



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

DATUM 5 december 2008
KENMERK CGM/081205-01
ONDERWERP Advies categorie 1 veldproef met genetisch gemodificeerde populier (IM 08-010)

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de vergunningaanvraag voor een categorie 1 veldproef getiteld 'Veldevaluatie van populieren met een gewijzigde houtsamenstelling voor de productie van bio-ethanol', aangevraagd door het Vlaams Instituut voor Biotechnologie, 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 niet-bloeiende genetisch gemodificeerde (gg-) populieren (grauwe abelen). De populieren hebben een verlaagd ligninegehalte omdat de populieren het enzym cinnamoyl CoA reductase tot expressie brengen. Daarnaast wordt het *hpt* gen tot expressie gebracht waardoor de populieren resistent zijn voor hygromycine.

In Nederland komen enkele soorten populieren voor, waaronder de grauwe abeel. Deze soort is een hybride van de ratelpopulier en de witte abeel, die beiden in Nederland voorkomen. De grauwe abeel kan kruisen met zijn oudersoorten. Verder is de grauwe abeel in staat om zich vegetatief te vermeerderen via wortelstekken. Ook vegetatieve vermeerdering via takken is niet volledig uit te sluiten. Dit alles betekent dat zonder voorzorgsmaatregelen kruisbestuiving en verwildering van de gg-populieren niet uit te sluiten is.

De populieren worden in een korte omloopteelt geteeld. Hierdoor is de kans dat bloei optreedt klein. Om eventueel toch aanwezige bloeiwijzen tijdig te kunnen detecteren en verwijderen (zodat geen zaad of stuifmeel wordt gevormd) adviseert de COGEM om tijdens het bloeiseizoen elke week te controleren op aanwezigheid van bloeiwijzen (en deze te verwijderen). Buiten het bloeiseizoen dient dit elke maand te gebeuren. Verder dient de aanvrager te monitoren op het opkomen van wortelstekken en deze te verwijderen. Hoewel het niet waarschijnlijk is dat de gg-populieren zich verspreiden via het vormen van wortels op afgewaaiden takken valt dit niet volledig uit te sluiten. Daarom adviseert de COGEM om een hek om de veldproef (proefobject en randrijen van niet-gg populieren) te plaatsen zodat verspreiding van takken buiten het proefobject wordt tegengegaan.

Gezien het bovenstaande heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde en aanvullende 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,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a horizontal line extending to the right with a small upward tick at the end.

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

Voorzitter COGEM

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

*Dit advies is tot stand gekomen met de medewerking van Ir. S.M.G. de Vries,
werkzaam bij Alterra, Wageningen.*

Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde populieren met een verminderd ligninegehalte

COGEM advies CGM/081205-01

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een categorie 1 veldproef met genetisch gemodificeerde (gg-) populieren. Deze bomen brengen de cDNA sequentie voor het enzym cinnamoyl CoA reductase tot expressie. Als gevolg hiervan hebben deze gg-populieren een verlaagd ligninegehalte. Daarnaast is het *hpt* gen ingebracht waardoor deze bomen resistent zijn voor hygromycine.

De vergunningaanvrager, het Vlaams Instituut voor Biotechnologie, wil nagaan of het hout van onder praktijkomstandigheden geteelde gg-populieren gemakkelijk in bio-ethanol is om te zetten. Daarnaast wil de vergunningaanvrager gegevens verzamelen over de interactie van de gg-populieren met andere organismen. De aanvrager is voornemens om de werkzaamheden in de gemeente Noord-Beveland uit te voeren.

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 genetisch gemodificeerde populieren met een verminderd ligninegehalte en hygromycine-resistentie. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij is de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van populieren 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.

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.

2.1 Eigenschappen van het gewas

Populieren zijn bomen met een rechte stam, die tot hoog in de boom doorloopt (4). Ze behoren tot de wilgenfamilie (*Salicaceae*) en komen op het hele noordelijk halfrond voor, van de poolstreken tot in subtropische gebieden (4). Populieren groeien het beste wanneer ze voortdurend kunnen beschikken over een vocht- en voedselrijke bodem (5). Van nature komt de populier dan ook voor op lage vochtige gronden, zoals rivieroeveren. Verder hebben populieren veel licht nodig om goed te kunnen groeien (5). Populieren groeien snel en kunnen 40 meter hoog en maximaal 200 jaar oud worden. De door de aanvrager gebruikte grauwe abeel (*Populus x canescens*) kan maximaal 30 meter hoog worden (6).

In Nederland komen twee inheemse populiersoorten voor; dit zijn de zwarte populier (*Populus nigra*) en de ratelpopulier (*Populus tremula*). Deze laatste is ook bekend als de esp (4). Daarnaast zijn vele andere populiersoorten aangeplant. Voorbeelden hiervan zijn de Italiaanse populier (*P. nigra* cv. '*Italica*') en de Canadapopulier (*P. x canadensis*) (4). Ook de witte abeel (*P. alba*) is een populier die in Nederland veel is aangeplant.

Populieren worden onderverdeeld in verschillende groepen (secties). Populieren binnen dezelfde sectie kruisen gemakkelijk met elkaar en vormen dan hybriden. Zo vormt de witte abeel hybriden met verschillende andere populierensoorten van de sectie *Populus* (5,8). De grauwe abeel is een hybride van de witte abeel en de ratelpopulier. De grauwe abeel kan terugkruisen met beide oudersoorten en wordt overal aangetroffen op plekken waar de oudersoorten samen voorkomen, zoals in de binnenduinen (4).

De leeftijd waarop inheemse populieren geslachtsrijp zijn, varieert van vijf tot tien jaar. In sommige natuurlijke populaties bloeien de populieren pas op een leeftijd van vijftien tot twintig jaar (8). De grauwe abeel bloeit pas voor het eerst op een leeftijd van tien tot vijftien jaar (9). Hybride populieren, die aangeplant zijn en goed worden onderhouden zijn gewoonlijk geslachtsrijp bij een leeftijd van vier jaar (8). Volgens de aanvrager is de grauwe abeel op een leeftijd van vijf tot acht jaar geslachtsrijp.

In het voorjaar (half maart tot half mei), voordat de boom in blad staat, treedt bloei (in de vorm van bloemkatten) op (9). Populieren zijn tweehuizig, dit betekent dat mannelijke en vrouwelijke bloemen op verschillende bomen voorkomen. In zeldzame gevallen worden bij vrouwelijke bomen enkele mannelijke of hermafrodiete bloemen gevormd (9).

De katjes van mannelijke bomen bevatten mannelijke bloemen met minstens drie en soms wel dertig meeldraden (4). Vanaf het moment dat een mannelijke kat zijn volle lengte bereikt, kan stuifmeel vrijkomen (9) dat door de wind wordt verspreid (4). De katjes van vrouwelijke bomen bevatten vrouwelijke bloemen, welke tot in mei/juni

blijven hangen. De grauwe abeel heeft mannelijke bloemen van zes tot tien cm lang, terwijl de vrouwelijke bloemen twee tot vier cm lang zijn (6).

Bevruchting vindt plaats wanneer het stuifmeel op de stempel van een vrouwelijke bloem terechtkomt. Het duurt vervolgens ongeveer acht weken totdat kiemkrachtig zaad geproduceerd is (9). Het zaad van de populier bevindt zich in een doosvrucht. Als deze openspringt komen de rijpe zaden vrij. De zaden (bij de grauwe abeel één tot twee mm lang) zijn omgeven door donzig pluus en kan door de wind ver verspreid worden (5,6). Het zaad heeft vochtige omstandigheden nodig om te kunnen ontkiemen en verliest snel (twee tot vier weken) zijn kiemkracht (5).

Populieren hebben een krachtige, oppervlakkige en verspreide wortelgroei (13). Er is een lineair verband tussen de hoogte van de boom en de lengte van zijn horizontale wortels (13). Horizontale wortels worden aangetroffen op een afstand die verschillende malen de hoogte van de boom bedraagt (13). Dit betekent dat het wortelstelsel zich tot tientallen meters van de boom kan uitstrekken (13).

Dankzij uitlopers van de wortels, zogenaamde wortelstekken, kunnen populieren zich sterk vegetatief vermenigvuldigen (4). Verder kunnen populieren vegetatief worden vermeerderd door het stekken van takken (5). Echter, populiersoorten die behoren tot de sectie *Populus* (zoals de grauwe abeel) zijn slecht in staat om wortels te vormen op takken (5). Voor het vermeerderen van deze populieren wordt dan ook vaak gebruik gemaakt van worteluitlopers (5).

Het hout van de populier is erg licht, splintert niet, bevat geen smaak- en kleurstoffen, heeft een lichte kleur en een relatief hoog cellulosegehalte. Hierdoor is het hout goed geschikt voor klompen, lucifers, verpakkingsmiddelen, fineer en papier/karton (7).

2.2 Eigenschappen van de ingebrachte genen

De aanvrager wil een veldproef uitvoeren met grauwe abelen. De genetisch gemodificeerde populieren produceren minder lignine door het inbrengen van het gen coderend voor Cinnamoyl coenzymeA reductase (CCR). De bomen zijn genetisch gemodificeerd met behulp van *Agrobacterium tumefaciens*. Bij de modificatie is gebruik gemaakt van de vector pBIBHygro/S-CCR, welke afgeleid is van pBIN19.

De in deze vector ingebouwde gencassette bestaat uit de volgende genen:

- pA_{NOS}, transcriptie terminator, afkomstig van *A. tumefaciens*
- P70 (= 2 x CaMV 35S), transcriptie promotor, afkomstig uit het *Cauliflower mosaic virus* (CaMV)
- Sense CCR, Cinnamoyl coenzymeA reductase, uit *Populus trichocarpa*
- pA_{35S}, transcriptie terminator, afkomstig van CaMV

- P_{NOS} , transcriptie promotor, uit *A. tumefaciens*
- *HPT*, hygromycine B phosphotransferase, afkomstig van *Escherichia coli*
- $pAg7$, transcriptie terminator, uit *A. tumefaciens*

CCR codeert voor het enzym cinnamoyl CoA reductase. Dit enzym is betrokken bij de biosynthese van lignine (10). Lignine speelt een rol bij de stevigheid van de boom en het transport van water en nutriënten over lange afstanden (10).

Populieren beschikken van nature over een *ccr* gen. Wanneer een dergelijk gen in de sense orientatie wordt ingebouwd, zal dit via het mechanisme van co-suppressie leiden tot een verminderde expressie van CCR. Dit heeft tot gevolg dat de productie van lignine afneemt (10).

Verder bezitten deze genetisch gemodificeerde populieren het antibioticumresistentiegen *hpt* dat codeert voor hygromycine B phosphotransferase. De aanwezigheid van dit gen maakt dat de boom resistent is tegen het antibioticum hygromycine B en vergemakkelijkt daardoor de selectie van gg-populieren tijdens het transformatieproces (11). Het *hpt* gen heeft verder geen functie in de bomen.

In het verleden heeft de COGEM geoordeeld dat de aanwezigheid van het *hpt* gen in planten bij teelt, incidentele consumptie en veevoedertoepassing geen bezwaar vormt voor het milieu (12).

2.3 Proefopzet

De aanvrager is voornemens om een veldproef uit te voeren met niet-bloeiende populieren (deels genetisch gemodificeerd, deels niet genetisch gemodificeerd). Het geheel wordt omgeven door twee rijen van niet transgene populieren (*P. x canescens*) die als bufferzone fungeren om randeffecten te voorkomen.

Gedurende het eerste groeiseizoen wordt onkruid bestreden. Na dit seizoen worden de bomen kort boven de grond afgeknipt. In het tweede groeiseizoen zullen de bomen uitspruiten met verschillende takken. Na het vierde groeiseizoen zullen de takken als de bladeren zijn gevallen handmatig worden geogst en ter plekke verhakseld. Vervolgens wordt het hakselhout in gesloten containers vervoerd naar het laboratorium, waar het in bio-ethanol wordt omgezet.

De takken worden na weer drie seizoenen van groei (in totaal het zevende groeiseizoen) geogst. Ook dit hout wordt vervoerd naar het laboratorium en daar in biobrandstof omgezet. Tenslotte worden de boomresten inclusief wortels geroid, versnipperd en gecomposteerd en/of ten dele ter verbranding afgevoerd als bedrijfsrestafval.

Monitoring

Hoewel verwacht wordt dat de populieren gedurende de proef nog niet vruchtbaar zijn, vindt een visuele controle op bloei plaats. In de reguliere bloeiperiode (maart tot mei) zal deze controle wekelijks plaatsvinden. In de overige maanden wordt elke twee maanden gecontroleerd op bloei. Indien bloemknoppen gevonden worden, worden deze direct verwijderd. Dit gebeurt voordat zaadzetting plaatsvindt. Bovendien wordt de locatie na een storm gecontroleerd op afgewaaide takken. Deze worden verwijderd van het veld om verspreiding te voorkomen.

Na afloop van de proef zal het veld braak liggen. In de twee daaropvolgende jaren wordt in de periode maart tot augustus drie maal gecontroleerd op eventuele uitschieters afkomstig van wortelstekken. Deze worden bestreden met herbiciden. Indien in het tweede jaar nog steeds uitschieters opkomen zal de monitoring verlengd worden totdat een jaar lang geen uitschieters worden aangetroffen.

3. Overwegingen en advies

Het huidige advies heeft betrekking op een vergunningaanvraag voor een kleinschalige veldproef (categorie 1) met genetisch gemodificeerde populieren met een verminderd ligninegehalte en hygromycine resistentie. Bij een categorie 1 veldproef moeten eventuele schadelijke effecten beperkt blijven tot het proefobject.

Moleculaire karakterisering

De COGEM is van mening dat de moleculaire karakterisering voldoet aan de gestelde eisen voor een veldproef van categorie 1. Dit wil zeggen dat de afkorting voor het genetische element, de donor en de verwachte functies van de ingebrachte genen vermeld zijn.

Effecten niet-doelwitorganismen

Bij een categorie 1 veldproef, zoals de onderhavige aanvraag betreft, mogen effecten op het veld optreden. Als negatieve effecten zouden optreden, dan is de invloed op het milieu klein gezien de beperkte omvang van de veldproef.

De aangeleverde gegevens zijn voldoende voor een klasse 1 veldproef. Echter, bij een eventuele latere opschaling (veldproef categorie 2 en 3 en marktaanvragen), zijn meer gegevens nodig. De COGEM raadt de aanvrager daarom aan om in deze veldproef gegevens te verzamelen over eventuele milieueffecten. De aanvrager zou bijvoorbeeld aandacht kunnen besteden aan de samenstelling van de microbiële bodemflora. Eerdere studies leverden namelijk inconsistente resultaten op hierover (14). De COGEM merkt op dat het effect van de gg-populieren op twee soorten lignine-afbrekende schimmels

meegenomen zou kunnen worden.

Monitoringplan

In Nederland komen beide ouderorganismen (de ratelpopulier en de witte abeel) van de grauwe abeel voor. Kruisbestuiving tussen deze soorten is mogelijk. Bovendien zou de grauwe abeel in potentie in Nederland kunnen verwilderen via vegetatieve vermeerdering. Om verwildering van de gg-populieren en kruisbestuiving met wilde verwanten tegen te gaan, acht de COGEM het noodzakelijk om bloei te voorkomen, wortelstekken te bestrijden en verspreiding van takken tegen te gaan.

De proef betreft een zogenaamde korte omloopteelt (groeicyclus van drie jaar) waarbij de takken niet ouder worden dan drie jaar. De COGEM is van mening dat de kans op bloei zeer klein is, omdat bloeiwijzen pas voor het eerst te verwachten zijn op takken van vier of vijf jaar oud. De proef wordt bovendien uitgevoerd met vrouwelijke populieren die vrouwelijke bloemen vormen. Alleen mannelijke katjes vormen stuifmeel dat zich via de wind verspreidt en vrouwelijke bloemen bevrucht. Hoewel vrouwelijke populieren in principe alleen vrouwelijke bloemen vormen die geen stuifmeel verspreiden, valt het niet geheel uit te sluiten dat ook een mannelijke bloem sporadisch voor zou kunnen komen. Het stuifmeel van mannelijke katjes komt overigens pas vrij als de katjes hun volle lengte bereiken.

Omdat de populieren worden geteeld in een korte omloopteelt is de kans dat tijdens de veldproef bloei optreedt erg klein. Daarnaast worden voor deze veldproef vrouwelijke populieren gebruikt waardoor de kans dat stuifmeel wordt verspreid zeer klein is. Uit voorzorg wordt tijdens het bloeiseizoen wekelijks gecontroleerd op aanwezigheid van bloeiwijzen om eventueel ontstane bloeiwijzen te kunnen detecteren en verwijderen. De COGEM acht dit voldoende om eventuele bloeiwijzen tijdig te detecteren en te verwijderen zodat verspreiding van zaad en pollen wordt voorkomen. De aanvrager geeft aan dat hij buiten het bloeiseizoen elke twee maanden controleert op eventuele bloei. De COGEM is van mening dat dit onvoldoende is om eventuele bloeiwijzen tijdig te detecteren, aangezien bloei en zaadvorming vrij snel kunnen optreden. De COGEM adviseert daarom om buiten het bloeiseizoen elke maand te controleren.

Verder is de COGEM van mening dat ook wortelstekken tijdens de proef bestreden moeten worden in verband met mogelijke vegetatieve vermeerdering van de gg-populieren. Zij acht het daarom noodzakelijk om te controleren op wortelstekken en deze te bestrijden bijvoorbeeld door middel van uitsteken. De COGEM adviseert om minimaal één maal per jaar te monitoren omdat wortelopslag na enkele jaren al behoorlijk groot kan zijn en dan lastig te verwijderen is.

Daarnaast adviseert de COGEM om ook rondom de proeflocatie te monitoren op wortelstekken. De wortelstelsels van populieren kunnen namelijk vele meters groot worden.

De grauwe abeel is slecht in staat om zich via takken vegetatief te vermeerderen, dit valt echter niet geheel uit te sluiten. Vanuit het voorzichtigheidsprincipe is de COGEM daarom van mening dat het verspreiden van afgewaaide takken voorkomen moet worden.

De aanvrager controleert alleen (binnen enkele dagen) na een (zware) storm op afgewaaide takken. De COGEM adviseert om een hek te plaatsen rondom de proeflocatie (inclusief de randrijen met wildtype populieren) teneinde eventuele verspreiding van takken tegen te gaan.

Een mogelijke additioneel effect van een lager lignine gehalte zou kunnen zijn dat de bomen aantrekkelijker worden voor vraat. Een bijkomend voordeel van het plaatsen van een hek (maar niet relevant voor de milieurisicoanalyse) is dat het betreden van het terrein door zoogdieren zoals hazen die de proef zouden kunnen vernielen door aan de stammen te knagen, wordt tegengegaan.

Na afloop van de veldproef worden boomresten gerooid en wordt de twee daaropvolgende jaren gecontroleerd op wortelstekken van populieren. Indien aanwezig, worden deze bestreden. De COGEM acht het door de aanvrager voorgestelde monitorplan afdoende om verspreiding van gg-populieren na beëindiging van de proef te voorkomen.

Conclusie

De COGEM is van mening dat aan alle voor een categorie 1 veldproef gestelde criteria voldaan is. Daarom heeft de COGEM geen bezwaar tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden onder de voorgestelde en aanvullende voorwaarden. Zij acht de risico's voor mens en milieu in dit geval verwaarloosbaar klein.

Additionele opmerkingen

Hoewel het hier niet het geval is, merkt de COGEM op dat een veldproef met populieren niet dient plaats te vinden tussen bebossing. Dit bemoeilijkt namelijk de detectie van wortelstekken. De COGEM is van mening dat indien een dergelijke veldproef plaatsvindt in de buurt van bebossing een afstand bewaard moet worden tussen de veldproef en de bebossing die voldoende is om eventuele wortelstekken te kunnen detecteren.

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. Weeda EJ *et al.* (2003). Nederlandse oecologische flora. Wilde planten en hun relaties 1. KNNV Uitgeverij /IVN. ISBN 90-5011-180-7
5. OECD (2001) Consensus document on the biology of *Populus* L. (Poplars)
6. Wageningen University Forest Ecology and Forest Management Group. Tree factsheet *Populus canescens* (x) Sm. <http://webdocs.dow.wur.nl/internet/fem/uk/trees/popcanef.pdf>. Internet 7 november 2008
7. Jansen P (dec 2007). De populier, boom van het volk. Vakblad Natuur Bos Landschap blz. 10-13
8. Van den Broeck A *et al.* (2005) Natural hybridization between cultivated poplars and their wild relatives: evidence and consequences for native poplar populations. *Annals of Forest Science* 62: 601-613
9. Geraadpleegde deskundige: Ir. S.M.G. de Vries, Alterra te Wageningen
10. Leplé JC *et al.* (2007). Downregulation of cinnamoyl-coenzym A reductase in poplar: multiple-level phenotyping reveals effects on cell wall polymer metabolism and structure. *Plant Cell* 19: 3669-3691
11. Blochlinger K en Diggelmann H (1984). Hygromycin B phosphotransferase as a selectable marker for DNA transfer experiments with higher eucaryotic cells. *Molecular and Cellular Biology* 4(12): 2929-2931
12. COGEM (2000). Het gebruik van antibioticumresistentiegenen als markersysteem tijdens de genetische modificatie van planten (CGM/000918-01)
13. Stettler RF *et al.* (1996). *Biology of populus and its implications for management and conservation*. NRC Research Press, National Research Council Canada, Ottawa
14. Bradley KLB *et al.* (2007). Soil microbial community responses to altered lignin biosynthesis in *Populus tremuloides* vary among three distinct soils. *Plant Soil* 294:185-201