

Aan de minister van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
Mevrouw dr. J.M. Cramer
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 7 februari 2008
KENMERK CGM/080207-03
ONDERWERP Advies inschaling Fluitenkruid (*Anthriscus sylvestris*)

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van een kennisgeving getiteld “Combinatorial biosynthesis of podophyllotoxin in *Anthriscus sylvestris*” (IG 07-155) van de Rijksuniversiteit Groningen, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van Fluitenkruid (*Anthriscus sylvestris*). De aanvrager geeft aan dat door toepassing van genetische modificatie een bouwsteen voor leukemiemedicijnen in de plant geproduceerd wordt.

Fluitenkruid is een in Nederland algemeen voorkomende soort. De plant wordt bestoven door vliegen en andere insecten waardoor kruisingen met planten die zich buiten de kas bevinden zouden kunnen optreden. Daarom moeten maatregelen genomen worden om eventuele pollenoverdracht door insecten naar planten buiten de kas te voorkomen. De COGEM is derhalve van mening dat de handelingen met genetisch gemodificeerd Fluitenkruid in een insectendichte kas uitgevoerd dienen te worden. Indien de planten tijdens het experiment met behulp van insecten bestoven worden is de COGEM van mening dat een PK-II kas noodzakelijk is omdat de kans op ontsnapping van insecten uit deze kas verwaarloosbaar klein is. Indien geen insecten voor de bestuiving gebruikt worden volstaat ook een insectendichte PK-I kas.

Gezien het bovenstaande is de COGEM van mening dat de werkzaamheden in een insectendichte kas dienen plaats te vinden. De risico's voor mens en milieu acht zij dan verwaarloosbaar klein.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. D.C.M. Glandorf
Dr. I. van der Leij

Inschaling van handelingen met genetisch gemodificeerd Fluitenkruid

COGEM advies: CGM/080207-03

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van genetisch gemodificeerd Fluitenkruid (*Anthriscus sylvestris*). De aanvrager heeft het voornemen de plant te modificeren om zo uiteindelijk bestanddelen voor een medicijn tegen leukemie in handen te krijgen. Bureau GGO heeft voorgesteld deze planten te hanteren op PK-II niveau.

Voor de inschaling van werkzaamheden en handelingen met genetisch gemodificeerde planten wordt de “lijst van inhullingsverplichtingen BGGO” (voormalige appendix C) gehanteerd. Deze lijst bevat planten waarvan een aantal belangrijke kenmerken bekend zijn, zoals de voortplantingswijze, de bestuiving, het bloeiseizoen, het voorkomen van kruisbare verwanten in de Nederlandse flora en de zaadkarakteristieken. Op basis van deze kenmerken wordt bepaald of werkzaamheden uitgevoerd dienen te worden op PK-I, al dan niet met aanvullende maatregelen zoals het gebruik van een insectennet, of op een hoger niveau zoals PK-II. Aangezien Fluitenkruid niet voorkomt op deze lijst en nog niet eerder voor advies aan de COGEM is voorgelegd, is de COGEM verzocht te adviseren over de inschaling van de handelingen.

Kenmerken Fluitenkruid

A. sylvestris is een in Nederland algemeen voorkomende soort, behorend tot de schermbloemen familie (*Apiaceae*). De plant komt voor op vochtige, voedselrijke grond in graslanden en loofbossen en voornamelijk in bermen en op dijken (1). Fluitenkruid is een kortlevende vaste plant. De plant heeft schermen die zijn samengesteld uit kleine witte bloemen die bloeien in de maanden april tot juni. Door de open bloeiwijze kunnen ook kleine insecten bij de nectar komen en zo voor bestuiving zorgen. Bestuiving vindt plaats door middel van insecten. Diptera (tweevleugeligen) zoals vliegen, zijn verreweg de belangrijkste bestuivers (2). De bloemen bezitten daarnaast een specifieke geur die insecten aantrekt. De plant plant zich door middel van zaden voort en de zaden blijven tussen de één en vijf jaar kiemkrachtig (3). In Europa wordt geen persistente zaadbank gevormd omdat het merendeel van de zaden ontkiemt in het jaar na bloei en slechts een klein percentage in het jaar daarna. (4). De zaden zijn relatief groot (5-10 mm) (4).

Achtergrond ingebrachte genen

De aanvrager heeft het voornemen om *A. sylvestris* te modificeren met humaan Cytochroom P450. Dit ten einde de stof Podophyllotoxine (POD) in de plant te kunnen synthetiseren. POD behoort tot de groep van de lignanen waaraan antitumor eigenschappen toegedicht worden. In dit opzicht is er dus sprake van een farmaceutisch gewas. In het verleden heeft de COGEM een advies en signalering uitgebracht over farmaceutische gewassen (5).

Er zijn verschillende manieren om POD te produceren. De meest gebruikte manier is de extractie en isolatie van POD uit de plant *Polophyllum hexandrum*. Deze Indiase plant wordt echter met uitsterven bedreigd. Andere manieren zijn de chemische synthese van POD of de productie van POD in plantencelcultures. Dit is echter ingewikkeld en daarmee niet kosteneffectief (56). Daarom is gezocht naar alternatieven. Eén van deze alternatieven is de omzetting van de stof deoxypodophyllotoxin (DOP) naar POD. DOP is een precursor in de biosynthese van POD. De aanvrager geeft aan dat deze omzetting in planten gekatalyseerd wordt door Cytochroom P450. *A. sylvestris* staat bekend om zijn hoge concentratie aan DOP en is daarmee een geschikte plant voor de productie van POD.

Door het humane gen voor Cytochroom P450 in *A. sylvestris* in te bouwen wordt het van nature in de plant aanwezige DOP omgezet in ePOD, de synthetische precursor van POD die als basis gebruikt wordt in de industriële productie voor de productie van de leukemie medicijnen.

Overweging en advies

De handelingen in de onderhavige aanvraag hebben betrekking op genetisch gemodificeerde *A. sylvestris*. In de planten is het humane gen voor CYP450 3A4 ingebracht waardoor het van nature in de plant aanwezige DOP wordt omgezet in ePOD.

Fluitenkruid komt in de Nederlandse flora zeer algemeen voor waardoor kruisingen met de genetisch gemodificeerde planten zouden kunnen optreden. Tevens komen er verwanten van *A. sylvestris* in Nederland voor zoals Fijne kervel (*A. caucalis*) en Echte kervel, (*A. cerefolium*). De kans op spontane kruisingen met deze soorten is desondanks klein. Er is namelijk verschil in het aantal chromosomenparen (ploïdie-niveau) (7). Het kruisen van planten met een verschillend ploïdie-niveau leidt over het algemeen tot een grotere kans op steriele nakomelingen.

Aangezien de plant door insecten bestoven kan worden, dient voorkomen te worden dat pollenoverdracht door insecten naar planten buiten de kas plaatsvindt. Bij een vergunning onder het ingeperkt gebruik dient namelijk verspreiding van de ingebrachte genen in het milieu (buiten de kas), voorkomen te worden.

Door de grote schermen van *A. sylvestris* zijn de bloeiwijzen moeilijk in te hullen. Door de open bloeiwijze kunnen ook kleine insecten de plant bestuiven. De aanvrager geeft aan dat de planten tijdens het experiment mogen bloeien en zaad mogen zetten

om zo het transgene Fluitenkruid te vermeerderen. De aanvrager geeft hierbij echter niet aan hoe de bestuiving plaats gaat vinden. Gezien de specifieke bestuivingskarakteristieken van de plant is de COGEM van mening dat indien insecten worden ingezet voor de bestuiving, een PK-II kas noodzakelijk is voor dit experiment. De kans op het ontsnappen van insecten in een PK-II kas is namelijk verwaarloosbaar klein.

Fluitenkruid plaatst zich voor via zaad. Het zaad is relatief groot, en de verspreiding van de zaden uit de kas is daarom in principe gemakkelijk te voorkomen.

Indien werkzaamheden op PK-II inperkingsniveau zouden plaatsvinden, acht de COGEM het niet noodzakelijk om extra aanvullende maatregelen te nemen. De hierboven voorgestelde maatregelen behoren reeds tot de standaard richtlijnen voor werkzaamheden in PK-II kassen (8).

Concluderend is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu bij de voorgenomen werkzaamheden met *A. sylvestris* verwaarloosbaar klein zijn mits maatregelen in acht worden genomen met het oog op het voorkomen van bestuiving door insecten.

Additionele opmerking

De COGEM heeft eerder een advies/signaleringsuitgebrachte over farmaceutische gewassen. In deze signalering stelt de COGEM dat productie van een farmaceuticum specifieke risico's met zich meebrengt bij teelt onder niet-ingeperkte omstandigheden. De COGEM wijst erop dat bij een eventuele latere teelt onder niet ingeperkte omstandigheden de door de COGEM aangekaarte problematiek van toepassing is.

Referenties

1. Van der Meijden R (2005). Heukels' Flora van Nederland 23^e druk. Wolters-Noordhoff, Groningen
2. Dlussky GM (1998). Mechanisms of competition for pollinators in *Anthriscus sylvestris* Hoffm. and *Aegopodium podagraria* L. (Apiaceae). *Journal of general biology* 59: 22-44
3. Flora databank. Internet: flora.instat.be (21 november 2007)
4. Darbyshire SJ, Hoeg R en Haverkort J (1999). The biology of Canadian weeds. 111. *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. *Canadian journal of plant science* 79: 671-682
5. COGEM (2004). Farmaceutische gewassen. Signalering en Advies. CGM/041214-01/02
6. Giri A en Narasu ML (2000). Production of podophyllotoxin from *Podophyllum hexandrum*: a potential natural product for clinically useful anticancer drugs. *Cytotechnology* 34: 17-26

7. Index to Plant Chromosome Numbers (IPCN). Missouri Botanical Gardens. Internet: mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.html (26 november 2007)
8. VROM (2004). Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen