

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

DATUM 15 februari 2008
KENMERK CGM/080215-01
ONDERWERP Advies categorie 1 veldproef met herbicidentolerante maïs DP-098140-6

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de ontwerpbeschikking DGM/SAS IM 07-009 en de vergunningaanvraag voor een categorie 1 veldproef getiteld 'Application for the deliberate release of genetically modified DP-098140-6 maize into the environment', aangevraagd door Pioneer, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een kleinschalige veldproef (categorie 1) met de genetisch gemodificeerde maïslijn DP-098140-6. Deze maïslijn brengt het *gat4621* en het *zma-hra* gen tot expressie en is als gevolg hiervan tolerant voor glyfosaat-bevattende en ALS-remmende (sulfonylurea) herbiciden. Het doel van de voorgenomen werkzaamheden is het beproeven van maïslijn DP-08140-6 in aanwezigheid en afwezigheid van deze herbiciden.

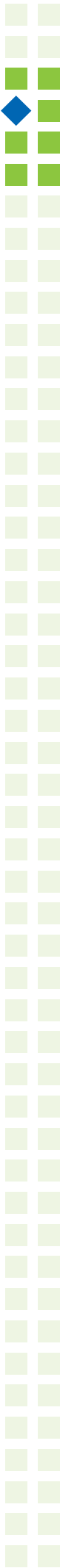
Maïs is vorstgevoelig en zal de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. Opslag van maïs wordt in Nederland zelden tot nooit waargenomen. Verwilderde maïspopulaties zijn in Nederland nog nooit aangetroffen. De ingebrachte genen bieden buiten het proefobject geen selectief voordeel en er zijn geen redenen om aan te nemen dat de modificatie zal leiden tot een verhoogde kans op verwildering.

Er zijn geen aanwijzingen dat de ingebrachte genen coderen voor humane toxische of allergene eiwitten. Ook zijn er op basis van de ingebrachte genen geen redenen om effecten op niet-doelwitorganismen te verwachten.

De genetisch gemodificeerde maïslijn kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten, maar wel naar andere cultuurrassen van maïs. Indien uitkruising optreedt, is de COGEM gezien het bovenstaande van mening dat de kans op schadelijke effecten verwaarloosbaar klein is. De mate van uitkruising is geminimaliseerd door het hanteren van een isolatieafstand van 400 meter en het planten van vier randrijen niet-gg-maïs. Naar verwachting zal het uitkruisingspercentage minder bedragen dan de detectielimiet van ca. 0,1%.

De COGEM is verder van mening dat aan alle voor een categorie 1 veldproef gestelde criteria wordt voldaan.

Gezien het bovenstaande heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht zij de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.



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

Hoogachtend,



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

Voorzitter COGEM

c.c. Dr. D.C.M. Glandorf

Dr. I. van der Leij

Kleinschalige veldproef met de genetisch gemodificeerde herbicidentolerante maïslijn DP-98140-6

COGEM advies CGM/080215-01

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een categorie 1 veldproef met de genetisch gemodificeerde maïslijn DP-98140-6. Deze maïslijn brengt het *gat4621* en het *zm-hra* gen tot expressie en is als gevolg hiervan tolerant voor glyfosaat-bevattende en ALS-remmende (sulfonylurea) herbiciden. De vergunningaanvrager, Pioneer, wil de kenmerken van maïslijn DP-098140-6 beproeven in aan- en afwezigheid van glyfosaat of ALS-remmende herbiciden. De vergunningaanvraag (IM 07-009) betreft werkzaamheden met deze genetisch gemodificeerde maïslijn in de gemeenten Borger-Odoorn, Midden-Drenthe, Noordoostpolder, Reiderland en Zeewolde.

2. Milieurisicoanalyse

Bij de risicobeoordeling van de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen (ggo's), zoals die door de COGEM wordt uitgevoerd, wordt gekeken naar de effecten die het ggo kan hebben op mens en milieu, waarbij de mens als integraal onderdeel van het milieu wordt beschouwd.

Onder risico wordt verstaan de combinatie van de gevolgen van een gevaar en de kans dat deze gevolgen zich kunnen voordoen. De mogelijke schadelijke effecten van (toepassing van) een ggo worden vergeleken met die van het ongemodificeerde organisme, de zogenaamde "baseline", waaruit het ggo is afgeleid. Bij de introductie in het milieu wordt door de COGEM de staande landbouw en de klassieke veredeling als "baseline" voor genetische gemodificeerde gewassen gebruikt (1).

De uitgangspunten en de methodiek van de milieurisicobeoordeling is in de EU richtlijn 2001/18/EG en de bijbehorende bijlagen beschreven. Hierin is vastgelegd dat bij de milieurisicobeoordeling zowel gekeken wordt naar mogelijke directe als naar indirecte schadelijke effecten van het ggo. Om tot een risico-inschatting te komen, worden de volgende stappen doorlopen: de identificatie van kenmerken die schadelijke effecten kunnen hebben; de evaluatie van mogelijke gevolgen van het mogelijk optreden van schadelijke effecten; de evaluatie van de kans op het optreden van mogelijke schadelijke effecten; een schatting van het risico dat aan elk bepaald kenmerk van het ggo is verbonden; de bepaling van risicomanagementmaatregelen; en de bepaling van het algehele risico van het ggo.

Bij de huidige aanvraag kijkt de COGEM naar de risico's voor mens en milieu die

verbonden zijn aan de introductie in het milieu van een genetisch gemodificeerde maïslijn met tolerantie voor glyfosaat-bevattende en ALS-remmende herbiciden. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij is de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van maïs met wilde verwanten of andere verwanten, mogelijke veranderingen in persistentie en invasiviteit van de plant en verwildering van belang. Daarnaast wordt gekeken naar eventuele nadelige effecten indien de ingebrachte genen zich in het milieu zouden verspreiden. Ook incidentele consumptie, vraat en mogelijke toxische of allergene effecten op mens en dier zijn onderwerp van de risicoanalyse. Bovendien worden eventuele effecten op niet-doelwitorganismen bestudeerd. Effecten op niet-doelwitorganismen zouden kunnen leiden tot verstoring van voedselketens of ecosystemen. Een eiwit kan mogelijk intact blijven in insecten, waarna het door insecten verspreid kan worden vanuit het proefveld. Mogelijke effecten op de bodemmicroflora zouden een verstoring in de nutriëntenkringloop in de bodem als gevolg kunnen hebben.

Teneinde de bovenstaande aspecten te kunnen beoordelen wordt een aantal factoren in ogenschouw genomen: de eigenschappen van het gastheerorganisme waarin de transgenen zijn ingebracht, de kenmerken van de ingebrachte transgenen, de mogelijke effecten van deze genen, de kenmerken van het ggo en de mogelijke interactie met het milieu waarin het ggo geïntroduceerd wordt. Hoewel de COGEM beschikt over de exacte locatie van deze veldproef, is zij uitgegaan van een 'worst case scenario' (2). Dit betekent dat de COGEM er bij het beoordelen van de risico's vanuit is gegaan dat alle relevante geografische, klimatologische en ecologische omstandigheden, die zich in Nederland kunnen voordoen, daadwerkelijk in de directe omgeving van de veldproef zullen voorkomen.

De COGEM heeft eerder richtlijnen opgesteld voor de beoordeling van veldproefaanvragen met genetisch gemodificeerde planten (3). Teneinde mogelijke milieurisico's te voorkomen, worden in deze richtlijnen criteria beschreven voor een klassenindeling van veldproeven. Wanneer weinig kennis beschikbaar is, worden alleen kleinschalige werkzaamheden toegelaten waarbij eventuele nadelige effecten verregaand ingeperkt moeten worden. Voor grootschalige veldproeven met minder inperkende voorschriften is meer kennis van het ggo vereist. Deze kennis kan bijvoorbeeld verkregen worden uit eerdere kleinschalige veldproeven of uit andere bronnen.

De huidige aanvraag betreft een categorie 1 veldproef. Eventuele schadelijke effecten moeten bij een veldproef van deze categorie beperkt blijven tot het proefobject. Bij een categorie 1 veldproef mogen werkzaamheden op maximaal vijf locaties worden uitgevoerd waarbij elke locatie niet groter mag zijn dan één hectare. De huidige aanvraag voldoet aan deze criteria. Daarnaast zal het proefveld omgeven worden met vier randrijen

niet-gg-maïs en zal er een isolatieafstand van 400 meter worden gehanteerd tussen de gg-maïs en commercieel geteelde maïs.

2.1 Eigenschappen van het gewas

Maïs (*Zea mays*) behoort tot de familie van de *Poaceae* en wordt wereldwijd geteeld (4). Bij maïs vindt bevruchting voornamelijk plaats door middel van kruisbestuiving, hoewel ook zelfbestuiving in lage percentages (5%) voorkomt. In Europa zijn geen wilde verwanten van maïs aanwezig, waardoor uitkruising met wilde verwanten niet kan optreden (4). Uitkruising met andere cultuurrassen van maïs kan optreden, maar de eventueel door kruisbestuiving ontstane korrels zitten in de maïskolf 'opgesloten' en kunnen zich alleen verspreiden door tussenkomst van de mens (4). Maïskorrels bezitten geen kiemrust waardoor ze snel zullen kiemen. Gekiemde maïskorrels zijn erg gevoelig voor kou (12) en schimmelinfecties. Opslag van maïsplanten wordt in Nederland dan ook zelden tot nooit waargenomen. Maïs is gevoelig voor competitie van onkruiden en voor vorst (12) en overleeft de Nederlandse winter gewoonlijk niet. Maïs heeft zijn vermogen om te verwilderen verloren (4). In Nederland zijn nog nooit verwilderde maïspopulaties aangetroffen.

Het pollen van maïs wordt voornamelijk door de wind verspreid. Insectbestuiving kan plaatsvinden, maar speelt een ondergeschikte rol. De pollenkorrels van maïs zijn relatief groot (90-125 µm) en zwaar (0,25 µg) waardoor de afstand waarover ze verspreid worden gering is (5, 6). Aangetoond is dat 90% van het pollen binnen vijf meter en 98% van het pollen binnen 25 meter neerkomt (7, 8). De windrichting heeft een sterke invloed op het verspreidingspatroon en ook de grootte en vorm van het veld lijken de verspreiding te beïnvloeden. Het hanteren van een isolatieafstand vermindert de mate van uitkruising sterk. Uit experimenten blijkt dat op een afstand van 500 meter zonder buffergewas het uitkruisingspercentage ca. 0,20% bedraagt (9). Daarnaast blijkt dat het uitkruisingspercentage het hoogst is in de eerste rijen van een veld (9, 10). In Nederland is een studie uitgevoerd met een één hectare groot perceel met gg-maïs dat omgeven werd door vier velden van elk één hectare met niet-gg-maïs. Uit de voorlopige resultaten van deze studie blijkt dat het gemiddelde uitkruisingspercentage van een perceel op 25 meter afstand 0,084% was (11). Het uitkruisingspercentage van een perceel op 250 meter afstand bedroeg slechts 0,005% (11). De COGEM heeft eerder geconcludeerd dat voor het verkrijgen van een zo laag mogelijke vermenging op het veld een isolatieafstand van 400 meter noodzakelijk is (10). Daarnaast kan uitkruising worden tegengegaan door de aanwezigheid van een buffergewas van niet-gg-maïs om een proefveld (10). Door de aanwezigheid van een buffergewas wordt een deel van het pollen weggevangen. De COGEM heeft eerder geconcludeerd dat wanneer een buffergewas van niet-gg-maïs

aanwezig is er volstaan kan worden met een isolatieafstand van 125 meter om een zo laag mogelijke vermenging op het veld te verkrijgen (10).

2.2 Eigenschappen van de ingebrachte genen

Maïslijn DP-098140-6 is genetisch gemodificeerd met behulp van *Agrobacterium tumefaciens*, waarbij gebruik is gemaakt van het PHP24279 plasmide. Het T-DNA van dit plasmide bevat twee expressiecassettes met daarop de volgende onderdelen:

- terminator, afkomstig van het proteinase inhibitor II gen van *Solanum tuberosum*
- *zm-hra* gen, afkomstig van maïs en coderend voor een versie van het acetolactaat synthase (ALS) eiwit, dat ongevoelig is voor ALS-remmende herbiciden
- constitutieve promotor, afkomstig van het acetolactaat synthase (*zm-als*) gen van maïs
- drie CaMV35S ENH enhancers, afkomstig van het *Cauliflower mosaic virus*
- constitutieve promotor, afkomstig van het polyubiquitin (*ubi ZM1*) gen van maïs
- 5' untranscribed region en intron, afkomstig van maïs
- *gat4621* gen, een gesynthetiseerde versie van het glyfosaat N-acetyltransferase gen afkomstig van *Bacillus licheniformis*, dat tolerantie veroorzaakt tegen glyfosaat-bevattende herbiciden
- terminator, afkomstig van het proteinase inhibitor II gen van *Solanum tuberosum*

De aanvrager geeft aan dat met behulp van Southern blot analyse is bepaald dat er één intacte kopie van het T-DNA in maïslijn DP-098140-6 aanwezig is. Daarnaast is met behulp van kwantitatieve PCR (RT PCR) bepaald dat de vector backbone niet in maïslijn DP-09140-6 aanwezig is.

Het *zm-hra* gen, dat in maïslijn DP-098140-6 aanwezig is, codeert voor het enzym acetolactaat synthase (ALS). Dit enzym speelt een belangrijke rol bij het produceren van vertakte aminozuren zoals leucine, isoleucine en valine. ALS-remmende herbiciden remmen het ALS enzym waardoor bovenstaande aminozuren niet meer gemaakt kunnen worden. Wanneer deze aminozuren niet meer beschikbaar zijn, sterft de plant. In de genetisch gemodificeerde maïslijn DP-098140-6 codeert het *zm-hra* gen voor een ALS enzym dat niet wordt geremd door ALS-remmende herbiciden. Hierdoor blijft maïslijn DP-098140-6 ook bij het gebruik van ALS-remmende herbiciden leven.

Het in maïslijn DP-098140-6 aanwezige *gat4621* gen codeert voor het enzym glyfosaat N-acetyltransferase dat glyfosaat omzet in N-acetylglyfosaat. Glyfosaat remt de synthese van aromatische aminozuren waardoor de plant sterft, terwijl N-acetylglyfosaat de synthese van deze aminozuren niet remt. Omdat in maïslijn DP-098140-6 glyfosaat

omgezet wordt in N-acetylglyfosaat blijft deze maïslijn ook bij het gebruik van glyfosaat leven.

De ZM-HRA en GAT4621 eiwitten die gecodeerd worden door de ingebrachte genen vertonen geen homologie met allergene of toxische eiwitten. Daarnaast geven resultaten van acute toxiciteitstudies met muizen geen aanleiding om toxiciteit van de ZM-HRA en GAT4621 eiwitten te vermoeden.

3. Overwegingen en advies

Het huidige advies heeft betrekking op een vergunningaanvraag voor een kleinschalige veldproef (categorie 1) met de genetisch gemodificeerde maïslijn DP-098140-6. Bij een categorie 1 veldproef moeten eventuele schadelijke effecten beperkt blijven tot het proefobject. Maïslijn DP-098140-6 is tolerant voor ALS-remmende en glyfosaat-bevattende herbiciden.

Maïs heeft zijn vermogen om te verwilderen verloren en overleeft de Nederlandse winter gewoonlijk niet. In Nederland zijn nog nooit verwilderde maïspopulaties aangetroffen. Er zijn geen redenen om te veronderstellen dat de aanwezigheid van de *zm-hra* en *gat4621* genen in maïslijn DP-098140-6 de kans op verwildering vergroot. Deze maïslijn zal alleen selectief voordeel ondervinden wanneer er met ALS-remmende of glyfosaat-bevattende herbiciden gespoten wordt. Dit zal alleen op de akker gebeuren, wat betekent dat de effecten beperkt zullen blijven tot het proefobject.

Opslag van maïsplanten wordt in Nederland zelden tot nooit waargenomen. Eventuele opslagplanten zullen het jaar volgend op de teelt van DP-098140-6 verwijderd worden. Dit betekent dat na één teeltseizoen de maïsplant, mits niet opnieuw ingezaaid, niet meer in de natuur aanwezig is.

In Europa zijn geen wilde verwanten van maïs aanwezig, waardoor uitkruising met wilde verwanten niet kan optreden. Uitkruising met andere cultuurrassen van maïs kan optreden, maar de eventueel door kruisbestuiving ontstane korrels bezitten geen kiemrust waardoor ze direct zullen kiemen. Gekiemde korrels zijn erg gevoelig voor kou en schimmelinfecties waardoor deze gewoonlijk niet tot zaailingen zullen uitgroeien. Verwilderings van maïs is in Europa nog nooit waargenomen.

Er zijn geen aanwijzingen dat de ingebrachte genen coderen voor humane toxische of allergene eiwitten. Daarnaast heeft de COGEM, op grond van de ingebrachte genen, geen redenen om aan te nemen dat een kleinschalige veldproef met maïslijn DP-098140-6 schadelijke effecten op de bodemmicroflora of op niet-doelwitorganismen zal veroorzaken.

Gezien het bovenstaande is de COGEM van mening dat de kans dat schadelijke effecten optreden verwaarloosbaar klein is. Bovendien zal het proefveld omgeven worden

met vier randrijen niet-gg-maïs en zal er een isolatieafstand van 400 meter worden gehanteerd tussen de gg-maïs en commercieel geteelde maïs. De COGEM heeft eerder geconcludeerd dat voor het verkrijgen van een zo laag mogelijke vermenging op het veld (= overeenkomstig de detectielimiet van ca. 0,1%) een isolatieafstand van 400 meter noodzakelijk is. Door het omgeven van het proefveld met vier randrijen niet-gg-maïs zal het vermengingspercentage verder teruggebracht worden.

De COGEM is van mening dat aan alle voor een categorie 1 veldproef gestelde criteria wordt voldaan. Dit alles overwegende heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht zij de risico's van deze veldproef voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Referenties

1. COGEM (2002). Staande landbouw en klassieke veredeling als referentiekader (CGM/021017-06)
2. COGEM (2007). Benodigde locatie milieurisicobeoordeling (CGM/080122-02)
3. COGEM (2005). Indeling veldwerkzaamheden met genetisch gemodificeerde planten (CGM/050929-03)
4. OECD (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize)
5. Smith EG (1990). Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Blewstone Press, Texas
6. Miller PD (1985). Maize pollen: collection and enzymology, pp 279-282. In: Sheridan WF (ed.). Maize for biological research. A special publication of the plant molecular biology association, USA
7. Eastham K and Sweet J (2002). Genetically modified organisms (GMO's). The significance of gene flow through pollen transfer. European environment agency, Environmental issue report, 28
8. Sears MK and Stanley-Horn D (2000). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations. In: Fairbairn C, Scoles G and McHughen A. (Eds.) Proceedings of the 6th international symposium on the biosafety of genetically modified organisms. University extension Press, Canada
9. Jones MD and Brooks JS (1950). Effectiveness of distance and border rows in preventing outcrossing in corn. Oklahoma Agricultural Experimental Station, Technical Bulletin No T-38
10. COGEM (2004). Co-existentie in de landbouw. Vermenging, uitkruising en isolatieafstanden (CGM/041013-01)
11. Van de Wiel C, Dolstra O, Groeneveld R *et al.* (2006). Toetsing van afspraken over co-existentie van genetisch gemodificeerde (gg) en niet-gg maïsproductie in Nederland. Voorlopige resultaten van uitkruisingsmetingen onder praktijkomstandigheden in 2006

12. Crop Protection Compendium (2004). *Zea mays* (maize). CD-ROM edition, ©Cab International 2004, Nosworthy way, Wallingford, UK