

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

DATUM 10 juli 2008
KENMERK CGM/080710-02
ONDERWERP Advies werkzaamheden met vijf genetisch gemodificeerde kroossoorten

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van de adviesvraag met als titel ‘Componenten en eiwitten geproduceerd door paddenstoelen en planten ter bevordering van de gezondheid van mens en dier’ van Wageningen Universiteit, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met de genetisch gemodificeerde plantensoorten *Lemna gibba*, *L. minor*, *Spirodela polyrhiza*, *S. punctata* en *Wolffia globosa*. De aanvrager is voornemens om werkzaamheden met deze soorten uit te voeren op inperkingsniveau PC-I. De genoemde soorten zijn kroosvegetaties en behoort tot de Aronskelkfamilie.

Kroosvegetaties zijn te vinden in voedselrijke, stilstaande en ondiepe wateren met een bodem die rijk is aan organisch materiaal. Drie van de genoemde kroossoorten behoren tot de Nederlandse flora. Een vierde soort (*S. punctata*) is in 2007 voor het eerst waargenomen in Nederland. Alleen *W. globosa* komt niet in Nederland voor. Kroossoorten kennen voornamelijk vegetatieve voortplanting maar kunnen in principe bloeien. Over de wijze van bestuiving is weinig bekend maar deze kan mogelijk plaatsvinden via wind en water, of via insecten. De COGEM is van mening dat bestuiving via insecten en wind voorkomen dient te worden.

Het kroos wordt gekweekt in kweekbakken. Zaden in het water hiervan zouden zich gemakkelijk kunnen verspreiden indien het water (onbedoeld) via de gootsteen wordt weggespoeld en in oppervlaktewater terecht komt. Dit geldt ook voor het kroos zelf dat zich gemakkelijk en snel vegetatief kan vermeerderen. De COGEM is van mening dat het verspreiden van kroos, pollen, zaden en reproductieve plantendelen voorkomen moet worden. De COGEM benadrukt daarom het belang van inactivatie van biologisch afval dat reproductieve plantendelen bevat conform de werkvoorschriften van het PC-I inperkingsniveau.

Concluderend is de COGEM van mening dat werkzaamheden met deze kroossoorten kunnen plaatsvinden op inperkingsniveau PC-I met als aanvullende maatregel dat bloei in afgesloten bakken dient plaats te vinden. De veiligheid van mens en milieu zal hiermee voldoende gewaarborgd blijven.

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. Drs. H.P. de Wijs
Dr. I. van der Leij

Werkzaamheden met vijf genetisch gemodificeerde kroossoorten

COGEM advies CGM/080710-02

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde plantensoorten *Lemna gibba*, *Lemna minor*, *Spirodela polyrhiza*, *Spirodela punctata* en *Wolffia globosa*. Deze soorten zijn allen kroosvegetaties en onderdeel van de Aronskelkfamilie (*Araceae*).

De aanvrager is voornemens om werkzaamheden met deze plantensoorten uit te voeren in een laboratorium op ML-I en in een kweekcel op PC-I niveau.

Voor inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde planten wordt de “lijst van inhullingsverplichtingen BGGO” gehanteerd. Op deze lijst staan planten waarover de COGEM reeds geadviseerd heeft. De lijst vermeldt een aantal belangrijke kenmerken, zoals de voortplantingswijze, de bestuiving en de aanwezigheid van kruisbare verwanten in de Nederlandse flora. Op basis van deze kenmerken wordt bepaald welke doelvoorschriften, zoals het tegengaan van insectenbestuiving, nodig zijn om tijdens werkzaamheden met de betreffende plantensoort verspreiding van transgenen in het milieu tegen te gaan. Genetisch gemodificeerde *L. gibba*, *L. minor*, *S. polyrhiza*, *S. punctata* en *W. globosa* zijn nog niet eerder voor advies aan de COGEM voorgelegd. Derhalve is de COGEM verzocht te adviseren over inschaling van werkzaamheden met deze soorten.

Kenmerken *Araceae*

De kroossoorten waarmee de aanvrager wil gaan werken behoren tot de *Araceae* of Aronskelkfamilie. De planten bestaan uit een schijf- tot bolvormig, drijvend of vlak onder het wateroppervlak zwevend blad, al dan niet met een of meerdere wortels. In het groeiseizoen heeft een ‘individueel’ schijfje een levensduur van ongeveer een maand. In winterrust is de levensduur langer (1). Kroosvegetaties zijn algemeen kenmerkend voor rustige voedselrijke (voornamelijk fosfaat- en stikstofrijke) stilstaande en ondiepe wateren met een bodem die rijk is aan organisch materiaal. Kroos heeft een hoge voedingswaarde en wordt gegeten door eenden en andere watervogels, karperachtige vissen, diverse kreeftachtigen en waterslakken (2).

Kroossoorten planten zich voornamelijk vegetatief voort en kunnen zich snel vermeerderen. Bloei wordt zelden waargenomen, maar is wel mogelijk. Vruchtzetting is nog zeldzamer. Over de exacte wijze van bestuiving is weinig bekend. Tussen de planten bestaat de mogelijkheid van contactbestuiving (o.a. door waterbeweging), insectenbestuiving en windbestuiving. De aanvrager stelt dat zelfbestuiving voorkomen wordt door een vertraging in het ontvankelijk zijn van de stempel voor pollen maar wel

handmatig te induceren is. De Nederlandse oecologische flora geeft aan dat zelfbestuiving wel voorkomt (2). Rijpe zaden die zich na bestuiving ontwikkelen zinken naar de bodem, waar zij bestand zijn tegen uitdrogen en vorst. Elke vrucht heeft 1-5 elliptisch gevormde zaden die zowel glad als geribd kunnen zijn. De zaden zijn zeer klein, maar wel met het blote oog waarneembaar (~1mm).

Verspreiding van kroos vindt voornamelijk plaats door waterbeweging of via watervogels. In veel mindere mate kan enigszins verdroogd, maar nog wel levenskrachtig kroos door de wind verspreid worden en zich elders vestigen. Aanwezigheid van kroos in de lucht valt op te maken uit vondsten van kroos in hagelstenen en in dakgoten(2).

L. gibba, *L. minor* en *S. polyrhiza* komen in Nederland algemeen voor en zijn respectievelijk bekend onder de namen bultkroos, klein kroos (eendenkroos) en veelwortelig kroos.

Bultkroos (*Lemna gibba*)

L. gibba, ook wel bultkroos genoemd, bestaat uit schijfjes van ongeveer drie tot zes millimeter lang en twee tot vijf millimeter breed. Bultkroos komt voor in gematigde streken en tropische berggebieden. In Europa komt de soort noordwaarts tot het Oostzeegebied en verder in Zuidwest-Azië, Afrika, Noord- en Zuid-Amerika voor. In Japan is de soort ingevoerd. Hoewel bultkroos voorheen voornamelijk in brak water te vinden was, breidt de soort zich steeds meer uit naar zoetwatergebieden. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door watervervuiling. Van de inheemse kroossoorten in Nederland is bultkroos te vinden in de meest voedselrijke, voornamelijk stikstofrijke wateren (2).

Klein kroos (*Lemna minor*)

L. minor bestaat uit bladschijfjes van twee tot vier millimeter lengte en anderhalf tot drie millimeter breedte. Klein kroos is endemisch in Europa, Noordwaarts tot ongeveer de poolcirkel en verder in Zuidwest-Azië, Afrika, Noord-Amerika en op eilanden in de Atlantische Oceaan, In Australië is deze soort ingevoerd. In Nederland behoorde klein kroos tot de meest voorkomende waterplanten maar omdat bultkroos zich steeds verder uitbreid naar zoetwatergebieden wordt klein kroos op veel plaatsen verdrongen. Klein kroos kan echter in een breder spectrum, (voedselarmer en schaduwrijk) aan water groeien dan de overige inheemse kroossoorten (2).

Veelwortelig kroos (*Spirodela polyrhiza*)

Veelwortelig kroos, vormt platte eironde schijven van drie tot tien millimeter lang met aan de onderkant een bundel wortels. Deze kroossoort komt voor in zowel gematigde streken als in de tropen. In Europa bereikt de soort zijn noordgrens in Zuid-Schotland en in Zuid-Scandinavië. Veelwortelig kroos groeit in zoet tot zwak brak water en is zeer vorstgevoelig. De plant overwintert in de vorm van kleine cirkelronde wortelloze

schijfjes die naar de bodem zinken en in de lente (bij een watertemperatuur van ongeveer 15 graden) weer aan de oppervlakte komen. Door de vorstgevoeligheid en de overwinteringswijze kan deze plant zich niet handhaven in ondiep water dat in de winter tot de bodem toe bevroest (2).

Smal kroos (*Spirodela punctata*)

S. punctata, ook wel bekend onder de naam *Landoltia punctata* of smal kroos werd in 2007 voor het eerst in Nederlands buitenwater waargenomen. De soort bestaat uit bladschijfjes van drie tot vijf mm grootte en is endemisch in Australië en Zuid-Azië. Tegenwoordig komt de soort daarnaast voor in het zuiden en oosten van de VS, Centraal en Zuid-Amerika.

Wolffia globosa

W. globosa komt niet in Nederland voor. De enige verwante soort die in de Nederlandse flora voorkomt is *W. arrhiza*, ook wel wortelloos kroos genoemd. De bladschijfjes van *W. globosa* zijn zeer klein, tot ongeveer 1 mm in diameter. *W. globosa* heeft zeer kleine bloemen, maximaal één per plantje en bloeit het hele jaar door. Deze kroossoort komt oorspronkelijk uit Azië, waar zij gebruikt wordt voor menselijke consumptie. Tegenwoordig wordt *W. globosa* over de hele wereld waargenomen in tropische gebieden. De vrucht van *W. globosa* is de kleinste vrucht die op aarde voorkomt: een conische vrucht bevat één conisch zaad ter grootte van een korrel keukenzout (1/3 mm).

Adviesvraag

De aanvrager is voornemens de plantensoorten *L. gibba*, *L. minor*, *S. polyrhiza*, *S. punctata* en *W. globosa* genetisch te modificeren door middel van inoculatie met *Agrobacterium tumefaciens*. Daarbij wil hij de volgende donorsequenties gebruiken: antilichaamgenen (kip), GFP (kwal), KDEL, inteleukines 4, 10, 27 en 35, TGFβ-1, receptoren voor IL-6, 17, 21, 22 en 23, gp130, Toll-like receptoren 2, 4 en 6, dectine 1 en 2, IgG1, IgA1, IgA2, polymere Ig receptor, J-keten, elastine (mens, muis, kip en varken). Daarnaast is de aanvrager voornemens om puntmutaties en deleties aan te brengen en chimereën afgeleid van voorgenoemde genen te maken.

In het inschalingsvoorstel van Bureau GGO is voorgesteld om de inoculatie met genetisch gemodificeerde *A. tumefaciens*, incubatie t.b.v. het *A. tumefaciens* vrij maken van het plantenmateriaal en het in vitro opkweken van niet-bloeiend gg-plantmateriaal in een laboratorium op ML-I niveau uit te voeren. De aanvrager is voornemens de planten die dan ontstaan op te groeien op een vloeibare voedingsoplossing in een kweekcel op PC-I niveau. Daar worden de planten tot bloei gebracht om zaad te verkrijgen zodat de lijn voor de toekomst behouden kan worden.

Overweging en Advies

Tijdens de experimentele handelingen dient verspreiding van transgenen en kruising tussen genetisch gemodificeerde kroossoorten en niet-genetische gemodificeerde (verwante) soorten voorkomen te worden. Dit wordt bereikt door het hanteren van inperkingsmaatregelen tijdens de werkzaamheden. Om een uitspraak te kunnen doen over de te nemen maatregelen wordt hieronder ingegaan op de mogelijke aanwezigheid van andere kroossoorten en/of kruisbare verwante soorten. Daarnaast zijn de bestuivings- en voortplantingswijze van belang om te bepalen welke inperkingsmaatregelen noodzakelijk zijn.

L. gibba, *L. minor* en *S. polyrhiza* komen in Nederland algemeen voor. *S. punctata* komt ook voor in de Nederlandse flora, maar zeldzamer. *W. globosa* komt niet in Nederland voor. Van *S. punctata* en *L. minor* zijn hybriden bekend, deze zijn echter steriel. De hybriden kunnen zich wel vegetatief verspreiden. Bij de COGEM zijn verder geen gegevens bekend over de mogelijkheden van deze soorten om onderling te kruisen. Kroos plant zich voornamelijk vegetatief voort en kan zich gemakkelijk verspreiden via contact, wind en water.

In principe kunnen alle kroossoorten waarmee de aanvrager wil werken bloeien. Over de wijze van bestuiving is weinig bekend, maar er zijn aanwijzingen dat insectenbestuiving, contactbestuiving en windbestuiving plaats kan vinden. Of kroosvegetaties in staat zijn tot zelfbestuiving is niet geheel duidelijk, maar deze mogelijkheid kan niet geheel worden uitgesloten. Zelfbevruchting komt in de natuur niet voor maar is wel handmatig te induceren. De COGEM adviseert tot het nemen van maatregelen om eventuele bestuiving via insecten en wind te voorkomen. De inrichtingsvoorschriften voor een PC-I kweekcel schrijven voor dat deze ruimte is voorzien van insectendicht gaas om insectenbestuiving voorkomen. Daarnaast is de COGEM van mening dat bloei van de kroossoorten dient plaats te vinden in afgesloten bakken om verspreiding van pollen te voorkomen.

De zaden die gevormd worden na bestuiving zijn vrij klein (1/3 mm tot 1 mm) en zinken doorgaans naar de bodem. Zaden in het water van de kweekbakken zouden zich gemakkelijk kunnen verspreiden indien het water (onbedoeld) via de gootsteen wordt weggespoeld en in oppervlaktewater terecht komt. Dit geldt ook voor het kroos zelf dat zich gemakkelijk en snel vegetatief kan vermeerderen. De COGEM is daarom van mening dat het verspreiden van kroos, pollen, zaden en reproductieve plantendelen voorkomen moet worden. Dit betekent onder andere dat morsen van het water in de kweekbakken waar eendenkroos in gekweekt wordt, voorkomen dient te worden evenals het (onbedoeld) afvoeren van kweekwater door de gootsteen. De aanvrager dient al het biologisch afval dat reproductieve plantendelen bevat (waaronder het kweekwater) conform de voorschriften van PC-I te inactiveren / autoclavieren voordat hij zich hiervan ontdoet.

Samenvattend kunnen werkzaamheden met de kroossoorten *L. gibba*, *L. minor*, *S. polyrhiza*, *S. punctata* en *W. globosa* plaatsvinden op inperkingsniveau PC-I met als

aanvullende maatregel dat bloei plaatsvindt in afgesloten bakken. De veiligheid voor mens en milieu zal zo voldoende gewaarborgd blijven.

Referenties

1. Van der Meijden, R. (2005). Heukels' Flora van Nederland. 23^e editie. Wolters-Noordhoff, Groningen
2. Weeda EJ *et al.* (2003). Nederlandse oecologische flora. Wilde planten en hun relaties 4. KNNV Uitgeverij /IVN. ISBN 90-5011-180-7