

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Dhr J.J. Atsma
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

TEL.: 030 274 2777
FAX: 030 274 4476
INFO@COGEM.NET
WWW.COGEM.NET

DATUM 13 december 2011
KENMERK CGM/111213-01
ONDERWERP Advies categorie 1 veldproef met gg-aardappelplanten met verhoogde resistentie tegen
Phytophthora infestans

Geachte heer Atsma,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de ontwerpbeschikking IM 11-005 en de vergunningaanvraag, getiteld 'Application for the release into the environment of potato lines with improved resistance to *Phytophthora infestans* 2012-2018', van BASF Plant Science Company GmbH, deelt de COGEM u het volgende mee.


Samenvatting

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een kleinschalige (categorie 1) veldproef met aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een verhoogde resistentie tegen *Phytophthora infestans* en tolerantie voor imidazolonine bevattende herbiciden.

De COGEM is van mening dat aan de criteria voor een categorie 1 veldproef wordt voldaan. Er zijn geen aanwijzingen dat aardappel in Nederland kan verwilderen. De tolerantie voor imidazolonine bevattende herbiciden zal geen voordeel opleveren omdat zij in Nederland niet toegelaten zijn. Ook een verhoogde resistentie tegen *P. infestans* zal naar verwachting niet tot verwildering leiden.

In Nederland komen geen wilde verwante soorten voor waarmee aardappel kan uitkruisen. Aardappel is hoofdzakelijk een zelfbestuiver, maar kruisbestuiving kan ook plaatsvinden. De gg-aardappel zou hierdoor over korte afstanden met andere cultuurrassen kunnen kruisen. Aardappelzaad is normaal gesproken niet van agronomische betekenis, omdat bij de vermeerdering pootaardappelen worden gebruikt in plaats van zaden. Aardappelknollen zijn vorstgevoelig en zullen de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. In de noodzaak om eventuele aardappelopslag uit zaad of achtergebleven knollen te verwijderen, wordt in het kader van de verplichte bestrijding van *P. infestans* voorzien.

Gezien het bovenstaande is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu van in de aanvraag beschreven werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.



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. Drs. H.P. de Wijs

Dr. I. van der Leij

Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde resistentie tegen *Phytophthora infestans*

COGEM advies CGM/111213-01

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een categorie 1 veldproef met genetisch gemodificeerde (gg-) aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een verhoogde resistentie tegen de pathogene oömyceet *Phytophthora infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte.

De vergunningaanvraag betreft een categorie 1 veldproef met gg-aardappelplanten op één locatie in de gemeente Steenberg. De aardappelplanten zijn genetisch gemodificeerd met de genen *Rpi-blb1* en *Rpi-blb2* die beide afkomstig zijn uit een wilde aardappelsoort (*Solanum bulbocastanum*) en zorgen voor een verhoogde resistentie tegen *P. infestans*. Daarnaast bevatten de gg-aardappelplanten het *ahas* gen met een S653N puntmutatie. Het *ahas* gen is afkomstig is uit zandraket (*Arabidopsis thaliana*). Door de aanwezigheid van de S653N puntmutatie wordt tolerantie voor imidazolinone bevattende herbiciden verkregen. Hierdoor kunnen deze herbiciden gebruikt worden voor de selectie van getransformeerde planten.

Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft in het verleden verschillende keren geadviseerd over kleinschalige veldproeven met aardappelplanten die genetisch gemodificeerd waren met uit wilde aardappelsoorten afkomstige *P. infestans* resistentiegenen.^{1,2,3,4,5}

Twee van deze adviezen betroffen veldproeven, waarbij de aardappelplanten genetisch gemodificeerd waren met dezelfde genen als de gg-aardappelplanten van de huidige veldproefaanvraag.^{1,2}

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 waarvan het ggo is afgeleid, dit is de zogenaamde "baseline". Bij de introductie in het milieu wordt door de COGEM de staande landbouw en de klassieke veredeling als "baseline" voor genetisch gemodificeerde gewassen gebruikt.⁶

De uitgangspunten en de methodiek van de milieurisicobeoordeling zijn 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 eventueel 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 voorliggende aanvraag kijkt de COGEM naar de risico's voor mens en milieu die verbonden zijn aan de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde ziekteresistentie tegen *P. infestans*. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij zijn de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van aardappelplanten 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 daarbij mogelijk optredende toxische of allergene effecten op mens en dier zijn onderwerp van de risicoanalyse. Bovendien worden eventuele effecten op niet-doelwitorganismen meegenomen. 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. 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.⁷ Om mogelijke milieurisico's te voorkomen, worden in deze richtlijnen criteria beschreven voor een categorie-indeling 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 voorliggende 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.

Eigenschappen van het gewas

De aardappelplant (*S. tuberosum*) behoort tot de familie van de *Solanaceae* waartoe ook onder meer tomaat, aubergine, tabak, paprika en Spaanse peper behoren en is oorspronkelijk afkomstig uit Zuid-Amerika.^{8,9} *Solanum tuberosum* is onderverdeeld in twee ondersoorten: *tuberosum* en *andigena*.⁹ De ondersoort *tuberosum* wordt in Europa geteeld.⁹ In Nederland vormt aardappel een belangrijk akkerbouwgewas, waarbij de geteelde variëteiten in consumptie- en zetmeelaardappelen zijn onder te verdelen. Aardappel komt oorspronkelijk niet in Nederland voor.

In Nederland komen wel een aantal aan aardappel verwante wilde soorten voor: zwarte nachtschade, (*Solanum nigrum* subsp. *nigrum*), beklierde nachtschade (*Solanum nigrum* subsp. *schultesii*), bitterzoet (*Solanum dulcamara*), glansbesnachtschade (*Solanum physalifolium*) en driebloemige nachtschade (*Solanum triflorum*).^{8,10} Deze soorten behoren tot een andere subsectie van het geslacht *Solanum* dan *S. tuberosum*.^{11,12} In het geslacht *Solanum* zijn sterke kruisingsbarrières aanwezig, waardoor het niet waarschijnlijk is dat soorten uit verschillende subsecties met elkaar kunnen kruisen.⁹ Onder natuurlijke omstandigheden werden tussen aardappel en *S. nigrum* of *S. dulcamara* geen hybriden aangetroffen.^{13,14} Ook is er gerapporteerd dat *S. triflorum* onder natuurlijke omstandigheden niet met *S. tuberosum* kan hybridiseren.¹⁵ Bij experimentele kruisingen tussen aardappel en verschillende in Nederland voorkomende wilde verwanten (*S. nigrum*, *S. dulcamara* en *S. physalifolium*) werden geen levensvatbare nakomelingen gevonden.^{16,17,18} Op basis van het bovenstaande kan geconcludeerd worden dat de in Nederland voorkomende wilde verwante soorten niet met aardappel kruisbaar zijn.

Aardappel kent de volgende structuren voor verspreiding en overleving: pollen, zaden en knollen. De mate waarin een ras bloeit en/of bessen vormt is rasafhankelijk. Sommige rassen bloeien niet of nauwelijks, terwijl andere rassen overvloedig kunnen bloeien. Ook het aantal bessen varieert afhankelijk van het ras van nul tot meerdere bessen per tros.¹⁹

Aardappel is zelfcompatibel en hoewel hoofdzakelijk zelfbestuiving plaatsvindt, kan kruisbestuiving ook plaatsvinden. In het veld varieert de mate van kruisbestuiving tussen de 0 en 20%.²⁰

Aardappelbloemen scheiden geen nectar af en produceren geen overvloedige hoeveelheden pollen, waardoor ze weinig aantrekkelijk zijn voor insecten¹⁹. Toch zijn insecten hoogstwaarschijnlijk de belangrijkste veroorzakers van kruisbestuiving. Bij experimenten werden namelijk geen aanwijzingen voor windbestuiving gevonden.⁹ Vermoedelijk spelen vooral hommels een rol bij de kruisbestuiving omdat zij, in tegenstelling tot honingbijen, het stuifmeel van aardappelbloemen kunnen lostrillen.¹⁹

Doordat bij aardappel kruisbestuiving kan plaatsvinden is uitkruising met gecultiveerde aardappelrassen in beperkte mate mogelijk. Uitkruising blijkt na een afstand van tien meter niet tot nauwelijks op te treden.^{13,21,22,23,24} Eén publicatie, waarbij een ‘worst-case scenario’ met zeer fertiele pollendonoren en mannelijk steriele ontvangers werd onderzocht, maakt melding van uitkruising op 21 meter.²⁵

Wanneer zaden worden gevormd, zijn deze normaal gesproken niet van agronomische betekenis, omdat bij de vermeerdering pootaardappelen worden gebruikt in plaats van zaden. Aardappelzaad speelt alleen een rol bij het veredelingsproces.

Het loof van aardappel, inclusief de bloeiwijzen met eventuele zaden, wordt gewoonlijk voor de oogst afgedood en niet verder benut. Zaden die op de akker achterblijven, kunnen nog tien jaar levensvatbaar zijn.^{26,27} Het grootste deel van dit zaad zal echter eerder ontkiemen doordat de grond wordt bewerkt.²⁷ Opslagplanten uit zaad zijn kwetsbaar en kunnen in het algemeen goed met herbiciden worden bestreden.²⁸ Aardappelopslagplanten moeten in het kader van de bestrijding van *P. infestans* verplicht worden verwijderd.²⁹

In Nederland wordt aardappel vegetatief vermeerderd. Aardappelknollen overleven slecht in koude vochtige bodems³⁰ en zijn vorstgevoelig, hoewel ze enkele dagen met lage

bodemtemperaturen (-1°C tot -3°C) kunnen overleven.³¹ De kans op bevriezing van de aardappel knollen is het grootst wanneer de knollen zich aan het oppervlak bevinden.³² Uit de praktijk blijkt dat in het veld achtergebleven aardappelknollen milde winters en winters waarbij gedurende langere periode een isolerend sneeuwdek aanwezig is kunnen overleven en opslagplanten kunnen vormen. Aardappelopslagplanten moeten in het kader van de bestrijding van *P. infestans* verplicht worden verwijderd.²⁹ In de praktijk blijkt aardappelopslag effectief te worden bestreden, ook omdat daarmee grote agronomische belangen zijn gemoeid.

Aardappel is niet bekend als een plant die natuurlijke ecosystemen koloniseert en is niet in staat om te concurreren met grassen, bomen en heesters.²⁷ Er zijn geen aanwijzingen dat aardappel in Nederland kan verwilderen. Aardappel komt niet voor op de Standaardlijst van de Nederlandse Flora.³³

Beschrijving van de genetische modificatie

De gg-aardappelplanten zijn geproduceerd door planten van de aardappelcultivar P880 genetisch te modificeren met behulp van de *Agrobacterium tumefaciens* stammen AGL0, AGL1 of LBA4404. Hierbij is gebruik gemaakt van de vector VCPMA16. Deze vector is afgeleid van het pSUN plasmide, die weer op het pPZP200 plasmide gebaseerd is.

Het T-DNA gedeelte van de vector bevat:

- het *Rpi-blb2* gen met zijn eigen promotor- en terminator sequenties, dat afkomstig is van *S. bulbocastanum* en codeert voor resistentie tegen *P. infestans*.
- het *Rpi-blb1* gen met zijn eigen promotor- en terminator sequenties, dat afkomstig is van *S. bulbocastanum* en codeert voor resistentie tegen *P. infestans*.
- het *Ahas* gen, dat afkomstig is van *A. thaliana* en codeert voor acetohydroxyzuur synthase (AHAS). Dit enzym is ook bekend onder de naam acetolactaat synthase (ALS). Het AHAS eiwit dat door het op het T-DNA gelegen *ahas* gen wordt gecodeerd, bevat een S653N puntmutatie. De promotor en terminator van dit gen zijn afkomstig van het nopaline synthase gen van *A. tumefaciens*.

De aanvrager heeft onderzocht hoeveel kopieën van het *ahas* gen in de gg-aardappelplanten aanwezig waren. Op grond van deze analyse concludeert de aanvrager dat de gg-aardappelplanten één of twee kopieën van het T-DNA bevatten.

De aanvrager heeft met behulp van real-time PCR aangetoond dat de gg-aardappelplanten geen ‘backbone sequenties’ bevatten van de VCPMA16 vector die is gebruikt om de aardappelplanten te transformeren. De ‘backbone’ van deze vector bevat het *aad* gen dat ervoor zorgt dat de *A. tumefaciens* bacteriën die voor de transformatie worden gebruikt resistent zijn voor spectinomycine.

De real-time PCR is uitgevoerd met twee verschillende primer-probe sets waarvan de éne set sequenties dichtbij de linker border detecteert en de andere set sequenties detecteert van het *aadA* gen dat dichtbij de rechterborder is gelegen. Hierbij werd geen positief resultaat verkregen, waaruit geconcludeerd kan worden dat de gg-aardappelplanten de ‘backbone sequenties’ van de VCPMA16 vector niet bevatten.

Eigenschappen van de ingebrachte genen

De *Rpi-blb1* en *Rpi-blb2* genen zijn resistentiegenen die behoren tot de ‘coiled coil (CC) - nucleotide binding site (NBS)- leucine rich repeat (LRR)’ klasse van resistentiegenen.³⁴ Dit zijn receptoreiwitten, die zich in het cytoplasma van de cel bevinden en specifieke elicitor eiwitten van *P. infestans* herkennen.³⁴ Wanneer een receptor een elicitor herkent, wordt een verdedigingsreactie geïnduceerd.³⁴ Deze verdedigingsreactie bestaat uit een lokale respons die leidt tot plaatselijke celdood waardoor de ontwikkeling van het pathogeen geblokkeerd wordt.

Het *ahas* gen codeert voor een acetoxyzuur synthase (AHAS) enzym met een S653N puntmutatie waardoor in het AHAS enzym het aminozuur serine op residu 653 door asparagine is vervangen.

Acetoxyzuur synthase (AHAS) is ook bekend onder de naam acetolactaat synthase (ALS). Dit enzym katalyseert de eerste synthesestap van de aminozuren valine, leucine en isoleucine.³⁵ De werking van een aantal herbiciden is gebaseerd op verstoring van dit enzym waardoor de vorming van de bovengenoemde aminozuren verhinderd wordt en de plant zal afsterven. Door de S653 puntmutatie in het AHAS enzym wordt tolerantie voor imidazolinone bevattende herbiciden (zoals Imazamox) verkregen.³⁵ Hierdoor kunnen deze herbiciden gebruikt worden voor de selectie van getransformeerde planten.

Overweging en advies

Dit advies betreft een vergunningaanvraag voor een categorie 1 veldproef met gg-aardappelen met een verhoogde ziekteresistentie tegen *P. infestans*. De voorgenomen werkzaamheden voldoen aan de criteria voor een categorie 1 veldproef. De werkzaamheden worden op één locatie met een maximale grootte van 1 hectare uitgevoerd. Daarnaast zijn de afkorting, de herkomst en verwachte functie van de in te brengen genen bekend.

Bij een categorie 1 veldproef moeten eventuele schadelijke effecten tot het proefobject worden beperkt. De *Rpi-blb1* en *Rpi-blb2* genen waarmee de aardappelplanten zijn gemodificeerd, coderen voor receptoreiwitten die zich in het cytoplasma van de cel bevinden en specifiek elicitoreiwitten van *P. infestans* herkennen.³⁴ Daarom verwacht de COGEM geen effecten op niet-doelwitorganismen.

Aardappelzaad en/of aardappelknollen van de gg-aardappelplanten zouden mogelijk door kleine zoogdieren buiten het veld verspreid kunnen worden.^{36,37} Aardappel is niet bekend als een plant die natuurlijke ecosystemen koloniseert en is niet in staat om te concurreren met grassen, bomen en heesters.²⁷ Er zijn geen aanwijzingen dat aardappel in Nederland kan verwilderen. Aardappel komt niet voor op de Standaardlijst van de Nederlandse Flora.³⁸ Het is niet te verwachten dat een verhoogde resistentie tegen *P. infestans* tot verwildering zal leiden omdat *P. infestans* slechts één van de ziekteverwekkers van aardappel is. De tolerantie voor imidazolonine bevattende herbiciden zal geen voordeel opleveren omdat zij in Nederland niet toegelaten zijn.

Na afloop van de veldproef worden achtergebleven knollen verzameld en gedood. Eventuele toch nog achtergebleven aardappelknollen overleven slecht in koude vochtige bodems³⁰ en zijn gevoelig voor vorst.³¹ Na milde winters of winters met veel sneeuw kunnen aardappelknollen opslagplanten vormen. De bovengrondse delen van de gg-aardappelplanten

worden voor de oogst afgedood en blijven op het veld achter. Wanneer hier aardappelzaad in aanwezig is, zou dit nog tien jaar kiemkrachtig kunnen blijven en opslagplanten vormen.^{26,27} Het grootste deel van dit zaad zal echter eerder ontkiemen doordat de grond wordt bewerkt.²⁷

Het jaar na de veldproef zal er op het proefobject geen aardappelteelt plaatsvinden en zullen opslagplanten voor de bloei verwijderd worden. Er zal op het voorkomen van opslagplanten worden gecontroleerd tot het jaar na het laatste jaar dat opslag is waargenomen.

In Nederland komen geen wilde verwante soorten voor waarmee aardappel kan kruisen. De gg-aardappel zou wel over korte afstanden naar andere cultuurrassen kunnen uitkruisen. Aardappelzaad is normaal gesproken niet van agronomische betekenis omdat bij de vermeerdering pootaardappelen worden gebruikt in plaats van zaden. Eventuele opslagplanten die uit zaad ontstaan, worden routinematig verwijderd in het kader van de verplichte bestrijding van *P. infestans*.²⁹

Aardappelzaad speelt alleen bij het veredelen van aardappelen een rol. Dit gebeurt vrijwel altijd in kassen of tunnelkassen. Uit onderzoek blijkt dat er slechts een zeer klein aantal 'kleine kwekers' is dat buiten op het veld kruisingen maakt.¹⁹ Uitkruising blijkt na een afstand van tien meter niet tot nauwelijks meer op te treden.^{13,21,22,23,24} De aanvrager houdt een afstand van tien meter tot andere commercieel geteelde aardappelrassen, waardoor de kans op uitkruising geminimaliseerd wordt. Overigens heeft de COGEM eerder geconcludeerd dat het vanuit het oogpunt van mogelijke milieurisico's niet nodig is om een isolatieafstand te hanteren om uitkruising van een veldproef met gg-aardappelen naar het veredelingsproces te voorkomen.³⁹

Alles overwegende acht de COGEM de risico's voor mens en milieu van deze veldproef verwaarloosbaar klein.

Referenties

1. COGEM (2005). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde ziekteresistentie tegen de ziekteverwekker *Phytophthora infestans*. Advies CGM051206-01
2. COGEM (2007). Advies herindiening veldproef aardappel met verhoogde *Phytophthora* resistentie. Advies CGM/071101-04
3. COGEM (2007). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde *Phytophthora* resistentie. Advies CGM/071115-01
4. COGEM (2010). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten die verminderd vatbaar zijn voor *Phytophthora infestans*. Advies CGM/100126-02
5. COGEM (2011). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten die verminderd vatbaar zijn voor *Phytophthora infestans*. Advies CGM/110202-01
6. COGEM (2002). Staande landbouw en klassieke veredeling als referentiekader. Advies CGM/021017-06
7. COGEM (2008). Aanpassing van advies over de indeling van veldwerkzaamheden met genetisch gemodificeerde planten. Advies CGM/081125-02
8. Van der Meijden, R (2005). Heukels' flora van Nederland, 23e druk, Wolters-Noordhoff, Groningen
9. OECD. (1997). Consensus Document on the Biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (Potato) No. 8

10. Weeda EJ, Westra R *et al.* (2003). Nederlandse oecologische flora. Wilde planten en hun relaties 3. KNNV Uitgeverij /IVN. ISBN 90-5011-180-7
11. Poczai P, Teller J & Szabó I (2008). Analysis of phylogenetic relationships in the genus *Solanum* (Solanaceae) as revealed by RAPD markers. *Plant Syst Evol.* 275: 59-67
12. Weese TL & Bohs L (2007). A three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). *Syst Bot.* 32(2): 445-463
13. McPartlan H & Dale P (1994). An assessment of gene transfer by pollen from field-grown transgenic potatoes to non-transgenic potatoes and related species. *Transgenic Res.* 3: 216-225
14. Raybould AF & Gray AJ (1993). Genetically modified crops and hybridization with wild relatives: a UK perspective. *J Appl Ecol.* 30: 199-219
15. Love SL (1994). Ecological risk of growing transgenic potatoes in the United States and Canada. *News & Reviews.* 71:647-658
16. De Vries FT, van der Meijden R & Brandenbrug WA (1992) *Gorteria*, Botanical Files. A study of the real chances for spontaneous gene flow from cultivated plants to the wild flora of the Netherlands. Supplement 1
17. Conner AJ (2006). Biosafety evaluation of transgenic potatoes: gene flow from transgenic potatoes. International symposium: 'Ecological and environmental biosafety of transgenic plants' 127-140.
18. Eijlander R & Stiekema WJ (1994). Biological containment of potato (*Solanum tuberosum*): outcrossing to the related wild species black nightshade (*Solanum nigrum*) and bittersweet (*Solanum dulcamara*). *Sex Plant Reprod.* 7: 29-40
19. Lammerts van Bueren E & Van Loon J (2011). De praktijk van kleine kwekers in de aardappelveredeling in Nederland. COGEM onderzoeksrapport CGM 2011-05
20. Plaisted RL (1980). Potato. In: Fehr WR & Hadley HH (Eds). *Hybridization of crop plants*. Am Soc Agr Wisconsin. USA
21. Tynan JL, Williams MK & Conner AJ (1990). Low frequency of pollen dispersal from a field trial of transgenic potatoes. *J Genet Breed.* 44: 303-305
22. Conner AJ & Dale PJ. (1996). Reconsideration of pollen dispersal data from field trials of transgenic potatoes. *Theor Appl Genet.* 92: 505-508
23. *Uitkruising beperkt* (2004). AVEBE GGO monitor
24. Van de Wiel C & Lotz B (2004). Inventarisatie van de wetenschappelijke kennis over uitkruising in maïs, koolzaad, aardappel en suikerbiet voor het coëxistentieoverleg 2004. *Plant Research International Nota 322*. Wageningen
25. Petti C, Meade C *et al.* (2007). Facilitating co-existence by tracking gene dispersal in conventional potato systems with microsatellite markers. *Environ Biosafety Res.* 6: 223-235
26. Lawson HM (1983). True potato seeds as arable weeds. *Potato Research* 26: 237-246
27. Hin CJA (2001). Landbouwkundige risico's van uitkruising van ggo-gewassen. Centrum voor Landbouw en Milieu CLM 511-2001
28. Van den Brink L, Bus CB *et al.* (2008). Gewas- en teeltbeschrijving van suikerbiet, maïs en aardappel in relatie tot verspreiding van genetisch materiaal. *Praktijkonderzoek Plant & Omgeving PPO nr. 3250099300*
29. Productschap Akkerbouw (2008). Verordening PA Bestrijding *Phytophthora infestans* bij aardappelen 2008
30. Eastham K & Sweet J (2002). Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer. Environmental issue report No. 28. European Environment Agency. ISBN: 92-9167-411-7

31. Van de Wiel CCM, Van den Brink L *et al.* (2011). Crop volunteers and climate change. COGEM onderzoeksrapport COGEM 2011-11
32. Veerman A (2003). Teelt van consumptieaardappelen. Praktijkonderzoek Plant & Omgeving
33. Tamis WLM, Van der Meijden R *et al.* (2003). Standaardlijst Nederlandse Flora. Gorteria jrg. 30 (4/5): 101-195
34. Vleeshouwers VGAA, Raffaele S, *et al.* (2011). Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annu Rev Phytopathol.* 49: 25.1-25.25
35. Andersson M, Trifonova A *et al.* (2003). A novel selection system for potato transformation using a mutated AHAS gene. *Plant Cell Rep.* 22: 261-267
36. Hawkes JG (1988). The evolution of cultivated potatoes and their tuber-bearing wild relatives. *Kulturpflanze* 36: 189-208
37. Goeser H and Büntig S (2006). Verbreitung transgener Kartoffeln durch Vögel. *Wissenschaftliche Dienste des Deutschen Bundestages. Sachstand* WD5-161/06
38. Tamis WLM, Van der Meijden R *et al.* (2003). Standaardlijst Nederlandse Flora. Gorteria jrg. 30 (4/5): 101-195
39. COGEM (2011). Advies herziening isolatieafstand ten opzichte van kleine kwekers bij veldproeven met gg-aardappelen. Advies CGM/110706-02