряд ли может стать сорным растением в сельском хозяйстве или инвазивом природных местообитаний.

2. Потенциал передачи генов диким сородичам или потенциал отпрысков-гибридов стать сорным растением или инвазивом

Пыльца хлопка сохраняет жизнеспособность до 12 часов, но зерна пыльцы сравнительно крупные и тяжелые, и ветром переносятся плохо. *G. hirsutum* в целом – самоопыляющееся растение, но может участвовать в аутокроссинге в присутствии насекомых-опылителей (таких как шмели (*Bombus* spp.) и медоносные пчелы (*Apis mellifera*)). Частота аутокроссинга уменьшается с увеличением расстояния от источника опыления. Дикие виды *Gossypium*, как правило, ограничены сухими тропическими и субтропическими регионами.

Национальный орган делает заключение, что передача генов от глифозат-устойчивых линий хлопка к диким сородичам *Gossypium* очень маловероятна в регулируемых нерегулируемых экосистемах этой страны.

3. Измененный потенциал к паразитизму растений

Хлопок не является паразитом, и предполагаемый эффект нового свойства не обладает потенциалом паразитарности растений. Восприимчивость линии MON 88913 к насекомым, болезням и абиотическим стрессорам оценивалась на 14 экспериментальных участках. Восприимчивость к тле, свекольному червю, коробочному червю, розовому коробочному червю, трипсу, табачной листовертке, белокрылке, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, холоду, засухе и жаре у линии MON 88913 оказались сходны с таковыми у контрольных растений в отношении чувствительности к этим стрессорам. Не наблюдалось никакой разницы между линией MON 88913 и контрольным растением, которая могла бы повлиять на увеличение потенциала паразитарности.

Компетентный орган, таким образом, постановил, что линия хлопка Roundup Ready® Flex MON 88913 не проявляет никакого измененного потенциала в отношении становления паразитом растений.

4. Потенциальное воздействие на нецелевые организмы

Источник кодирующей последовательности протеина CP4 EPSPS, синтезируемого в линии MON 88913 – обычная почвенная бактерия, которая не отмечена в качестве патогена человека или животных, и ранее не отмечалась в качестве аллергена. Протеин быстро переваривается в искусственном желудочном соке (более 95% протеина было переварено в течение 15 секунд), не было отмечено никаких гомологических последовательностей, влияющих на иммунную систему, сходных с известными аллергическими протеинами, что указывает на слабый аллергический потенциал. Кроме того, не было отмечено случаев аллергии или иного отрицательного воздействия вследствие употребления в пищу или в качестве фуража этого протеина, происходящего из культуры Roundup Ready®, с тех пор как эта культура была внедрена в 1996.

Протеины EPSPS в натуральном виде встречаются в растительных и микробиологически-произведенных продуктах, которые отмечены историей потребления человеком и животными как безопасные. CP4 EPSPS употребляется в пищу непосредственно или как обработанный продукт культуры Roundup Ready®, причем со времени их коммерциализации в 1996 не отмечено случаев токсичности. Композиционная и питательная оценка осуществлялась путем сравнения семян, масла и муки линии MON 88913 с семенами, маслом и мукой хлопка контрольной линии со схожими генетическими характеристиками. Оценка не выявила каких-либо показателей в линии хлопка MON 88913, которые выходили бы за рамки значений таковых, присутствующих в немодифицированных образцах.

Хлопок хорошо известен вследствие наличия в нем природных токсикантов и антинутриентов (циклопропеноидные жирные кислоты и госсипол). Альфатоксины – токсичные побочные продукты некоторых разновидностей грибов, которые могут расти в хлопке. Линия MON 88913 тестировалась на наличие четырех альфатоксинов (B1, B2, G1, and G2) но, поскольку 50% всех взятых образцов были ниже LOQ, дальнейшие статистические анализы не проводились. Во время оценки было обнаружено, что уровни циклопропеноидных жирных кислот (мальвадиевая, дигидростеркулиевая и стеркулиевая кислоты) в линии MON 88913 были в пределах значений, наблюдаемых в контрольных образцах хлопка. Оценка уровня госсипола показала, что количество этого вещества также не выходит за пределы значений, наблюдаемых у разрешенных образцов хлопка.

Исследование токсичности с использованием производимого *E. Coli* протеина CP4 EPSPS проводилось на мышах. Никакого вредного воздействия не наблюдалось при введении в количестве 475 мг протеина CP4 EPSPS на кг веса тела мыши; не было различий в массе тела, кумулятивной массе тела, или употреблении пищи у мышей, которым скармливался протеин CP4 EPSPS и у мышей, которым скармливался контрольный протеин (бычий сывороточный альбумин) на данном уровне.

На основании вышеприведенных данных Национальный орган заключает, что использование линии MON 88913 не окажет большее воздействие на нецелевые организмы (включая человека), чем использование разрешенного хлопка.

5. Потенциальное воздействие на биоразнообразие

Никакие разновидности хлопка, или его диких сородичей, с которыми может произойти интербридинг, не могут расти в данной окружающей среде. У линии хлопка Roundup Ready® Flex MON 88913 не наблюдается или не ожидается изменений, которые позволили бы ему выживать в местной окружающей среде с большим успехом, чем неизменный хлопок. Поэтому Национальный орган заключает, что линия MON 88913 не окажет воздействия на биоразнообразие данной страны.

V. Критерии природоохранной оценки

1. Потенциальное воздействие на питание скота

Состав семян хлопка, муки и масла из линии MON 88913 сравнивался с контрольной линией. Цельные семена хлопка анализировались в двух испытаниях, причем анализ включал проксиматы, минералы, аминокислоты, жирные кислоты, циклопропеноидные жирные кислоты, госсипол и витамин Е. В одном из испытаний анализировались мука и масло из семян. В одном из этих испытаний анализировались мука из семян хлопка и масло. Анализ муки включал проксиматы, минералы, аминокислоты, циклопропеноидные жирные кислоты и госсипол, в то время как анализ масла включал жирные кислоты, циклопропеноидные жирные кислоты, госсипол и витамин Е. Олеиновая кислота, выраженная в процентном отношении от общего количества жирных кислот, была существенно изменена, но это различие наблюдалось вследствие завышенного значения в контрольной линии. Фенилаланин, выраженный в процентном отношении от общего числа аминокислот, содержался в значительно более высокой концентрации в линии MON 88913, чем в контрольных образцах в обоих испытаниях. Тем не менее, обе линии MON 88913 и их контрольная линия оставались в пределах значений коммерческих разновидностей, а также в пределах литературных значений для данных анализируемых веществ. Никакой разницы не наблюдалось в отношении процентного содержания фенилаланина от общего содержания аминокислот в муке из семян, полученной из цельных семян, использованных в данном испытании. Количества некоторых прочих анализируемых веществ (триптофан, линолевая кислота и марганец) существенно отличались, но все эти значения находились в пределах интервала толерантности коммерческих контрольных разновидностей.

Мальвадиевая и стеркулиевая кислоты, в процентном отношении от общего количества жирных кислот, существенно отличались на одном испытанном участке. Значения для этих жирных кислот находятся в пределах значений для коммерческих контрольных разновидностей. Доказательство, представленное Monsanto Inc., подтверждает заключение о том, что питательный состав хлопка Roundup Ready® Flex линии MON 88913 практически эквивалентен разрешенным разновидностям хлопка.

2. Потенциальное воздействие на скот и рабочих

EPSPS – энзим, присутствующий во многих продуктах, которые используются давно и считаются безопасными, а потому считается, что он не будет токсичным и аллергичным. Энзим CP4 EPSPS получен из *Agrobacterium* штамма CP4, – почвенной бактерии, которая не отмечена в качестве патогена человека или животных. Последовательность аминокислот в протеине CP4 EPSPS, обнаруженном в линии MON 88913, идентична таковой протеина CP4 EPSPS в культуре Roundup Ready®, утвержденной ранее для использования в качестве фуража. CP4 EPSPS не является гомологом известных токсинов или

аллергенов; он присутствует в малых количествах в корме для животных, химически неустойчив и быстро распадается при условиях нахождения в гастральном тракте. Кроме того, исследование токсичности на мышах показало, что никакого вредного воздействия в количестве 475 мг/кг массы тела CP4 EPSPS не выказал. На основании информации, представленной Monsanto Inc, CP4 EPSPS вряд ли может считаться новым токсином или аллергеном.

Не замечено, чтобы хлопок продуцировал эндогенные аллергены, а его трансформация, в результате чего образовалась линия MON 88913, не предполагает индукции его синтеза. На основании предсказанных уровней экспозиции и результатов вышеприведенных тестов, никакого существенного риска для здоровья скота и рабочих не ожидается вследствие использования протеина CP4 EPSPS.

VI. Новые требования в отношении информации

Если когда-либо Monsanto Inc. становится известна любая информация относительно риска для окружающей среды, или риска для здоровья человека или животных, который может возникнуть вследствие высвобождения этих материалов, Monsanto Inc. незамедлительно представляет такую информацию в Компетентный орган. На базе такой новой информации Компетентный орган переоценивает потенциальное воздействие вследствие предполагаемого использования и пересматривает решение относительно разрешения линии хлопка MON 88913 для скармливания скоту.

VII. Регуляторное решение

На основании пересмотра данных и информации, представленной Monsanto Inc., включая сравнение линии хлопка MON 88913 с неизменным родительским организмом, Компетентный орган заключает, что новый ген и его соответствующие свойства не привносят в растение каких-либо характеристик, которые могли бы вызвать озабоченность в отношении безопасности или питательного состава линии хлопка MON 88913. Линия хлопка MON 88913 прошла оценку и была признана такой же безопасной и такой же питательной, как и обычные разновидности хлопка. Линия хлопка MON 88913 и его продукция удовлетворяют настоящим определениям ингредиентов и разрешены для использования в качестве составляющих фуража. Линия хлопка MON 88913 не сможет расти в данной местности, а семена не смогут перезимовывать, поэтому высвобождение организма из фуража в окружающую среду не приведет ни к намеренному, ни к ненамеренному воздействию на окружающую среду.

Использование линии хлопка MON 88913 в качестве корма для животных разрешено 23 ноября, 2007. Линия хлопка MON 88913 и любой иной хлопок, происходящей от нее, может импортироваться и/или высвобождаться, при условии, что не происходит межвидовое скрещивание, при условии, что намеренное использование будет схожим, и при условии, что известно, на основании свойств, что эти растения не проявляют никаких дополнительных новых свойств, и в значительной мере эквивалентны ныне выращиваемому хлопку, в виду его специфического использования и безопасности для окружающей среды и здоровья человека и животных.

Линия хлопка MON 88913 подлежит тем же фитосанитарным требованиям в отношении импорта, что и его немодифицированные образцы.

VIII. Контактные данные регулирующего органа

Национальный компетентный орган по окружающей среде
123 Authority Street
National Capital 9999

Примечание: настоящий документ также имеется в Интернет на сайте
www.decisions.com/CNA2007-17.pdf
