

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

DATUM 17 februari 2009  
KENMERK CGM/090217-02  
ONDERWERP Adviserende brief standaardisering van laboratoriumtesten met niet-doelwitorganismen

Geachte mevrouw Cramer,

Hierbij bied ik u het onderzoeksrapport “*Designing experimental protocols to investigate the impact of GM crops on non-target arthropods*” (CGM 2008-01) aan. In dit onderzoeksrapport worden aanbevelingen gedaan om laboratoriumonderzoeken naar eventuele effecten van genetisch gemodificeerde (gg-) gewassen op niet-doelwitorganismen te verbeteren en te standaardiseren. In de onderhavige brief wordt nader ingegaan op deze aanbevelingen.

Bij het aanvragen van een vergunning voor teelt van een gg-gewas moet een aanvrager gegevens verstrekken over eventuele effecten die het gewas kan hebben op zogenaamde ‘niet-doelwitorganismen’. Met niet-doelwitorganismen worden die organismen (onder andere insecten) bedoeld die geen nadelige effecten horen te ondervinden van een gg-gewas. Dit is in tegenstelling tot organismen zoals plaaginsecten, die door sommige gg-gewassen juist bestreden worden. Een gewas wordt alleen toegelaten op de Europese markt wanneer uit de aangeleverde gegevens blijkt dat de risico’s voor niet-doelwitorganismen verwaarloosbaar klein zijn.

De 2912<sup>de</sup> Milieuraad die op 4 december 2008 werd gehouden heeft geconcludeerd dat de richtlijnen voor de beoordeling van eventuele effecten op niet-doelwitorganismen verder moeten worden ontwikkeld en moeten worden aangevuld. De COGEM heeft in het verleden vraagtekens geplaatst bij de kwaliteit en relevantie van de door aanvragers verstrekte wetenschappelijke gegevens ten aanzien van effecten op niet-doelwitorganismen. De COGEM constateerde dat deze problematiek veroorzaakt wordt door het ontbreken van standaardcriteria of richtlijnen voor studies op niet-doelwitorganismen in de Europese vergunningverleningsprocedure.

Het ministerie van VROM heeft de COGEM gevraagd met concrete voorstellen te komen voor het verbeteren van de methodiek die gehanteerd wordt bij het onderzoeken van eventuele effecten van gg-gewassen op niet-doelwitorganismen (031009-MG01). Om tot een onderbouwd voorstel te kunnen komen heeft de COGEM twee onderzoeksprojecten laten uitvoeren. Het eerste onderzoeksproject, dat in 2005 is uitgevoerd, betrof de selectie van niet-doelwitorganismen voor het onderzoeken van eventuele effecten van gg-gewassen. Dit onderzoeksproject is uitgevoerd door dr. E.J. Scholte en prof.

dr. M. Dicke van Wageningen Universiteit en Researchcentrum. De resultaten van het onderzoeksproject zijn beschreven in het onderzoeksrapport '*Effects of insect-resistant transgenic crops on non-target arthropods: first step in premarket risk assessment*' (CGM2005-06). Naar aanleiding van dit rapport heeft de COGEM een advies uitgebracht waarin zij richtlijnen geeft voor het selecteren van niet-doelwitorganismen (CGM/051020-01). Dit rapport en het bijbehorende advies zijn een essentieel begin om te komen tot richtlijnen voor studies naar eventuele effecten van gg-gewassen op niet-doelwitorganismen.

In een vervolg op dit onderzoeksproject heeft de COGEM dr. D. S. Charleston en prof. dr. M. Dicke van Wageningen Universiteit en Researchcentrum laten onderzoeken op welke wijze laboratoriumtesten met niet-doelwitorganismen uitgevoerd moeten worden. De resultaten van dit onderzoeksproject, dat in 2007 en 2008 is uitgevoerd, zijn beschreven in het bijgevoegde onderzoeksrapport.

Het merendeel van het onderzoek naar eventuele effecten van gg-gewassen op niet-doelwitorganismen wordt uitgevoerd met protocollen die gebaseerd zijn op de werking van synthetische pesticiden. Voor het bepalen van de toxiciteit van een synthetisch pesticide wordt bepaald bij welke dosis 50% van de te onderzoeken organismen sterft. Deze zogenaamde LD<sub>50</sub> of LC<sub>50</sub> waarde wordt ook gebruikt als maat voor de toxiciteit van een gg-gewas.

De auteurs stellen dat de blootstelling van niet-doelwitorganismen aan de stoffen die in insectenresistente gg-gewassen aanwezig zijn, verschilt van de blootstelling aan synthetische insecticiden. Hierbij worden de volgende aspecten genoemd:

1. Bij het bespuiten van een plant met een insecticide zal het gewas niet volledig worden bedekt. Hierdoor blijven schuilplaatsen aanwezig waar niet-doelwitorganismen kunnen overleven. De stof die in een gg-plant wordt geproduceerd komt echter overal in de plant voor. Hierdoor is het moeilijker om aan deze stoffen te ontkomen.
2. Nadat een insecticide op het gewas is aangebracht start de afbraak van het insecticide meteen terwijl de stof die in een gg-plant wordt geproduceerd voortdurend aanwezig blijft.
3. Gespoten synthetische insecticiden werken doorgaans meteen na toediening en hebben meteen een effect. De stoffen die in insectenresistente gg-gewassen aanwezig zijn hoeven niet direct te werken, maar kunnen ook na een langere periode tot een effect leiden.

Deze verschillen zorgen ervoor dat niet-doelwitorganismen chronisch worden blootgesteld aan de stoffen die in insectenresistente gg-gewassen aanwezig zijn.

Vanwege deze chronische blootstelling vinden de auteurs dat bij het testen op niet-doelwitorganismen niet alleen gekeken moet worden naar de mortaliteit van de insecten maar ook naar subletale effecten. Onder subletale effecten vallen onder andere veranderingen in de vruchtbaarheid of ontwikkelingsduur van het insect. Wanneer alleen wordt gekeken naar de mortaliteit van de insecten (zoals bij de huidige testen gebeurt) worden subletale effecten, zoals steriliteit, genegeerd terwijl ook zij de populatiegrootte in belangrijke mate kunnen beïnvloeden.

De groeisnelheid van een populatie geeft informatie over overleving, ontwikkeling en voortplanting van een populatie. De auteurs stellen dat het bepalen van de groeisnelheid van een populatie een goede manier is om zowel subletale effecten als mortaliteit mee aan te tonen.

In het rapport staan specifieke protocollen voor laboratoriumtesten weergegeven waarmee voor een bepaald organisme de snelheid van populatiegroei bepaald kan worden. Voor vier groepen van niet-doelwitorganismen (predatoren, parasitoïden, bestuivers en bodemorganismen) zijn specifieke protocollen opgesteld. Er is aangesloten bij de richtlijnen van de 'European Plant Protection Agency' (EPPO) en de US Environmental Protection Agency (EPA) waar dit mogelijk was.

Voordat in een laboratoriumtest kan worden onderzocht of een gg-gewas een effect heeft op een niet-doelwitorganisme dienen eerst twee variabelen te worden vastgesteld. De eerste variabele is de periode die het experiment moet duren. Het experiment moet lang genoeg duren om het tijdstip mee te nemen waarop het organisme de meeste nakomelingen voortbrengt, de zogenaamde 'peak reproduction'. Kort na dit tijdstip kan het experiment worden beëindigd. Informatie over het tijdstip waarop een bepaald organisme de meeste nakomelingen voortbrengt, kan uit de literatuur afkomstig zijn of dient voorafgaand aan de proef bepaald te worden.

De tweede variabele is de testconcentratie van het insecticide. In laboratoriumtesten kan slechts voor een beperkt aantal niet-doelwitorganismen worden onderzocht of er effecten zijn. De gevoeligheid van organismen voor een insecticide zou kunnen variëren. Voor de zekerheid wordt daarom een hogere concentratie gebruikt (tien tot honderd keer hoger) dan de verwachte blootstellingconcentratie in het veld. De auteurs stellen dat bij onderzoek naar subletale effecten een lagere concentratie gebruikt kan worden, bijvoorbeeld een testconcentratie van vijf keer de verwachte blootstellingsconcentratie in het veld.

Verder zijn de auteurs van mening dat alle experimenten aan de volgende voorwaarden moeten voldoen:

- De testorganismen moeten van dezelfde leeftijd zijn en afkomstig zijn van dezelfde geïdentificeerde bron om variatie tussen de testorganismen te voorkomen.
- De geschiedenis van de insectenkweek moet bekend zijn en de insecten moeten beschikbaar zijn voor derden zodat zij indien gewenst de data kunnen controleren met insecten afkomstig van dezelfde bron.
- Experimenten moeten onder gecontroleerde omstandigheden worden uitgevoerd in klimaatkamers waarbij de temperatuur en luchtvochtigheid continu worden gemeten. Wanneer de gg-gewassen waarvan de effecten worden onderzocht geteeld gaan worden in een gematigde klimaatregio moet het licht worden ingesteld op een zogenaamde 16:8 L:D cyclus.
- De planten moeten worden opgegroeid onder gecontroleerde omstandigheden (licht, temperatuur, luchtvochtigheid, voeding en substraat) die zoveel mogelijk overeenkomen met de omstandigheden op het veld.

- De transgene planten die in het experiment gebruikt worden, moeten getest worden om de aanwezigheid van het insecticide te controleren en de concentratie van het insecticide te bepalen.
- Minimaal 40 herhalingen per test zijn noodzakelijk.
- De mortaliteit in de controlegroepen moet lager zijn dan 15%, anders moet het experiment worden herhaald.

#### *Aanbevelingen van de COGEM*

De COGEM onderschrijft het rapport met een enkele kanttekening. De COGEM is van mening dat gegevens over eventuele subletale effecten van gg-gewassen op niet-doelwitorganismen van belang zijn voor de milieurisicobeoordeling omdat ook subletale effecten grote invloed kunnen hebben op de populatiegrootte van niet-doelwitorganismen. De COGEM vindt het bepalen van de groeisnelheid van een populatie de methode van voorkeur bij het onderzoeken van eventuele effecten van gg-gewassen op niet-doelwitorganismen. Wanneer tijdens de laboratoriumtesten een effect wordt opgemerkt zullen veldproeven noodzakelijk zijn om te onderzoeken of deze effecten ook in het veld optreden. Een eventueel opgemerkt effect dient altijd vergeleken te worden met de baseline van de staande landbouwpraktijk. Met staande landbouw wordt bedoeld: opbrengst, fytosanitaire maatregelen, grondbewerking en maatregelen voor en na oogst, zoals die naar de laatste wetenschappelijke inzichten in de landbouw het meest worden toegepast (CGM/021017-06).

Voor het uitvoeren van de voorgestelde protocollen is kennis over het moment van 'peak reproduction' noodzakelijk. De COGEM acht de in het onderzoek voorgestelde protocollen praktisch uitvoerbaar wanneer het moment van 'peak reproduction' bekend is. De COGEM wijst erop dat in veel gevallen aanvullend onderzoek nodig zal zijn om dit moment te bepalen. Het moment van 'peak reproduction' hoeft per testorganisme slechts één keer bepaald te worden.

De COGEM plaatst een kanttekening bij de door de auteurs gestelde voorwaarden. De onderzoekers schrijven dat het belangrijk is om de experimenten met voldoende herhalingen uit te voeren zodat eventueel aanwezige verschillen opgemerkt zullen worden. De onderzoekers gebruiken het aantal van veertig als richtlijn voor het benodigde aantal herhalingen.

De COGEM is evenals de onderzoekers van mening dat het aantal herhalingen hoog genoeg moet zijn om met voldoende zekerheid te kunnen zeggen dat eventueel aanwezige effecten ook daadwerkelijk opgemerkt worden. Een maat hiervoor is het zogenaamde onderscheidend vermogen ('statistical power'). De COGEM is van mening dat de laboratoriumstudies een onderscheidend vermogen dienen te hebben van minstens 0,8. Dit betekent dat in minimaal 80% van de gevallen een eventueel aanwezig effect opgemerkt zal worden. Het aantal herhalingen dat nodig is voor een bepaald onderscheidend vermogen is afhankelijk van de grootte van het effect dat men wil kunnen waarnemen en van de spreiding in de waarnemingen binnen de te vergelijken groepen. Hoewel 40 herhalingen in de praktijk vaak voldoende zullen zijn om een onderscheidend vermogen van 0,8 te verkrijgen wijst de COGEM erop dat een ander aantal herhalingen nodig kan zijn om een voldoende groot onderscheidend vermogen te behalen.

Op dit moment is de EFSA haar richtlijn voor de risicobeoordeling van gg-gewassen aan het herzien. De COGEM is van mening dat de in deze brief genoemde onderzoeksrapporten en de bijhorende COGEM-adviezen een aantal wetenschappelijk onderbouwde aanbevelingen bevatten die voor de herziening van de EFSA richtlijn van groot belang zijn. Daarom zal zij deze stukken ook naar de EFSA en naar andere Europese adviesorganen toesturen. Daarnaast beveel ik u aan om deze rapporten ook bij de EFSA onder de aandacht te brengen.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop followed by a horizontal line that ends in a small hook.

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

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