

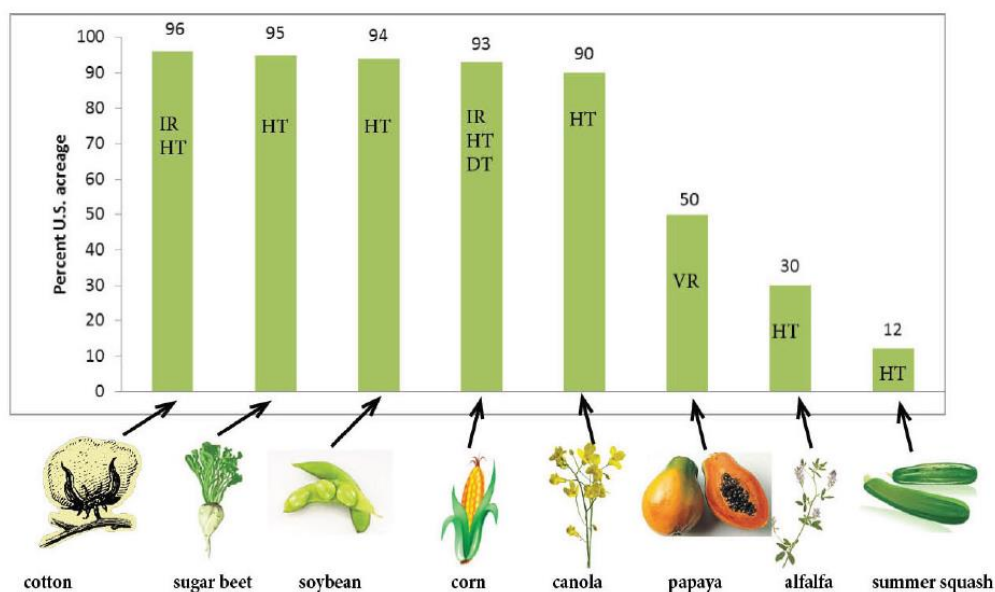


**Генетично модифицирана царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и употребата ѝ в храни и като фураж съгласно Регламент (ЕО) № 1829/2003 г. (заявление EFSA-GMO-NL-2018-151)**

Царевицата, *Zea mays L.*, е втората най-разпространена зърнена култура в света, надминавана само от ориза. Царевицата се отглежда на всеки континент, с изключение на Антарктида. В Северна Америка расте над 43% от царевицата в света. Други световни лидери в производството на царевица са Китай (18%), ЕС (7%), Бразилия (6%), Балканския регион (3%) и Мексико (3%), Аржентина, Индия и Южна Африка (2%). Лекотата, с която царевицата може да бъде изсушена, съхранявана и транспортирана, я прави основен източник, влаган във фуражите за животни и стабилна суровина за производството на нишесте и нишестени продукти. Царевицата също е основен източник на храна в много части на света, включително Южна Америка, Централна Америка и Африка, където се влага директно в хранителни продукти чрез смилане, алкална обработка, варене/готвене или ферментация.

През 2020 г. в света са произведени над 1,1 милиарда метрични тона царевица, което представлява приблизително 197 милиона хектара царевица, добита в световен мащаб. Значителни области на производство са САЩ, Китай, Бразилия, Европейския съюз (ЕС) и Аржентина, които представляват общо над 75% от световното производство на царевица. Днес царевицата е една от малкото интензивно култивирани култури в европейското селско стопанство. Значителни области на производство включват Дунавския басейн от югозападна Германия до Черно море и Южна Франция до долината на северна Италия. През 2020г. площта на царевицата, добита в ЕС, възлиза на около 9 милиона хектара, с производство от около 68,3 милиона метрични тона. През 2020 г. ЕС е внесъл около 23 милиона тона царевично зърно. Основните износители на царевица за ЕС са Украйна и Бразилия, следвани от Сърбия. Както и в други райони на света, консумацията на царевица в Европа е доминирана от търсенето ѝ за фураж за животни. Царевицата също се преработва в ценни промишлени и хранителни продукти като етилов алкохол, царевично брашно, нишесте и подсладители.

Въпреки че царевицата има висока икономическа стойност, но също така и поради генетичните си характеристики и основните изследвания, тази култура **подлежи постоянно на различни редакции в генома или генетични модификации, с цел придаване на нови характеристики, например толерантност към хербициди, подобри хранителни качества и устойчивост на вредители и вируси.** Тези култури са одобрени за отглеждане с търговска цел в средата на 1990г. и постепенно с напредване на технологиите и увеличаване на населението и потреблението по света и респективно продоволствените нужди **обработваната площ с генно модифицирани култури се разширява.**



Фиг. 1: Видове култури, подлежащи на генна модификация или генна редакция с цел повишаване на конкретни целеви характеристики и процентно съотношение на проведените до момента модификации/редакции

Генетичните трансформации в зърнените култури, включително ориза и царевичата, са започнали още в края на 80-те години. Първите продукции на генетично модифицирана царевича (ГМО) са достигнали пазарите на САЩ и Канада още през 1997г. В Европейския съюз (ЕС) първите линии на ГМО царевича навлезнаха през 1997г. През 2013 г. общата площ на култивираната царевича в световен мащаб възлиза на 177 милиона хектара, от които 32% са ГМО.

Голямо постижение на водещите селскостопански производители е развитието и въвеждането на трансгенна царевича, притежаваща нови черти. Някои от гените, въведени в царевичата са отговорни за толеранс/устойчивост срещу хербициди, включително оксинил, глифозинат и глифозат, и резистентност срещу насекоми, включително различни форми на *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Европейска царевича, резистентна на царевичния стъблопробивач (*Ostrinia nubilalis*) е разработена чрез въвеждане на [последователно кодиране] синтетичен *CryIA* ендотоксин.

Поради многото разработки и постъпилите заявления за употреба и отглеждане на ГМО царевича, няколко държави, включително държави от ЕС, Канада, Русия и Бразилия, са установили прагова скала за генно модифицирани култури. Държавите от ЕС имат строго законодателно регламентирани референтни граници на откриване (0,9-5%) за генно модифицирани култури, като общото установено равнище е 0,9%. Праговата граница на толеранса е нула за неодобрените генно модифицирани култури. Регламентите, установени от ЕС, са съсредоточени върху етикетването, докато в няколко държави няма такова строго законодателство.

Няколко трансгенни култури отдавна вече се отглеждат и консумират след тяхното одобрение. Въпреки това, повишаването на осведомеността на потребителите относно безопасността на храните, съдържащи ГМО, изисква

строги мерки и законодателна рамка по отношение на разпространението, вноса/износа и отглеждането на генно модифицираните организми (ГМО). Следователно откриването и идентифицирането на ГМО в храните са изключително важни за всички заинтересовани институции по контрола на храните.

### Какво представляват ГМО културите?

Терминът генетично модифициран (ГМ), както обикновено се използва, се отнася до **трансфера на гени между организмите, използвайки серия от лабораторни техники за клониране на гени**, интегриране на отделни ДНК сегменти и вмъкване на генни локуси в клетъчния геном. Заедно тези техники са известни като **рекомбинантна ДНК технология**. Други термини, използвани за генетично модифицирани растения или храни, получени от тях, са: генетично модифицирани организми (ГМО), генетично редактирани (GE), биоинженерни и трансгенни организми. „Генетично модифициран“ е **неточен термин** и потенциално объркващ, тъй като **почти всичко, което ядем, е било модифицирано генетично чрез опитомяване/облагородяване/селекция от диви видове** и много поколения селекция за **постигане придобиването на трайни желани черти/характеристики**. Според голяма част от наложените стандарти за биологично земеделие, семена или растения/култури, получени чрез геномни технологии, не се допускат в биологичното производство.

Повечето съвременни ГМ култури са „проектирани“ за устойчивост на насекоми, толерантност към хербициди (продукти за контрол на плевелите) или и двете. Повечето устойчиви на насекоми култури **съдържат гени от почвената бактерия *Bacillus thuringiensis* (Bt)**. Протеинът, произведен в растението от гена Bt, е токсичен за целева група насекоми - вредители - но не и за бозайници. Най-често срещаните култури, устойчиви на хербициди (НТ), например *Roundup Ready*®, са толерантни към глифозат (активната съставка в *Roundup*® хербицид). Глифозатът инактивира ключов ензим, участващ в синтеза на аминокиселини, който присъства във всички зелени растения, ето защо, това е ефективен широкоспектърен хербицид срещу почти всички плевели. *Roundup Ready*® културите са създадени така, че да произвеждат устойчива форма на ензима, така че да останат здрави, дори след като са били третирани с глифозат. Някои сортове царевица и памук се наричат „трансгенни“, което означава, че те имат трансгени както за устойчивост на насекоми, така и за НТ. Според *USDA-ERS* (2013) повече от половината от площите в САЩ са засадени с подобни сортове царевица и памук през 2013 г.

### Какви са потенциалните генно модифицирани култури на бъдещето?

Някои потенциални приложения на технологията за генетично модифицирани култури са:

- Подобряване на храненето: По-високо съдържание на витамини; по-здравословни профили на мастни киселини;
- Устойчивост на стрес: Толерантност към високи и ниски температури, соленост и суша;
- Устойчивост на заболявания, причинени от гъбички, бактерии и вируси;

- Биогорива: Растения с променен състав на клетъчната стена за по-ефективно превръщане в етанол;
- Фиторемедиация: Растения, които извличат и концентрират замърсители като тежки метали от замърсени зони.

**Ако компетентните органи след разглеждане на заявление за одобряване на ГМО култура са оценили, че предложената култура не представлява заплаха за околната среда и не увеличава рисковете за безопасността на храните или фуражите, то тази култура се одобрява за комерсиални цели.**

Все още не са одобрени генетично модифицирани животни за храна в САЩ, въпреки че генетично модифицираната съомга, „редактирана“ за бърз растеж, е в процес на преглед. Генетично модифицираните микроорганизми се използват за производството на ренин, в производството на млечни продукти, а генетично модифицираните дрожди са одобрени за винопроизводство.

### **По какво се различава генномодифицираната технология от другите техники за селекция на растения?**

Ерата на научното подобрене на културите датира от около 1900г., когато въздействието на изследванията на Грегор Мендел върху наследствеността на качествата в граха става широко признато. Оттогава е разработен широк спектър от техники за подобряване на добивите, качеството и устойчивостта към болести, насекоми и стрес от околната среда. Повечето програми за селекция на растения разчитат на кръстосано опрашване между генетично различни растения, за да създадат нови геномни комбинации. Растенията се оценяват в продължение на няколко поколения, а най-добрите се избират за потенциално регистриране като нови сортове. Пример за това е сортове домати, които са селектирани за устойчивост към болести и толерантност към ниски температури. Други техники, включени в конвенционалния набор от инструменти за селекция на растения, са създаването на хибридни сортове чрез кръстосване на две родителски линии за получаване на потомство с повишена жизненост; или индуциране на мутации, за да се създаде полезна вариация. ГМ технологията е много по-прецизна, тъй като прехвърля само желаните гени или гени локуси на гостоприемниковото растение. Друг клон на селскостопанската биотехнология, отделен от ГМ технология - включва подбор на растения чрез ДНК моделиране, за които е известно, че са свързани с благоприятни черти като по-висок добив или устойчивост на заболявания. Въведеният ДНК фрагмент съдържа един или няколко гени, които носят информация, кодираща специфични протеини, заедно с ДНК фрагменти, които регулират експресията на протеините. Въведеният фрагмент понякога съдържа маркерен ген за лесно идентифициране на растения, които са включили прехвърлените гени, известни също като трансгени, в техните хромозоми.

Има два **основни метода за въвеждане на трансгени:**

**Gene gun:** При този метод златни или волфрамови наночастици се натоварват с трансгенен фрагмент и се „изстрелват“ с висока скорост в растителните клетки или

тъкани. В малка част от случаите наночастиците ще преминат през клетките и ДНК фрагментът ще остане и ще се включи в растителна хромозома и в клетъчното ядро.

***Agrobacterium tumefaciens***: Този метод използва биологичен вектор, най-често бактерия, обитаваща почвите *Agrobacterium tumefaciens*, която в природата пренася част от своята ДНК в растенията и причинява заболяване по кореновата система. Генните инженери са се възползвали от този механизъм за трансфер на ДНК, като изключват характеристиките за патогенност на тази бактерия. Растителните и бактериалните клетки се инкубират заедно при специфични условия и в лабораторна среда, което улеснява трансфера на гени. Това позволява включването на гените по по-контролиран начин, отколкото с *gene gun*; въпреки това, тази методика не работи еднакво добре при всички растителни видове.

Трансгенните методи обикновено са неефективен процес, като само няколко процента от растителните клетки или тъкани успешно претърпяват интегриране на чужд ген. Различни стратегии се използват за идентифициране на малкия процент клетки/тъкани, които действително са трансформирани. Следващата стъпка е да се развият тези клетки или тъкани в цели жиснеспособни растения. Това се прави чрез специфичен процес, т.е. отглеждане на растения в лабораторна или подобна контролирана среда в присъствието на растителни хранителни вещества и хормони. След този етап учените, занимаващи се с трансгенни култури, провеждат **дълга серия от експериментални проучвания, за да установят, че генът е бил успешно интегриран, че е наследен по стабилен и предвидим начин, че желаната черта/характеристика се изразява фенотипно до очакваното ниво и че растението не показва никакви отрицателни ефекти.** Оценките първоначално се извършват в контролирани оранжерии и камери за растеж. След като се произведат достатъчно семена и се получи съответното разрешение, експерименталните растения се отглеждат в полеви контролирани условия. Оценките на поле следват строги насоки, които включват **изолиране от немодифицираните растения, за да се избегне кръстосано опрашване**, внимателно почистване на машините за обработка на реколтата, често наблюдение на растежа на културите и проверка на полето за два сезона след изпитването за наличие на трансгенни растения, които са поникнали от случайно неволно разпръснати семена.

**CRISPR/Cas9-базираното редактиране на генома в царевичата** е ефективен инструмент и изследователите обикновено целят редактиране на множество гени едновременно. **Трансформацията на царевичата в момента е скъпа и трудоемка**, така че изследователите **се насават към векторно предаване на множество геномни локуси в едно събитие на трансформация.** Един от начините да се постигне това е да се организират Cas9 гайдове в мултиплексен масив, който играе ролята на трансформиращ фактор на цял един локус в растението (*Char et al., 2017<sup>1</sup>*). Тези масиви могат да бъдат дълги и повтарящи се, което е предизвикателство за асемблиране с традиционни методи, а също така са трудни и скъпи за синтезиране. Генното асемблиране на *Golden Gate* (*Vad-Nielsen et al., 2016<sup>2</sup>*) е добър отговор на това предизвикателство, тъй като не се влияе от наличието на тандемни повтори в тези



масиви. Системата *MoClo* е особено подходяща за сглобяване на по-големи мултиплексни гайдинг масиви Cas9.

**Генерирането на големи масиви от гайдове е ефективен начин за обединяване трансформацията на множество геномни локуси в едно геномно събитие**, което е особено важно за култури, които са трудни за модификация, като царевицата. Тези масиви имат много повтарящи се уастъци, които са трудни за сглобяване с традиционните методи за молекулярно асемблиране. *Golden Gate molecular assemblies* използват тип IIS рестрикционни ендонуклеази, за да постигнат сглобяването на множество ДНК фрагменти в големи масиви и е особено подходящо за изграждане на големи Cas9 масиви. Системата *MoClo* се основава на *Golden Gate molecular assemblies*, като използва специализиран синтаксис и набор от вектори за йерархично итеративно сглобяване на произволен брой ДНК фрагменти във всяка подредба (*Werner et al., 2012<sup>3</sup>*). Поради това системата *MoClo* е идеална за сглобяване на големи гайдинг масиви, които са ефективен начин за редактиране на множество локуси в трудни за трансформиране култури като царевицата.

До момента съгласно Европейската база данни [https://euginus.eu/euginus/pages/gmo\\_fulltext\\_searchresults.jsf](https://euginus.eu/euginus/pages/gmo_fulltext_searchresults.jsf) има 471 регистрирани геномни трансформации/събития при царевицата, голяма част от които са минали одобрение и разрешение за пускане на пазара и влагането ѝ в храни и фуражи.

Най-скорошен пример за оценка на риска е генетично модифицираната **царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9**, която е **разработена чрез кръстосване с цел комбиниране на пет единични геномни събития**: Mon 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 и DAS-40278-9. Експертната група по ГМО преди това е изготвила оценка на петте единични геномни събития на трансформация при царевица и 16 от подкомбинациите и **не е установила опасения за безопасността**. Не са установени нови данни за единичните събития при царевицата или за оценените подкомбинации, които биха могли да доведат до изменение на първоначалните заключения относно тяхната безопасност. Молекулярната характеристика, сравнителният анализ (агрономни, фенотипни и композиционни характеристики) и резултатът от токсикологичната, алергенната и хранителната оценка показват, че **комбинацията от единичните събития на царевицата и от новоекспресирани протеини в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 не поражда опасения, свързани с безопасността на храните и фуражите и хранителните вещества**. Експертната група по ГМО на ЕОБХ заключава, че царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, описана в настоящото заявление, е **също толкова безопасна, колкото и изпитваните сортове царевица, които не са генетично модифицирани**. В случай на **случайно освобождаване в околната среда** на ГМО царевични зърна подложени на пет модификации, това **не би породило опасения за безопасността на околната среда**. Експертната група по ГМО оцени вероятността от взаимодействия между отделните модификации в девет от неочакваните по-рано подкомбинации на царевицата и стигна до заключението, че те се очаква да бъдат също толкова безопасни, колкото отделните събития, оценените по-рано

подкомбинации и царевицата резултат от пет модификации. Планът за мониторинг на околната среда след пускането на пазара и интервалите за докладване са в съответствие с предвидените видове употреба на царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. **Не се счита за необходимо наблюдение след пускане на пазара на храни/фуражи, съдържащи тази модифицирана култура.** Експертната група по ГМО заключава, че **царевицата, резултат от 5 модификационни събития и нейните подкомбинации са също толкова безопасни, колкото и референтните сортове царевица, които не са генетично модифицирани,** и изпитваните сортове царевица, по отношение на потенциалното въздействие върху здравето на хората и животните и върху околната среда.

След подаването на заявление EFSA-GMO-NL-2018-151 съгласно Регламент (ЕО) № 1829/2003, от *Dow AgroSciences LLC, Belgium B.V.* (наричан по-долу „Заявител.“), експертната група по генетично модифицирани организми към Европейския орган по безопасност на храните (ЕОБХ) е изготвила **научно становище относно безопасността на генетично модифицираните (ГМ) устойчиви на хербициди и инсекти царевица (*Zea mays L.*) MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и нейните подкомбинации, независимо от техния произход, в съответствие с Регламент (ЕС) № 503/2013. Приложението на царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, съгласно заявление EFSA-GMO-NL-2018-151 е за внос, преработка и влагане в храни и фуражи на територията на ЕС и не включва отглеждане в ЕС.** Терминът „подкомбинация“ се отнася за всяка комбинация от най-много четири събития за гена модификация, присъстващи в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Безопасността на подкомбинациите са оценени отделно в настоящото научно становище.

Царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 е създадена чрез кръстосване, за да се комбинират пет единични геномни събития: **MON 89034, експресиращ *CryIA.105* и *Cry2Ab2* (за защита срещу някои вредители от разред *Lepidoptera*), 1507 модификация, експресираща *CryIF* (за защита срещу някои вредители от разред *Lepidoptera*) и *PAT* протеин (за поносимост към някои хербициди, съдържащи амониев глифозинат), *MIR162*, експресиращ *Vip3Aa20* (за защита срещу някои вредители от разред *Lepidoptera*) и *PMI* (селективен маркер), *NK603*, експресиращ *CP4 EPSPS* (за поносимост към хербициди, съдържащи глифозат) и *DAS-40278-9*, експресиращ *AAD-1* (за придаване на поносимост към хербициди, съдържащи 2,4-дихлорофеноксиоцетна киселина (2,4-D) и арил-окси-феноксипропионат (АОРР)).**

Експертната група по ГМО е разгледала при изготвянето на оценката на риска информация, предоставена в заявлението EFSA-GMO-NL-2018-151, допълнителна информация, предоставена от заявителя по време на оценката на риска, научните коментари, представени от държавите членки, и съответната научна литература. Експертната група по ГМО **не е установила опасения във връзка с безопасността в предишните оценки.** Актуализираните биоинформатични анализи не са установили проблем с безопасността по отношение на петте отделни събития, свързани с

царевицата, нито са докладвани от заявителя след публикуването на предишните научни становища на експертната група по ГМО. Поради това експертната група по ГМО счита, че предишните му заключения относно безопасността на единичните събития, свързани с царевицата, остават валидни.

За царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 **оценката на риска включва молекулярна характеристика на въведената ДНК и анализ на протеиновата експресия.** Извършена е оценка и анализ на всички характеристики, като безопасността на новоекспресираните протеини и на всички храни и фуражи по отношение **на потенциалната токсичност, алергенността и хранителните качества.** Оценени са и въздействията върху околната среда и съобразно планът за мониторинг на околната среда след пускане на пазара (*PMEM*). Данните за молекулярната характеристика показват, че **събитията MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 и DAS-40278-9, комбинирани в тази ГМО царевица, са запазили своята цялост.** Анализът на протеиновата експресия показва, че **нивата на новоекспресираните протеини са сходни при точно тази модифицирана царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и видовете царевица с единични модификации.**

Като се имат предвид подборът на изпитваните материали, местата за теренно изпитване и свързаните с тях управленски практики, както и агрономичното и фенотипно характеризирание като показател за цялостното качество на теренните изпитвания, експертната група по ГМО заключава, че **полевите изпитвания са подходящи в подкрепа на сравнителния анализ.** При сравнителния анализ на всички характеристики и състава на зърното и фуража **не са установени разлики между царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и референтния вид царевица, без геномни модификации.** Оценени са следните характеристики: пепел, бежинова киселина (C22:0), аргинин, глицин, хистидин, фосфор, калий, фитинова киселина, лизин и пиридоксин. Тези промени са допълнително оценени по отношение на въздействието им върху безопасността на храните/фуражите и не пораждат безпокойство. Молекулярната характеристика, сравнителният анализ и резултатът от токсикологичната, алергенната и оценката на храни и фуражи показват, че **комбинацията от единичните генетични събития в царевицата и на новоекспресираните протеини в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 не поражда опасения за безопасността на храните и фуражите и за консуматорите.** Експертната група по ГМО заключава, че **царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 е също толкова безопасна, колкото и референтните сортове царевица, които не са генетично модифицирани** (наричани по-долу референтни сортове). Като се имат предвид комбинираните събития и техните потенциални взаимодействия, резултатът от сравнителния анализ и начините и нивата на експозиция, експертната група по ГМО заключава, че **царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 не би породила опасения за безопасността в случай на неволно разпръскване на генетично модифицирани царевични зърна в околната среда.**



Експертната група по ГМО оцени възможността за взаимодействие между геномните събития в тези подкомбинации на ГМО царевицата и стигна до заключението, че **тези подкомбинации не биха породили опасения за безопасността**. Поради това се очаква тези подкомбинации да бъдат също толкова безопасни, колкото отделните събития, оценените по-рано подкомбинации и царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

Предвид липсата на опасения за безопасността по отношение на храните и фуражите от царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и нейните подкомбинации, експертната група по ГМО счита, че **не е необходимо наблюдение след пускането на пазара на тези продукти**, съдържащи ГМО царевицата или някои от подкомбинациите. Планът за *PMEM* и интервалите на докладване са в съответствие с предвидените употреби на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и нейните подкомбинации. Въз основа на съответните публикации, идентифицирани при търсенето в научната литература, **експертната група по ГМО не установява никакви проблеми, свързани с безопасността, свързани с предвидената употреба на царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и нейните подкомбинации**.

Експертната група по ГМО заключава, че царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и нейните подкомбинации, описани в настоящото заявление, са също толкова безопасни, колкото референтните сортове за сравнение и избраните референтни сортове, които не са генетично модифицирани, по отношение на потенциалното въздействие върху здравето на човека и на животните и върху околната среда.

## **Оценка на безопасността на храните/фуражите**

### **Ефекти от обработката**

Въз основа на резултата от сравнителната оценка **не се очаква преработката** на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, вложена в храни и фуражни продукти да **доведе до различни продукти от тези, при обработката на конвенционалните сортове царевица**, които не са генно модифицирани.

### **Стабилност на новоекспресирани протеини**

Стабилността на протеините е един от няколкото важни параметъра, които трябва да се вземат предвид в подхода за оценка на доказателствата за безопасността на протеините. Терминът **протеинова стабилност обхваща няколко свойства, като например термична стабилност, стабилност, зависима от рН, протеолитична стабилност и физическа стабилност** (напр. тенденция към агрегиране), наред с други (*Li et al., 2019<sup>4</sup>*). Доказано е например, че при изследване характеристиките на известните хранителни алергени, една от основните им черти е стабилността на протеините (*Helm, 2001<sup>5</sup>; Breiteneder & Mills, 2005<sup>6</sup>; Costa et al., 2022<sup>7</sup>*).

### **Ефект на температурата и рН върху новоекспесираните протеини и *in vitro* разграждане на протеина чрез протеолитични ензими**

Ефектите на температурата и рН върху протеините *CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* са предварително оценени от панела за ГМО. Устойчивостта на разграждане чрез пепсин на новоекспресираниите *CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* протеини също е предварително оценена от ГМО панела (таблица 1). Няма предоставена нова информация.

Event	Application	EFSA Scientific Opinion
MON 89034	EFSA-GMO-NL-2007-37	EFSA (2008)
	EFSA-GMO-RX-015	EFSA GMO Panel (2019a)
1507	EFSA-Q-2004-011	EFSA (2004a)
	EFSA-GMO-NL-2004-02	EFSA (2005a)
	EFSA-Q-2006-00330	EFSA (2005b)
	EFSA-GMO-RX-1507	EFSA (2009a)
	EFSA-GMO-RX-001	EFSA GMO Panel (2017b)
MIR162	EFSA-GMO-DE-2010-82	EFSA GMO Panel (2012)
NK603	EFSA-Q-2003-002	EFSA (2004b)
	EFSA-Q-2003-003	EFSA (2007)
	EFSA-GMO-NL-2005-22	EFSA (2009b)
	EFSA-GMO-RX-NK603	EFSA (2009b)
DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2010-89	EFSA GMO Panel (2016)
1507 × NK603	EFSA-GMO-UK-2004-05	EFSA (2006)
	EFSA-GMO-RX-008	EFSA GMO Panel (2018a)
	EFSA-GMO-NL-2015-127	EFSA GMO Panel (2021a)
1507 × MON 89034	EFSA-GMO-CZ-2008-62	EFSA GMO Panel (2010c, 2011c)
	EFSA-GMO-NL-2017-139	EFSA GMO Panel (2021b)
1507 × MIR162	EFSA-GMO-DE-2010-86	EFSA GMO Panel (2018b)
	EFSA-GMO-NL-2017-139	EFSA GMO Panel (2021b)
1507 × DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
	EFSA-GMO-NL-2013-113	EFSA GMO Panel (2019c)
MON 89034 × NK603	EFSA-GMO-NL-2007-38	EFSA GMO Panel (2009)
	EFSA-GMO-NL-2016-134	EFSA GMO Panel (2019d)
MON 89034 × DAS-40278-9	EFSA-GMO- NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
	EFSA-GMO- NL-2013-113	EFSA GMO Panel (2019c)
MON 89034 × MIR162	EFSA-GMO-NL-2016-131	EFSA GMO Panel (2019e)
	EFSA-GMO-NL-2016-134	EFSA GMO Panel (2019d)
	EFSA-GMO-NL-2017-144	EFSA GMO Panel (2019f)
NK603 × MIR162	EFSA-GMO-NL-2016-131	EFSA GMO Panel (2019e)
	EFSA-GMO-NL-2016-134	EFSA GMO Panel (2019d)
	EFSA-GMO-NL-2015-127	EFSA GMO Panel (2021a)
NK603 × DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
	EFSA-GMO-NL-2019-164	EFSA GMO Panel (2021c)
1507 × NK603 × MON 89034	EFSA-GMO-NL-2009-65	EFSA GMO Panel (2010d, 2011d)
	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
1507 × NK603 × MIR162	EFSA-GMO-NL-2015-127	EFSA GMO Panel (2021a)
1507 × NK603 × DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
1507 × MON 89034 × DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
	EFSA-GMO- NL-2013-113	EFSA GMO Panel (2019c)
NK603 × MON 89034 × MIR162	EFSA-GMO-NL-2016-131	EFSA GMO Panel (2019e)
	EFSA-GMO-NL-2016-134	EFSA GMO Panel (2019d)
NK603 × MON 89034 × DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)
MON 89034 × 1507 × NK603 × DAS-40278-9	EFSA-GMO-NL-2013-112	EFSA GMO Panel (2019b)

Таблица 1: Единични геномни събития в царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и подкомбинациите и, оценени преди от групата по ГМО

## Токсикология

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136  
<http://corhv.government.bg>, [corhv@mzh.government.bg](mailto:corhv@mzh.government.bg)  
 тел. 02/4273056

## Изследване на новоекспресирани протеини

Осем протеина (*CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *CryIF*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI*) се експресират в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Експертната група по ГМО преди това е оценила тези протеини в контекста на единичните събития, свързани с царевицата, и **не са установени опасения за безопасността на хората и животните при консумацията на тази ГМО царевица** (т.е. селскостопански животни и домашни любимци). Бе оценен потенциалът за функционално взаимодействие между протеините, новоекспресирани в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, по отношение на здравето на хората и животните.

Трите инсектицидни протеина *CryIA.105*, *Cry2Ab2* и *CryIF* са делта-ендотоксини, действащи върху клетъчните рецептори на целеви видове насекоми. Съобщава се, че в стомашно-чревния тракт на бозайниците, включително хората, липсват рецептори с висок специфичен афинитет към *Cry* протеини (*Hammond et al., 2013*<sup>49</sup>; *Jurat-Fuentes u Crickmore, 2017*<sup>50</sup>).

Протеинът *Vip3Aa20* е протеин, секретирани от *Bacillus thuringiensis* по време на вегетативната му фаза, действащ върху целеви насекоми чрез механизъм, подобен на този на *Cry* протеини (*Chakroun et al.*<sup>8</sup>, 2016; *Bel et al., 2017*<sup>9</sup>). Четирите ензимни протеина (*PMI*, *PAT*, *CP4 EPSPS* и *AAD-1*) катализират различни биохимични реакции, действащи върху несвързани субстрати и не се очаква да взаимодействат. Ензимът *PMI* катализира обратимата интерверсия на маноза 6-фосфат и фруктоза 6-фосфат. *CP4 EPSPS* действа по пътя за биосинтеза на ароматните аминокиселини в растенията, показвайки висока специфичност спрямо субстрата. Ензимът *PAT* действа върху хербицидите на основата на амониев глифозинат, а *AAD-1* ензимът разгражда 2,4-D и АОРР класове хербициди. Въз основа на известната биологична функция на отделните новоекспресирани протеини, **понастоящем няма очаквания за възможните им взаимодействия, свързани с безопасността на храните и фуражите от тази царевица PMI.**

Експертната група по ГМО заключава, че **няма опасения за безопасността на здравето на хората и животните, свързани с новоекспресираните протеини *CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *CryIF*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.**

Въз основа на резултатите от проучванията, разгледани в сравнителния анализ и молекулярната характеристика, **не са идентифицирани нови съединения, различни от новоекспресирани протеини, в семената и фуражите от царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.** Поради това не се изисква допълнителна оценка на безопасността на храните/фуражите на компонентите, различни от новоекспресираните протеини.

**Информация за променените нива на съставките на храните и фуражите**

Не са установени променени нива на хранителни/фуражни съставки в семената и фуражите от царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, с изключение на пепелта, бехиновата киселина (C22:0), аргинин, глицин, хистидин, фосфор, калий, фититна киселина (както третирани, така и необработени), лизин (необработен) и пиридоксин (третиран). Счита се, че тези промени не представляват токсикологичен проблем, като се имат предвид биологичната роля на засегнатите съставки и мащабът на промените; поради това не е необходима допълнителна токсикологична оценка.

### Изпитване на цялата храна и фураж, съдържаща ГМО

Въз основа на резултата от молекулярната характеристика, сравнителния анализ и токсикологичната оценка, няма данни за находки, свързани с безопасността на храните/фуражите, свързани със стабилността и експресията на вложените гени или с взаимодействието между трансгенните събития, както и без модификации не са установени токсикологични опасения в състава на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Поради това не са необходими проучвания върху животни върху храни/фуражи, получени от тази MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 царевица. В съответствие с Регламент (ЕС) № 503/2013 заявителът е предоставил 90-дневно изследване за токсичност, като са приложени многократни дози от цели храни и фуражи при плъхове и е оценено всяко отделно събитие в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Експертната група по ГМО вече е стигнала до заключението, че тези проучвания са в съответствие с Регламент (ЕС) № 503/2013 и не показват неблагоприятни ефекти, свързани с хранителни режими, включващи еднократни модификации на ГМО царевицата MON 89034 (Панел по ГМО на ЕОБХ, 2019), 1507 (Панел по ГМО на ЕОБХ, 2021), MIR162 (Панел по ГМО на ЕОБХ, 2019), NK603 (Панел по ГМО на ЕОБХ, 2019) и DAS-40278-9 (Експертна група по ГМО на ЕОБХ, 2021).

### Алергенност

За оценката на алергенността е следван подход за оценка тежестта на доказателствата, като се взема предвид цялата информация, получена за новоекспресирани протеини, тъй като нито една информация или експериментален метод не дават достатъчно доказателства за прогнозиране на алергенността и адювантността (*Codex Alimentarius*, 2009; Експертна група на ЕОБХ по ГМО, 2011; Регламент (ЕС) № 503/2013 на Комисията). Освен това е извършена и оценка на специфични новоекспресирани протеини във връзка с техния потенциал да причинят цъолиакия (Панел по ГМО на ЕОБХ, 2017).

Експертната група по ГМО преди това е оценила безопасността на *CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *CryIF*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* протеини поотделно и не са установени доказателства за алергенност в контекста на оценените заявления. Няма налична нова информация за алергенността на протеините, новоекспресирани в тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, която би могла да промени предишните заключения на експертната група по ГМО. Въз основа на

настоящите познания и тъй като няма доказателства за алергенност на новоекспресираните протеини, **няма очаквани опасения за алергенност** в резултат на тяхното взаимодействие с тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

Експертната група по ГМО вече е оценила безопасността на новоекспресираните протеини и **не са установени доказателства за адювантност** в контекста на оценените заявления. **Тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 има нива на отделните Bt протеини, подобни на тези в съответните единични генетични събития.** Експертната група по ГМО **не е открила индикации**, че Bt протеините на нивата, експресирани в тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, **могат да бъдат адюванти, способни да засилят алергичната реакция.**

Заявителят също така е предоставил информация относно безопасността на протеините *CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *CryIF*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* относно техния потенциал да предизвикат цъолиакия. За тази оценка заявителят следва принципите, описани в Ръководството на експертната група на ЕОБХ по ГМО (Експертна група на ЕОБХ по ГМО, 2017а). При оценката на *Cry2Ab2*, *Vip3Aa20*, *CP4 EPSPS* (включително неговия вариант *CP4 EPSPS L214P*) и *AAD-1* протеините **не са установени точни или съответни частични съвпадения с известни пептидни последователности, характерни при цъолиакия.** Оценката на протеините *CryIF*, *CryIA.105*, *PAT* и *PMI* е разкрила частични съвпадения, съдържащи мотива *Q/E-X1-P-X2* и в тази връзка се налага провеждане на допълнителни проучвания. Няколко от тези частични съвпадения са били предварително оценени от експертната група на ЕОБХ по ГМО (2019, 2021). Въз основа на допълнителни изследвания относно позицията и естеството на аминокиселините, придружаващи мотивите, като наличието на два последователни пролина и заряда и размера на съседните аминокиселини, като **изследваните пептиди, съдържащи мотива, не пораждат безпокойство, тъй като те не имитират последователности на глутена.** Поради това експертната група по ГМО **не е идентифицирала индикации за опасения за безопасността.**

Панелът за ГМО редовно преглежда наличните публикации за хранителни алергии към царевица. **Царевицата обаче не се счита за обща алергенна храна (ОИСП, 2002 г.).** Поради това експертната група по ГМО **не изисква експериментални данни за анализ на алергения потенциал на генетично модифицираната царевица.** В контекста на настоящото заявление и като се вземат предвид данните от молекулярната характеристика, анализа на състава и оценката на новоекспресираните протеини, експертната група по ГМО **не установява индикации за потенциално повишена алергенност на храните и фуражите, съдържащи тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, сравнена с изпитваните референтни сортове, несъдържащи ГМО.**

В съответствие с Регламент (ЕС) № 503/2013 заявителят е предоставил оценки на експозицията чрез храната на *CryIA.105*, *Cry2Ab2*, *CryIF*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* протеини, новоекспресирани в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Експозицията чрез храната е оценена въз основа на нивата на



експресия на протеините, докладвани в настоящото заявление, за царевицата, третирана с глифозат, амониев глифозинат, халоксифоп и 2,4-D, наличните понастоящем данни за консумацията и практиките при преработка и производство на фуражите и храните, които се предлагат на пазара, и описаните условия на преработка.

За целите на оценката на експозицията чрез храната нивата на новоекспресирани протеини в царевичното зърно, фуража и полена на MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 са получени от повторни полеви изпитвания в Аржентина. В таблица 2 са описани нивата на протеинова експресия, използвани за оценка на експозицията както на хора, така и на животни.

Protein	Tissue/developmental stage		
	Grains/R6 ( $\mu\text{g/g}$ dry weight/fresh weight)	Pollen/R1 ( $\mu\text{g/g}$ dry weight) <sup>(b)</sup>	Forage/R4 ( $\mu\text{g/g}$ dry weight)
Cry1A.105	0.46/0.37	3.6	5.2
Cry2Ab2	8.5/6.8	5.0	84
Cry1F	4.1/3.2	21	4.9
PAT	< LOD/< LOD <sup>(c)</sup>	< LOD <sup>(c)</sup>	< LOD – 0.14 <sup>(d)</sup>
Vip3Aa20	46/37	77	60
PMI	2.5/2.0	4.7	3.1
CP4 EPSPS	18/14	450	31
AAD-1	3.4/2.7	120	4.1

Таблица 2: Нива на експресия на протеините в царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9

Предоставени са данни за хронична и остра хранителна експозиция на *Cry1A.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* протеини, новоекспресирани в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Заявителят следва методологията, описана в доклада на ЕОБХ „Оценка на експозицията на човека чрез хранителния режим на новоекспресирани протеини в генетично модифицирани храни“ (ЕОБХ, 2019а), за да оцени експозицията на човека чрез храната при средни и високи потребители, като използва обобщени статистически данни за консумацията.

**Експозицията на хора чрез храната** е оценена в различни европейски държави на различни групи от населението: младо население (деца, подрастващи, юноши и други), възрастни и специални популации (бременни и кърмещи жени). Тъй като не са налични данни за специфичната консумация на стоки, съдържащи царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, е разгледан консервативен сценарий със 100% замяна на конвенционалната царевица с генетично модифицирана царевица. Данните за потреблението на всички съответни продукти (напр. сладка царевица, пуканки и т.н.) са извлечени от европейската база данни на ЕОБХ за консумацията на храни. Царевичното масло, царевичното нишесте и царевичният сироп са изключени от оценката, тъй като в тези стоки не се очаква да присъстват протеини.

Средните стойности на протеиновата експресия на базата на свежо тегло се считат за най-подходящи за оценка на експозицията на човека чрез храната (както остра,

така и хронична). Взети са предвид различни рецепти и фактори, за да се оцени количеството царевича в консумираните храни, преди да се определят новоекспресираните нива на протеини за съответните стоки. По време на преработката не са взети предвид загуби на новоекспресирани протеини, с изключение на някои стоки, изключени от оценките на експозицията (царевично масло, царевично нишесте, царевичен сироп).

**Най-високата остра хранителна експозиция** (високи потребители) е оценена във **възрастовия клас „други деца“** с оценки на експозицията, които варират съответно между **0,30 lg/kg телесно тегло (bw) на ден и 562 lg/kg телесно тегло на ден за PAT и Vip3Aa20**. Основният среден фактор за експозицията в изследването на хранителния режим с най-високи оценки са царевичните зърна.

**Най-високата хронична хранителна експозиция** (високи потребители) е оценена във **възрастовия клас „Бebета“** с оценки на експозицията, които варират съответно между **0,11 lg/kg телесно тегло на ден и 209 lg/kg телесно тегло на ден за PAT и Vip3Aa20**. Основният среден фактор за експозицията в изследването на хранителния режим с най-високи оценки е сладката царевича.

За потребителите на добавки от царевичен прашец е направен *ad hoc* сценарий на експозиция чрез храната, като се предположи, че тези добавки ще бъдат направени от цветен прашец на царевичата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Данните за потреблението на добавки с цветен прашец са достъпни за малко потребители в осем различни европейски страни. Малкият брой на потребителите добавя несигурност към оценките на експозицията, които следва да бъдат внимателно тълкувани, и не позволява да се оцени експозицията за високи потребители на тези добавки. При средните потребители на добавки с цветен прашец **най-високата остра експозиция** чрез храната **би варираща от 0,014 lg/kg телесно тегло на ден за PAT до 314 lg/kg телесно тегло на ден за CP4 EPSPS** при възрастното население. По подобен начин **най-високата хронична хранителна експозиция при средните потребители** би варираща от **0,009 lg/kg телесно тегло на ден за PAT до 209 lg/kg телесно тегло на ден за CP4 EPSPS**, също и при възрастното население.

**Хранителната експозиция** на *Cry1A.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* в царевичата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 е оценена **при различни животински видове**, като се приема, че консумацията на царевични продукти е чрез фуража (т.е. царевични зърна, царевично брашно и фураж). Разгледан е консервативен сценарий със 100% замяна на конвенционалните царевични продукти с продуктите от царевича MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

Средните нива (сухо тегло) на новоекспресираните протеини в зърната и фуража от царевичата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, обработена с предвидения хербицид, използван за експозиция чрез храната на животните, са показани в таблица 2. Всички проби от зърно, анализирани за царевичата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 за наличие на протеин *PAT*, са под границата на

откриване (LOD = 0,025 lg/g сухо тегло). За фуражните проби аналитичните резултати варират от под LOD и 0,14 lg/g сухо тегло. За оценка на експозицията с фуража границата на откриване (LOD = 0,025 lg/g сухо тегло) е използвана като прието средно количество протеин в зърното.

Заявителят е оценил хранителната експозиция на *Cry1A.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*, *Vip3Aa20*, *PAT*, *CP4 EPSPS*, *AAD-1* и *PMI* протеини чрез консумацията на царевични зърна при пилета за угояване, кокошки носачки, пуйки за угояване, свине за угояване, свине за угояване, говеда за угояване, млекодаини крави, овце/кози, кучета и котки, консумация на царевичен протеин от съомгата и консумация на царевица от кокошки носачки, свине майки, говеда за угояване и млекодаини крави. Експозицията е изчислена за избрани животни, като се използват оценки за дневния прием на фуражи (*EFSA FEEDAP Panel, 2017*) и царевично зърно, царевичен протеин и фураж за ЕС (ОИСП, 2013г.; ФАО, 2017г.).

Предвидените характеристики на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 са толерантността към хербициди и резистентността към някои *Lepidoptera* вредители, без да се променят хранителните параметри. **В ГМО царевичните зърна обаче нивата на пепел, бехинова киселина, аргинин, глицин, хистидин, фосфор, калий, фитинова киселина** (всички в третираните и непреработените растения с предвидените хербициди), **лизин** (необработени) и **пиридоксин** (третиран) са **значително различни от референтния продукт и показват липса на еквивалентност с набора от референтни сортове**, които не са генетично модифицирани. Биологичната значимост на тези съединения, ролята на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 като фактор за общия им прием и степента и посоката на наблюдаваните промени са взети предвид по време на оценката на хранителните стойности.

### **Хранителна диета при човека**

Като цяло **царевичният протеин се счита за с ниско хранително качество поради лошия баланс на незаменими аминокиселини**, по-специално **поради ниските нива на лизин и триптофан** (*Huang et al., 2004<sup>51</sup>*). Сред четирите оценявани аминокиселини само хистидин и лизин се считат за незаменими аминокиселини. И за двете аминокиселини има малко увеличение в зърната от царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 в сравнение със референтния продукт, около 2 % за лизин и 5 % за хистидин. Въз основа на тази информация **установените промени в аминокиселинното съдържание не представляват хранителен проблем.**

**Калият и фосфорът** са най-разпространените минерали в царевицата (*Suri and Tanumihardjo, 2016*). **Увеличение между 6-8 % и 8-9 % е наблюдавано при царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** в сравнение със сравнителния показател съответно за калий и фосфор. Увеличението на тези два минерала вероятно **обяснява по-високите нива на пепел, наблюдавани в сравнение с референтната култура.** Калият е съществено съединение, участващо в много различни физиологични процеси; не е определено допустимо горно ниво на прием (UL)

за калий (*EFSA NDA Panel, 2016a*). Взети заедно, отчетеното **малко увеличение на калий не представлява хранителен проблем. Увеличението на фосфора е много вероятно свързано с по-високите нива във фитиновата киселина**, тъй като увеличението на това съединение е със същата величина при царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

В зърната на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 се наблюдава **увеличение на съдържанието на фитинова киселина** (мио-инозитол цикличен 1,2,3,4,5,6-трис-дихидроген дифосфат) **между 12% и 13% в сравнение с референтния продукт**. Фитиновата киселина е първичната форма на фосфора в семената и **осигурява защита срещу оксидативен стрес** (*OICP, 2002 г*). В контекста на хранителната диета **при човешката популация, фитиновата киселина обикновено се счита за антинутриент, който намалява минералната бионаличност**. Съществуват много други хранителни източници на фитинова киселина освен царевицата, като например други зърнени култури, бобови растения, маслодайни семена и ядки, с особено високи нива на фитинат, описани за някои ядки (6,3-9,4% dw) (*Gupta et al., 2015<sup>10</sup>*); при царевицата е докладвано за съдържание на фитинати до 2,22 % dw (*Schlemmer et al., 2009<sup>11</sup>*). За разлика от други зърнени култури, фитиновата киселина в царевицата се намира главно в зародиша (88%) (*Feizollahi et al., 2021<sup>12</sup>*), който обикновено се отстранява по време на смилането на царевицата. Освен това други методи на преработка, използвани при царевичните зърна също намаляват нивата на фитиновата киселина, като увеличават бионаличността на различни минерали и витамини, присъстващи в зърното. По време на оценката е счетено също така, че **докладваните нива на фитинова киселина в ГМО-царевицата, макар и статистически значими, едва се различават от тези в конвенционалната култура и в някои от избраните референтни сортове**, които не са генетично модифицирани, и че подобни и по-високи стойности са описани в литературата за фитиновата киселина в царевицата. Въз основа на цялата тази информация експертната група по ГМО стигна до заключението, че **повишените нива на фитинова киселина в ГМО царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 в сравнение с референтните сортове, не представляват хранителен проблем**.

В сравнение с референтните култури без ГМО модификация, **в зърната на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 се наблюдава намаление с приблизително 8 % на витамин В6**. За витамин В6 са определени референтни стойности в хранителния режим; най-характерните симптоми при дефицит на витамин В6, макар и редки, са хипохромна микроцитна анемия и неврологични аномалии (конвулсивни гърчове, абнормни електроенцефалограми) (*EFSA NDA Panel, 2016*). Като се има предвид процента на намалението и че витамин В6 е представен в много различни храни (зърна, варива, ядки, семена, картофи и месо и месни продукти), **това намаление не се счита за опасно**.

**Бехеновата киселина (C22:0) е наситена мастна киселина (FA), присъстваща в много ниски нива в царевицата** (и 0,3 % от общата FA). Като се има предвид значението на тази FA в общото съдържание на FA в царевичните зърна, **увеличението**

с 3-5% в сравнение с референтните граници не се счита за значимо от хранителна гледна точка.

### Хранителен режим при животните

Увеличаването на съдържанието на пепел при ГМО царевицата в сравнение с конвенционалната царевица може да бъде частично свързано с **увеличаването на съдържанието на фосфор и калий и не представлява проблем за животните**. Като се имат предвид много ниските нива на бехенова киселина в царевицата (и 0,3% общо FA) и наблюдаваното увеличение в сравнение с конвенционалното съответствие, **хранителното въздействие върху животните чрез фуражите се счита за незначително**.

Глицинът не е есенциална аминокиселина, въпреки че *Wu et al. (2014)*<sup>13</sup> предполага, че адекватното присъствие на всички аминокиселини е важно за подобряване на ефективността в животновъдството. Аргининът, хистидинът и лизинът са незаменими аминокиселини. **Царевичните зърна не се считат за основен източник на аминокиселини при животните и увеличаването на тези аминокиселини не е проблем за храненето на животните**.

Хранителната диета на животните обикновено е балансирана по отношение на съдържанието на основни минерали, включително фосфор и калий, и в крайна сметка се допълват, когато количеството, предоставяно от фуражите, не е достатъчно, за да задоволи хранителните нужди. **Наблюдаваното увеличение не представлява проблем за животните**.

Пиридоксинът е важен хранителен компонент и обикновено се добавя към диетата. **Наблюдаваното намаление в генетично обработената царевица в сравнение с референтната култура не представлява проблем за животните**.

**Фитиновата киселина е източник на фосфор**, но особено за непрехивните животни е до голяма степен несмилаема и нейната наличност може да се увеличи чрез добавяне на фитаза в диетата. **Наблюдаваното увеличение не е проблем за храненето на животните**.

В заключение, относно оценката на безопасността на храните/фуражите, *Cry1A.105*, *Cry2Ab2*, *Cry1F*, *PAT*, *Vip3Aa20*, *PMI*, *CP4 EPSPS* и *AAD-1* протеини, **новоекспресирани в царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, не пораждат опасения за безопасността и здравето на хората и животните. Не са установени взаимодействия между новоекспресираните протеини, които са от значение за безопасността на храните и фуражите, и не са установени общи токсикологични опасения** относно царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. По подобен начин експертната група по ГМО **не установи признаци за опасения за безопасността по отношение на алергенността или адювантността**, свързани с наличието на новоекспресирани протеини в царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, нито по отношение на общата алергенност на тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Въз основа на



результатите от сравнителната оценка и оценката на хранителната стойност експертната група по ГМО заключава, че **консумацията на царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 не представлява никакъв хранителен проблем** в контекста на обхвата на настоящото заявление.

### **Оценка на риска за околната среда**

Като се има предвид приложното поле по заявление EFSA-GMO-NL-2018-151, което **изключва отглеждането, оценката на риска за околната среда (ERA) на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** взема предвид главно: (1) **излагането на микроорганизми на рекомбинантна ДНК в стомашно-чревния тракт на животни, хранени с ГМО материал, и на микроорганизми, намиращи се в среда, изложена на фекалния материал на тези животни (тор и фекалии);** и (2) **случайно освобождаване в околната среда на жизнеспособни MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 царевични зърна по време на транспортирането и/или преработката.**

Царевицата е силно опитомена, не е издръжлива в по-студените региони на Европа и като цяло **не е в състояние да оцелее в околната среда без подходящо стимулиране**. Оцеляването е ограничено главно от комбинацията от липса на фаза на латентност и податливост към растителни патогени, тревопасни животни и студени климатични условия (*ОИСП, 2003*), въпреки че понякога диви генетично модифицирани царевични растения могат да се срещат извън районите на отглеждане в ЕС. Полевите наблюдения показват, че **царевичните зърна могат да оцелеят и да презимуват в някои региони на ЕС**, което може да доведе до **генна модификация за следващите култури** (*Palau-delma's et al., 2009*<sup>52</sup>). Въпреки това, ГМО царевиците са показали, че растат слабо и цъфтят асинхронно с конвенционалната царевица (*Palau-delma's et al., 2009*). Следователно понастоящем създаването и оцеляването на дива и ГМО царевица в ЕС е ограничено и преходно.

Малко вероятно е предвидените характеристики на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 да предоставят селективно предимство на царевичните растения, с изключение на случаите, когато те са изложени на глифозат-, глифозинат-, 2,4-D- и ААОР- съдържащи хербициди или инвазирани от насекоми вредители, които са възприемчиви към протеините *Cry1A.105* и/или *Cry2Ab2* и/или *CryIF* и/или *Vip3Aa*. Въпреки това, ако това се случи, това предимство няма да позволи на ГМ растението да преодолее други биологични и абиотични фактори, атакуващи устойчивостта и инвазивността на растението. Следователно, наличието на предвидените характеристики няма да повлияе на устойчивостта и инвазивността на ГМ растението.

В заключение експертната група по ГМО счита, че **царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 ще бъде еквивалентна на конвенционалните хибридни сортове царевица**, тъй като те могат да оцелеят до следващите сезони или да създадат случайни диви растения при европейски екологични условия в случай на

неволно освобождаване в околната среда на жизнеспособни царевични зърна MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

Предпоставка за всеки генен трансфер е наличието на пътища за трансфер на генетичен материал или чрез хоризонтален генен трансфер (HGT) на ДНК, или чрез вертикален генен трансфер чрез кръстосано опрашване от диви растения, произхождащи от разпръснати зърна.

Вероятността и потенциалните неблагоприятни ефекти от HGT на рекомбинантната ДНК са оценени в предишни научни становища на експертната група по ГМО за отделните събития. Тази оценка включва разглеждане на хомоложни процеси на рекомбинация, както и на нехомоложни крайни съединения и микрохомоложно-медиранни крайни съединения. Разгледани са възможните ползи за здравето, които бактериите биха спечелили от придобиването на рекомбинантна ДНК. **Не е установен риск в резултат на малко вероятен, но теоретично възможен HGT на рекомбинантните гени на бактерии в червата на домашни животни и хора, хранени с ГМО материал или друга среда.**

Заявителят е представил актуализиран биоинформатичен анализ за всяко от отделните събития, за да се оцени възможността за HGT чрез хомоложна рекомбинация. Актуализираните биоинформатични анализи на проведените геномни модификации: MON 89034, 1507, MIR162, NK603 и DAS-40278-9 потвърждават оценките, предоставени в контекста на предишни научни становища. **Синергични ефекти на рекомбинантните гени не са идентифицирани**, например поради комбинации от рекомбинантни генни последователности, които биха довели до увеличаване на вероятността за HGT или селективно предимство. Ето защо експертната група по ГМО заключава, че **малко вероятното, но теоретично възможно, хоризонтално прехвърляне на рекомбинантни гени от тази царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 към бактериите не поражда опасения за безопасността на околната среда.**

Разгледан е потенциалът на случайно разпръскване на царевични растения MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 при внос и транспорт на зърно, да прехвърлят рекомбинантна ДНК към диви растения и последиците за околната среда от това прехвърляне. За да се осъществи трансфер на гени между растения, внесените генетично модифицирани царевични зърна трябва да покълнат и да се развият в растения в райони, съдържащи диви растения от същия вид и/или култивирана царевица със синхронен цъфтеж и условия на околната среда, благоприятстващи кръстосаното опрашване.

Царевицата е култура с преобладаващо кръстосано опрашване. Кръстосаното опрашване се извършва главно от вятъра (*ОИСП, 2003 г.*). **Вертикалният трансфер на гени от царевица е ограничен до вида *Zea***. Дивите родственици на царевицата, извън култивираните сортове **не са известни/докладвани в Европа** (*ОИСП, 2003; ЕОБХ, 2016, 2022*). Поради това потенциалният вертикален трансфер на гени е ограничен до видове царевица *Zea*, като *teosintes* и/или други хибриди, срещащи се в

райони, в които се отглеждат култивирани сортове (ЕОБХ, 2016, 2022; *Trtikova et al., 2017; Le Corre et al., 2020*<sup>53</sup>).

Потенциалът на неволно разпръснатите царевични зърна за създаване, отглеждане и производство на цветен пращец е изключително нисък и преходен. Поради това **вероятността/честотата на кръстосано опрашване между случайни диви генетично модифицирани царевични растения в резултат на разпръскване на зърно или култивирани растения *Zea* се счита за изключително нисък (ЕОБХ, 2016 г., 2022 г.)**. Дори ако се стигне до кръстосано опрашване, експертната група по ГМО счита, че въздействието върху околната среда в резултат на разпространението на гени от случайни ГМО царевични растения в Европа няма да се различава от това на конвенционалните сортове царевица, дори ако са изложени на предвидените хербициди.

Като се има предвид обхватът на приложение, показан в заявлението EFSA-GMO-NL-2018-151, потенциалните взаимодействия на случайни **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** царевични растения, произтичащи от разпръскване при внос и транспорт на зърно с целевите организми, не се считат за релевантен проблем.

Като се има предвид, че **излагането в околната среда на нецелесъобразни организми на разпръснато генетично модифицирано зърно** или понякога генетично модифицирани царевични растения, произхождащи от разпръснати царевични зърна **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9**, е **ограничено** и тъй като **погълнатите протеини се разграждат преди да влязат в околната среда чрез животинската тор, и посредством движение на животните, хранени с генетично модифицирана царевица, потенциалните взаимодействия на царевицата **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** с нецелесъобразни организми не се считат от експертната група по ГМО за риск за безопасността на околната среда**. Взаимодействията, които могат да възникнат между протеините *Cry* и *Vip*, няма да променят това заключение.

Взаимодействията с абиотичната среда и биогеохимичните цикли и **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** царевични растения, съгласно експертната група по ГМО, не крият рискове за безопасността на околната среда и не се считат за значим проблем.

В заключение, експертната група по ГМО е стигнала до извода, че е **малко вероятно царевицата **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** да се различава от конвенционалните сортове царевица по способността си да се запази при европейски условия в околната среда**. Анализът на HGT от царевица **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** към бактерии не показва опасения за безопасността. Поради това, като се имат предвид въведените характеристики, резултатът от всички проведени анализи, както и начините и нивата на експозиция, експертната група по ГМО заключава, че царевицата **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** няма да **породи опасения за безопасността в случай на**

**случайно освобождаване на жизнеспособни генетично модифицирани царевични зърна в околната среда.**

### **Предварително оценени подкомбинации**

Експертната група по ГМО вече е извършила оценка на 16 подкомбинации и не са установени опасения за безопасността. Проучванията в литературата, обхващащи десетте години преди подаването на заявлението и периода от датата на валидност на заявлението, не разкриват нова научна информация, която да е от значение за оценката на риска на тази ГМО царевица. Следователно експертната група по ГМО счита, че предишните ѝ заключения относно тези подкомбинации остават валидни.

Девет от 25-те подкомбинации, включени в обхвата на настоящото заявление, не са предварително оценени от експертната група по ГМО. В този случай, в съответствие със стратегията, определена от експертната група по ГМО, оценката на риска взема за отправна точка оценката на единичните геномни събития, свързани с царевицата, и използва данните, получени за MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, както и всички допълнителни налични данни за подкомбинациите, оценени по-рано от експертната група по ГМО, и допълнителните проучвания, предоставени от заявителя.

**Генетичната стабилност на въведената ДНК в продължение на няколко поколения за генетичните събития в MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 царевицата е доказана по-рано. Експертната група по ГМО не е намерила доказателства за загуби на целостта на геномните събития в подкомбинациите на ГМО царевицата.**

Експертната група по ГМО е оценила дали всяка комбинация от петте геномни събития чрез конвенционално кръстосване може да доведе до значителни промени в нивата на експресия на новоекспресираните протеини, тъй като това може да означава неочаквано взаимодействие между геномните събития. Въз основа на настоящите познания за въведените молекулярни елементи, **няма причина да се очакват взаимодействия, които биха повлияли на нивата на новоекспресираните протеини в деветте подкомбинации в сравнение с тези за единичните геномни събития при ГМО царевицата.** Тази хипотеза е потвърдена чрез сравняване на нивата на новоекспресираните протеини на всяко отделно генетично събитие в конвенционално отглежданата и развъждана царевица с тези на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Нивата са сходни при царевица MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и при единичните генетични събития. Следователно **няма индикация за взаимодействие на ниво протеинова експресия.** Това подкрепя заключението, че **взаимодействия, засягащи нивата на експресия на новоекспресираните протеини, не се очакват в деветте подкомбинации според обхвата на приложение, съобразно заявление EFSA-GMO-NL-2018-151.**

Експертната група по ГМО оцени потенциала за взаимодействия между геномните модификации, свързани с царевицата, в деветте подкомбинации, които не са били оценени по-рано, като се вземат предвид предвидените характеристики и нежеланите ефекти. Въз основа на известните биологични функции на отделните

новоекспресирани протеини, понастоящем няма очаквания за възможни взаимодействия, свързани с безопасността на храните и фуражите или околната среда между тези протеини в тези подкомбинации, с изключение на предвидените взаимодействия на биологично ниво между протеините *Cry* и *Vip*. Експертната група по ГМО е взела предвид всички планирани и потенциални непредвидени ефекти, разгледани при оценката на петте отделни генетични събития, оценените по-рано подкомбинации и царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Заключение е, че нито едно от тези събития не би породило опасения за безопасността, когато се комбинира в някоя от тези подкомбинации на царевицата. Експертната група по ГМО счита, че не са необходими допълнителни данни за завършване на оценката на подкомбинациите на царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

Тъй като не са установени нови опасения за безопасността за оценените по-рано подкомбинации, експертната група по ГМО счита, че предишните ѝ заключения относно тези подкомбинации на царевица остават валидни. За останалите девет подкомбинации, включени в обхвата на приложение EFSA-GMO-NL-2018-151, експертната група по ГМО, оценявайки възможността за взаимодействия между събитията, стигна до заключението, че тези комбинации няма да предизвикат опасения за безопасността. Поради това се очаква тези подкомбинации също да бъдат толкова безопасни, колкото и хранителни еквиваленти с единични генни модификации, оценените по-рано подкомбинации и царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9.

#### Мониторинг след пускане на пазара

Експертната група по ГМО е стигнала до заключението, че царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9, описана в настоящото заявление, не поражда хранителни проблеми и е толкова безопасна, колкото сравнителните и изпитваните референтни сортове, които не са генетично модифицирани. Шестнадесет от подкомбинациите са предварително оценени и не са установени опасения за безопасността. Очаква се подкомбинациите, които не са били предварително оценени и включени в обхвата на настоящото заявление, да бъдат също толкова безопасни, колкото единичните геномни събития при царевицата, оценените по-рано подкомбинации царевица и царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9. Поради това експертната група по ГМО счита, че не е необходим мониторинг след пускането на пазара на храни и фуражи, съдържащи царевицата MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9 и нейните подкомбинации.

Целите на плана за мониторинг на околната среда след пускането на пазара (PMEM) съгласно приложение VII към Директива 2001/18/ЕО са: Да потвърди, че всяко предположение относно възникването и въздействието на потенциални неблагоприятни последици от ГМО или неговото използване в ЕРА са правилни; и Да идентифицира появата на неблагоприятни въздействия при употребата на ГМО върху човешкото здраве или околната среда, които не са предвидени в PMEM. Мониторингът е свързан с



управлението на риска и следователно окончателното приемане на плана за *PMEM* попада извън мандата на ЕОБХ.

Тъй като **ERA** не е установила потенциални неблагоприятни въздействия върху околната среда от царевица **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9**, не се изисква специфичен за конкретния случай мониторинг.

Планът за *PMEM*, предложен от заявителя, за царевица **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** включва: 1) описание на мониторингов подход, включващ бизнес оператори (организации, участващи във вноса и преработката), докладване на заявителя чрез централизирана система за всяко наблюдавано неблагоприятно въздействие на ГМО върху човешкото здраве и околната среда; 2) координираща система, създадена от *CropLife Europe* за събиране на информация, записана от различните оператори; и 3) преглед на съответните научни публикации и научна литература (*Lecoq et al., 2007<sup>14</sup>*). Заявителят предлага в края на срока на разрешението да се представя доклад за *PMEM* на годишна основа и окончателен доклад.

Експертната група по ГМО счита, че **обхватът на представения от заявителя план за *PMEM* съответства на предвидените видове употреба на царевица **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9****. Експертната група по ГМО е съгласна с интервалите на докладване, предложени от заявителя в неговия план за *PMEM*. Планът за *PMEM* и интервалите на докладване са в съответствие с предвидените употреби на царевицата **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** и нейните подкомбинации.

В контекста на годишните доклади за *PMEM* заявителят следва да подобри бъдещите прегледи на научната литература в съответствие с препоръките на експертната група по ГМО.

Експертната група по ГМО заключава, че **царевицата **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** не поражда никакви опасения за безопасността на храни и фуражи, здравето на хора и животни и биоразнообразието в околната среда и е също толкова безопасна, колкото избраните за сравнение референтни сортове, които не са генетично модифицирани**. Има много малка вероятност от въздействие върху околната среда и в резултат на случайно разпръскване в околната среда на зърна царевица **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9**.

Въз основа на публикации в научната литература, експертната група по ГМО **не е установила никакви рискове, свързани с безопасността, свързани с предвидената употреба на царевица **MON 89034 x 1507 x MIR162 x NK603 x DAS-40278-9** и нейните подкомбинации**.

Въпреки постигнатия значителен напредък и успеваемостта на генетичната трансформация на царевицата **все още има документирани в научната литература различни ограничения в протоколите за трансформация**. Има нужда от допълнителни усилия за разработване на утвърдени работни процеси, които могат

да бъдат адаптирани във всяка лаборатория. Създаването на нови утвърдени с времето и работещи стандартни оперативни процедури и подобряването на съществуващи работни потоци за геномна модификация и трансформация или пък генна редакция, може да доведе до по-добри резултати, постигането на по-устойчиви характеристики и най-вече по-възможна детекция посредством нови молекулярни методи на генни редакции или модификации в храни и фуражи. Техниката *gene gun* също може да бъде допълнително подобрена. Напредъкът в нанотехнологиите може да се използва за разработване на нови методи в диагностиката и доказването на наличието на генна редакция/модификация в храни, фуражи, растения и животни или в проби от околната среда. Новите технологии за геномно редактиране и генна модификация могат да се подобрят така, че да причинят минимални щети на целевата тъкан/организъм и да улеснят доставянето на нови гени по прецизен и чист начин. Необходим е също така по-широк фокус на изследване реакциите на трансформация/модификация/редакция на широк набор от генотипове. Например, оптимизирането на манипулирането и трансформацията на царевичата чрез *Agrobacterium* като „донорна бактерия“ за гени, отговорни за чувствителността на тази култура към заболявания и вредители, както и изучаването и изследването на реакциите на проведените геномни подходи за редакция/модификация, може да доведе до по-добра ефективност, по-точни целеви геномни модификации и намаляване на грешките, възникващи при тези геномни процеси и унаследяването им в бъдещите поколения. Използването на вирусни гени при трансформация на царевича също трябва да се изследват като нови системи за модификация/редакция на растителния геном.

Само когато техниките за трансформация/модификация/редакция на растителни култури като царевичата станат по-прости, по-евтини, по-надеждни и стабилни, технологията за генетична модификация ще се използва в световен мащаб за осигуряване на продоволствената сигурност.

#### Изготвил:

Красимира Захариева,  
Главен експерт в Дирекция ОРХВ, ЦОРХВ

#### Използвана литература:

1. Char, S.N., Neelakandan, A.K., Nahampun, H., Frame, B., Main, M., Spalding, M.H., Becraft, P.W., Meyers, B.C., Walbot, V., Wang, K. and Yang, B., 2017. An *Agrobacterium*-delivered CRISPR/Cas9 system for high-frequency targeted mutagenesis in maize. *Plant biotechnology journal*, 15(2), pp.257-268.
2. Vad-Nielsen, J., Lin, L., Bolund, L., Nielsen, A.L. and Luo, Y., 2016. Golden Gate Assembly of CRISPR gRNA expression array for simultaneously targeting multiple genes. *Cellular and molecular life sciences*, 73(22), pp.4315-4325.
3. Werner, S., Engler, C., Weber, E., Gruetzner, R. and Marillonnet, S., 2012. Fast track assembly of multigene constructs using Golden Gate cloning and the MoClo system. *Bioengineered*, 3(1), pp.38-43.

4. Li Y, Tran AH, Danishefsky SJ, and Tan Z, 2019. Chemical biology of glycoproteins: from chemical synthesis to biological impact. *Methods in Enzymology*, 621, 213–229.
5. Helm RM, 2001. Topic 5: Stability of Known Allergens (Digestive and Heat Stability). Report of a Joint FAO, WHO Expert Consultation on Allergenicity of Food Derived from Biotechnology, 22–25, January 2001. Food and Agriculture organisation of the United Nations (FAO), Italy, Rome.
6. Breiteneder H and Mills EN, 2005. Molecular properties of food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115, 14–23.
7. Costa J, Bavaro SL, Benede S, Diaz-Perales A, Bueno-Diaz C, Gelencser E, Klueber J, Larre C, Lozano-Ojalvo D, Lupi R, Mafra I, Mazzucchelli G, Molina E, Monaci L, Martin-Pedraza L, Piras C, Rodrigues PM, Roncada P, Schrama D, Cirkovic-Velickovic T, Verhoeckx K, Villa C, Kuehn A, Hoffmann-Sommergruber K and Holzhauser T, 2022. Are physicochemical properties shaping the allergenic potency of plant allergens? *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 62, 37–63. <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08810-9>
8. Chakroun M, Banyuls N, Bel Y, Escriche B and Ferre J, 2016. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80, 329–350.
9. Bel Y, Banyuls N, Chakroun M, Escriche B and Ferre J, 2017. Insights into the structure of the Vip3Aa insecticidal protein by protease digestion analysis. *Toxins*, 9, 131.
10. Gupta RK, Gangoliya SS and Singh NK, 2015. Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 676–684.
11. Schlemmer U, Frølich W, Prieto RM and Grases F, 2009. Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, 330–375.
12. Feizollahi E, Mirmandi RS, Zoghi A, Zijlstra RT, Roopesh MS and Vasanthan T, 2021. Review of the beneficial and anti-nutritional qualities of phytic acid, and procedures for removing it from food products. *Food Research International*, 143, 110284. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110284>
13. Wu G, Bazer FW, Dai Z, Li D, Wang J and Wu Z, 2014. Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2, 387–417. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114113>
14. Lecoq E, Holt K, Janssens J, Legris G, Pleysier A, Tinland B and Wandelt C, 2007. General surveillance: roles and responsibilities the industry view. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 2(S1), 25–28.
15. Byrne, P., 2014. Genetically modified (GM) crops: techniques and applications. Fact sheet (Colorado State University. Extension). Crop series; no. 0.710.
16. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2002. Consensus Document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. Series on the Safety of Novel Food and Feeds (ENV/JM/MONO (2002)25), 6, 1–42.
17. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2003. Consensus Document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO(2003)11), 27, 1–49.
18. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2013. Guidance document on residues in livestock. In: Series on Pesticides No 73 ENV/JM/MONO(2013) 8, 4 September 2013.
19. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO), Mullins E, Bresson JL, Dalmay T, Dewhurst IC, Epstein MM, Firkbank LG, Guerche P, Hejatko J, Naegeli H, Moreno FJ. Assessment of genetically modified maize MON 89034× 1507× MIR162× NK603× DAS-40278-9 for food and

- feed uses, under regulation (EC) No 1829/2003 (application EFSA-GMO-NL-2018-151). *EFSA Journal*. 2022 Aug;20(8):e07451.
20. De Santis, B., Stockhofe, N., Wal, J.M., Weesendorp, E., Lalles, J.P., van Dijk, J., Kok, E., De Giacomo, M., Einspanier, R., Onori, R. and Brera, C., 2018. Case studies on genetically modified organisms (GMOs): Potential risk scenarios and associated health indicators. *Food and Chemical Toxicology*, 117, pp.36-65.
  21. <https://www.bayer.com/en/agriculture/safety-results-gm-crops>
  22. <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/advsearch/default.asp?CropID=6&TraitTypeID=Any&DeveloperID=Any&CountryID=Any&ApprovalTypeID=Any>
  23. [https://croplifeurope.eu/wp-content/uploads/2021/01/Factsheet\\_Smartstax-Enlist-and-subcomb\\_2021.pdf](https://croplifeurope.eu/wp-content/uploads/2021/01/Factsheet_Smartstax-Enlist-and-subcomb_2021.pdf)
  24. <https://vib.be/news/applications-submitted-new-field-trials-genome-edited-maize>
  25. <https://www.prnewswire.com/news-releases/origin-agritech-ltd-utilized-gene-editing-technology-to-create-new-corn-traits-301242091.html>
  26. <https://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/42/>
  27. <https://bio-protocol.org/pdf/Bio-protocol3223.pdf>
  28. Qi, X., Wu, H., Jiang, H., Zhu, J., Huang, C., Zhang, X., Liu, C. and Cheng, B., 2020. Conversion of a normal maize hybrid into a waxy version using in vivo CRISPR/Cas9 targeted mutation activity. *The Crop Journal*, 8(3), pp.440-448.
  29. Li, Y., Zhu, J., Wu, H., Liu, C., Huang, C., Lan, J., Zhao, Y. and Xie, C., 2020. Precise base editing of non-allelic acetolactate synthase genes confers sulfonylurea herbicide resistance in maize. *The Crop Journal*, 8(3), pp.449-456.
  30. Watkins, Philip R., Joseph E. Huesing, Venu Margam, Larry L. Murdock, and T. J. V. Higgins. "Insects, nematodes, and other pests." In *Plant Biotechnology and Agriculture*, pp. 353-370. Academic Press, 2012.
  31. Man, J. and Bartlett, M.E., 2019. Efficient Assembly of Large Multiplex CRISPR/Cas9 Guide Arrays for Maize Genome Editing. *Bio-protocol*, pp.e3223-e3223.
  32. Wang, B., Zhu, L., Zhao, B., Zhao, Y., Xie, Y., Zheng, Z., Li, Y., Sun, J. and Wang, H., 2019. Development of a haploid-inducer mediated genome editing system for accelerating maize breeding. *Molecular plant*, 12(4), pp.597-602.
  33. Doll, N.M., Gilles, L.M., Gerentes, M.F., Richard, C., Just, J., Fierlej, Y., Borrelli, V.M., Gendrot, G., Ingram, G.C., Rogowsky, P.M. and Widiez, T., 2019. Single and multiple gene knockouts by CRISPR-Cas9 in maize. *Plant cell reports*, 38(4), pp.487-501.
  34. Chen, R., Xu, Q., Liu, Y., Zhang, J., Ren, D., Wang, G. and Liu, Y., 2018. Generation of transgene-free maize male sterile lines using the CRISPR/Cas9 system. *Frontiers in plant science*, 9, p.1180.
  35. Lee, K., Zhang, Y., Kleinstiver, B.P., Guo, J.A., Aryee, M.J., Miller, J., Malzahn, A., Zarecor, S., Lawrence-Dill, C.J., Joung, J.K. and Qi, Y., 2019. Activities and specificities of CRISPR/Cas9 and Cas12a nucleases for targeted mutagenesis in maize. *Plant biotechnology journal*, 17(2), pp.362-372.
  36. Feng, C., Su, H., Bai, H., Wang, R., Liu, Y., Guo, X., Liu, C., Zhang, J., Yuan, J., Birchler, J.A. and Han, F., 2018. High-efficiency genome editing using a dmcl promoter-controlled CRISPR/Cas9 system in maize. *Plant biotechnology journal*, 16(11), pp.1848-1857.
  37. Xie, K., Wu, S., Li, Z., Zhou, Y., Zhang, D., Dong, Z., An, X., Zhu, T., Zhang, S., Liu, S. and Li, J., 2018. Map-based cloning and characterization of *Zea mays* male sterility33 (*ZmMs33*) gene, encoding a glycerol-3-phosphate acyltransferase. *Theoretical and Applied Genetics*, 131(6), pp.1363-1378.



38. Huang, C., Sun, H., Xu, D., Chen, Q., Liang, Y., Wang, X., Xu, G., Tian, J., Wang, C., Li, D. and Wu, L., 2018. *ZmCCT9 enhances maize adaptation to higher latitudes. Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(2), pp.E334-E341.
39. Char, S.N., Neelakandan, A.K., Nahampun, H., Frame, B., Main, M., Spalding, M.H., Becraft, P.W., Meyers, B.C., Walbot, V., Wang, K. and Yang, B., 2017. *An Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for high-frequency targeted mutagenesis in maize. Plant biotechnology journal*, 15(2), pp.257-268.
40. Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H.R., Archibald, R.L., Yang, M., Hakimi, S.M., Mo, H. and Habben, J.E., 2017. *ARGOS 8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. Plant biotechnology journal*, 15(2), pp.207-216.
41. Aburumman, A., Migdadi, H., Akash, M., Al-Abdallat, A., Dewir, Y.H. and Farooq, M., 2020. *Detection of genetically modified maize in Jordan. GM crops & food*, 11(3), pp.164-170.
42. <https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/3-s2.0-B012227055X007252/first-page-pdf>
43. [https://euginius.eu/euginius/pages/gmo\\_fulltext\\_searchresults.jsf](https://euginius.eu/euginius/pages/gmo_fulltext_searchresults.jsf)
44. <https://euginius.eu/euginius/api/literature/pdf/6819502845306031280>
45. <https://www.fao.org/food/food-safety-quality/gm-foods-platform/browse-information-by/oecd-unique-identifier/oecd-unique-identifier-details/en/?ui=1180513>
46. Yadava, Pranjali, Alok Abhishek, Reeva Singh, Ishwar Singh, Tanushri Kaul, Arunava Pattanayak, and Pawan K. Agrawal. "Advances in maize transformation technologies and development of transgenic maize." *Frontiers in plant science* 7 (2017): 1949.
47. <https://www.fda.gov/food/agricultural-biotechnology/gmo-crops-animal-food-and-beyond#:~:text=Independent%20studies%20show%20that%20there,do%20not%20turn%20into%20GMOs.>
48. McGehee, M.R., *Methods and Techniques for Production of Genetically Modified Maize at Monsanto Global Seed.*
49. Hammond, B., Kough, J., Herouet-Guicheney, C., Jez, J.M. and ILSI International Food Biotechnology Committee Task Force on the Use of Mammalian Toxicology Studies in the Safety Assessment of GM Foods, 2013. *Toxicological evaluation of proteins introduced into food crops. Critical reviews in toxicology*, 43(sup2), pp.25-42.
50. Jurat-Fuentes, J.L. and Crickmore, N., 2017. *Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. Journal of invertebrate pathology*, 142, pp.5-10.
51. Huang S, Adams WR, Zhou Q, Malloy KP, Voyles DA, Anthony J, Kriz AL and Luethy MH, 2004. *Improving nutritional quality of maize proteins by expressing sense and antisense zein genes. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1958–1964.
52. Palau-delma's M, Penas G, Mel'e E, Serra J, Salvia J, Pla M, Nadal A and Messeguer J, 2009. *Effect of volunteers on maize gene flow. Transgenic Research*, 18, 583–594.
53. Le Corre, V., Siol, M., Vigouroux, Y., Tenailon, M.I. and Délye, C., 2020. *Adaptive introgression from maize has facilitated the establishment of teosinte as a noxious weed in Europe. Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(41), pp.25618-25627.