

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw W.J. Mansveld
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 17 april 2014
KENMERK CGM/140417-01
ONDERWERP Advies inperking werkzaamheden met genetisch gemodificeerde rucola, druif en (sub)tropische komkommerachtigen

Geachte mevrouw Mansveld,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende werkzaamheden onder ingeperkt gebruik met genetisch gemodificeerde *Diplotaxis tenuifolia*, *Vitis vinifera*, *Momordica balsemina*, *M. charantia* en *M. cochinchinensis* deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van werkzaamheden in kassen en kweekcellen met genetisch gemodificeerde (gg-) planten van de soorten *Diplotaxis tenuifolia* (rucola of zandkool), *Vitis vinifera* (druif), *Momordica balsemina*, *M. charantia* en *M. cochinchinensis*.

D. tenuifolia komt van nature in Nederland voor en kan kruisen met in Nederland voorkomende verwanten. Bestuiving vindt hoofdzakelijk plaats via insecten, maar windbestuiving komt ook voor. De zaden van *D. tenuifolia* zijn klein en licht en worden gemakkelijk verspreid. Gezien het bovenstaande adviseert de COGEM om werkzaamheden met gg- *D. tenuifolia* uit te voeren in een PK-II (PKb-I) kas (of PC-I kweekcel) met als aanvullende maatregel inhulling van de bloeiwijzen om windbestuiving tegen te gaan, en aanvullende maatregelen om zaadverspreiding tegen te gaan.

V. vinifera komt van oorsprong niet in Nederland voor, maar is wel in staat onder de Nederlandse klimatologische omstandigheden te groeien. *V. vinifera* wordt in Nederland zowel in commerciële wijngaarden als in tuinen gekweekt. Deze cultuurvariëteiten zijn voornamelijk zelfbestuivers. Wilde kruisbare verwanten worden sporadisch in Nederland waargenomen. Kruisbestuiving vindt plaats door insecten, maar windbestuiving is niet uit te sluiten. *V. vinifera* kan zich via wortelstokken vegetatief vermeerderen. De COGEM adviseert om werkzaamheden met gg-*V. vinifera* uit te voeren in een pK-II (PKb-I) kas (of PC-I kweekcel) met als aanvullend voorschrift de inhulling (of verwijdering) van bloeiwijzen om windbestuiving te voorkomen.

M. balsemina, *M. charantia* en *M. cochinchinensis* zijn afkomstig uit (sub)tropische gebieden en kunnen niet overwinteren onder Noordwest Europese omstandigheden. In Nederland zijn geen kruisbare verwanten aangetroffen. De COGEM adviseert om werkzaamheden in kassen op het laagste inperkingsniveau PK-I (PKa-I) in te schalen.

Inperking van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde rucola, druif en tropische komkommerachtigen

COGEM advies CGM/140417-01

Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met de plantensoorten *Diplotaxis tenuifolia*, *Vitis vinifera*, *Momordica balsamina*, *M. cochinchinensis* en *M. charantia*.

Voor inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg) planten onder 'Ingeperkt Gebruik', wordt de lijst 'Inperkingsmaatregelen bij activiteiten met gg-planten' (voormalige Appendix C) gehanteerd.¹ Op deze lijst staan plantensoorten waarover de COGEM geadviseerd heeft. De lijst vermeldt een aantal belangrijke kenmerken van deze plantensoorten zoals voortplantingswijze, zaadeigenschappen en de aanwezigheid van kruisbare verwanten in de Nederlandse flora. Op basis van deze kenmerken wordt bepaald welke maatregelen nodig zijn om tijdens werkzaamheden met een bepaalde gg-plantensoort de verspreiding in het milieu tegen te gaan.

D. tenuifolia, *V. vinifera*, *M. balsamina*, *M. cochinchinensis* en *M. charantia* zijn niet eerder voor advies aan de COGEM voorgelegd en daarom nog niet opgenomen op bovengenoemde lijst.

Kenmerken van *D. tenuifolia*

D. tenuifolia (gewone of grote zandkool) behoort tot de familie van de kruisbloemigen (*Brassicaceae*) en wordt, evenals de soort *Eruca sativa* (ook een kruisbloemige), onder de naam rucola commercieel verbouwd.^{2,3} De planten worden als sla en rauwkost toegepast.

D. tenuifolia is een in Nederland algemeen van nature voorkomende plantensoort, en groeit op open, droge, matig voedselrijke, omgewerkte grond bijvoorbeeld langs wegen, spoorwegen, bouwterreinen en in de duinen.^{2,3} Onder natuurlijke omstandigheden vormt de plant een penwortel die langer dan 50 cm kan worden. De soort wordt maximaal 80 cm hoog en heeft onkruidachtige eigenschappen. *D. tenuifolia* is meerjarig.^{3,4,5}

De soort bloeit met felgeel gekleurde bloemen gedurende de zomer en het begin van de herfst. Bestuiving vindt overwegend door insecten plaats (bepaalde vliegen-, kever-, bijen- en hommelse soorten), maar ook windbestuiving is mogelijk.^{6,7} Stuifmeel van *D. tenuifolia* wordt in de lucht aangetroffen.⁸ De vruchtjes (hauwtjes) van *D. tenuifolia* zijn 1,5 tot 6 cm lang en bevatten meerdere, kleine, lichte zaadjes van 1 bij 1,5 mm grootte die ongeveer 200 tot 300 µg wegen.^{2,4,9,10}

D. tenuifolia kan kruisen met in Nederland voorkomende wilde verwanten onder meer *D. muralis* (kleine zandkool of muurzandkool).⁴ De hybriden zijn in het wild waargenomen.¹¹

Kenmerken van *V. vinifera*

V. vinifera (wijnstok) behoort tot de wijnstokfamilie (*Vitaceae*).^{2,3} De plant is meerjarig en wordt vanwege zijn vruchten (druiven) in cultuur gehouden. *V. vinifera* komt van oorsprong uit de landen rondom de Zwarte Zee maar wordt tegenwoordig ook in Nederland geteeld.^{12,13} Daarnaast wordt *V. vinifera* veelvuldig in de particuliere sector (tuinen) en door hobbyisten gekweekt. De plant gedijt het

best in een gematigd klimaat, kan in Nederland overwinteren, en wordt incidenteel in verwilderde vorm aangetroffen (Friesland, Noord-Holland, Gelderland, Utrecht, Noord-Brabant, Limburg).^{2,3,14,15,16}

V. vinifera is een klimplant die 1 tot 9 m hoog kan worden.¹² Oudere planten vormen een uitgebreid wortelstelsel waaruit wortelstokken kunnen ontstaan die lateraal uitbreiden en een diepte van meer dan 50 cm kunnen bereiken.^{16,17,18} De wortelstokken worden toegepast voor commercieel gebruik om andere *V. vinifera* variëteiten of *Vitis* soorten op te enten. Opslagplanten van *V. vinifera* ten gevolge van vegetatieve vermeerdering via wortelstokken wordt in toenemende mate buiten de gecultiveerde omgeving waargenomen. Dergelijke opslagplanten kunnen kruisen met wilde varianten.¹⁶

V. vinifera bloeit met kleine geel-groene bloemen in pluimen die een aangename geur afscheiden.^{12,14} Wanneer de soort in cultuur is gebracht (wijngaarden), komt er weinig insectenbezoek voor.¹⁹ Deze cultuurvariëteiten zijn voornamelijk zelfbestuivers. Van nature is *V. vinifera* echter tweehuizig en vindt bevruchting door middel van kruisbestuiving plaats. Daarbij neemt insectenbestuiving de belangrijkste plaats in (bepaalde vliegen-, kever- en bijensoorten) maar ook windbestuiving kan niet worden uitgesloten.^{17,19} De pollenkorrels zijn plakkerig en ongeveer 25 - 30 µm bij 12 - 15 µm groot.¹⁷

De zaden van *V. vinifera* (pitten) bevinden zich in de druiven en hebben een grootte van ongeveer 3 bij 6 mm.⁹ De druiven zijn vlezige vruchten met een grootte van ongeveer 2 bij 2 - 3 cm en worden door dieren gegeten waarbij de pitten via de ontlasting in het milieu verspreid worden en tot nieuwe druivenplanten kunnen uitgroeien.

Binnen de soort *V. vinifera* worden verschillende variëteiten onderscheiden waarbij er een onderscheid wordt gemaakt tussen de gecultiveerde druif (*V. vinifera* spp *sativa*) en de wilde druif (*V. vinifera* spp *silvestris*).¹⁵ In Europa wordt wilde druif sporadisch aangetroffen onder meer langs de Zuid-Atlantische kust.^{15,16} Populaties zijn klein en komen op grote afstand van elkaar voor.¹⁶ *V. vinifera* subsp. *sativa* kan kruisen met *V. vinifera* subsp. *silvestris*.^{16,20} Daar waar beide ondersoorten samen voorkomen, zijn hybriden veelvuldig aangetroffen. Nakomelingen van de eerste generatie zijn vruchtbaar en zijn in staat zich in een niet-gecultiveerde omgeving te vestigen.²⁰

Kenmerken van *M. balsamina*, *M. charantia* en *M. cochinchinensis*

M. balsamina, *M. charantia* en *M. cochinchinensis* behoren tot de komkommerfamilie (*Cucurbitaceae*).²¹ De plantensoorten worden geteeld voor hun vruchten en blad, die als groente worden toegepast en daarnaast een medicinale werking worden toegeschreven.^{21,22} In tegenstelling tot de onrijpe vruchten veroorzaken de rijpe vruchten van *M. balsamina* vergiftigingsverschijnselen (diarree, misselijkheid) bij mensen en dieren (hond, varken).²²

M. balsamina, *M. charantia* en *M. cochinchinensis* komen oorspronkelijk uit de tropische en subtropische gebieden van Azië, Afrika en Australië en groeien alleen onder deze klimatologische omstandigheden.²¹ De drie soorten komen in Nederland niet in de natuur voor, wel vindt teelt in kassen plaats.^{2,3} Het zijn kruidachtige klimplanten waarbij *M. balsamina* en *M. charantia* eenjarig zijn terwijl *M. cochinchinensis* een meerjarige plant is.²² De planten bloeien met nectar producerende bloemen, zijn insectenbestuivers (onder meer door bijen) en vormen vlezige vruchten die onderling sterk van kleur en grootte verschillen.^{21,22} De vruchten bevatten zaden van 5 tot 12 mm grootte.²²

Momordica soorten kunnen onderling kruisen, maar niet met de in Nederland voorkomende fylogenetisch minder verwante komkommerachtigen als komkommer, augurk en meloen (*Cucumis* subsp.), kalebassen zoals courgette en pompoen (*Cucurbita* subsp.), of heggenrank (*Bryonia dioica*).^{22,23}

Aard van de voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager is van plan om *D. tenuifolia*, *V. vinifera*, *M. balsamina*, *M. cochinchinensis* en *M. charantia* door middel van *Rhizobium radiobacter* (voorheen *Agrobacterium tumefaciens*²⁴) gemedieerde transformatie (co-cultivatie of dip-inoculatie) te modificeren. Daarbij zal gebruik gemaakt worden van niet-gekaracteriseerde donorsequenties die afkomstig zijn van diverse plantensoorten of die bepaalde merkgenen betreffen. Voor zover bekend coderen de sequenties niet voor toxines, (gedeelten) van transposons, of andere schadelijke genproducten, en worden deze ingebracht met behulp van reeds vergunde plasmide-vectoren.

Overwegingen en advies

Bij werkzaamheden met gg-planten is het van belang dat de verspreiding van transgenen in het milieu wordt tegengegaan. Het gemak waarmee deze verspreiding kan plaatsvinden, bepaalt het inperkingsniveau van de werkzaamheden. Eventueel dienen daarbij aanvullende voorschriften in acht te worden genomen. Aspecten die daarbij van belang zijn, betreffen specifieke plantenkenmerken, zoals de manier waarop de bestuiving plaatsvindt (zelfbestuiving, insectenbestuiving, windbestuiving), de eigenschap om ondergronds plantendelen of verspreidingsstructuren te vormen (wortelstokken, stolonen (uitlopers)), en de eigenschappen van het zaad (grootte, gewicht, plakkerigheid, ruwheid van het zaadoppervlak, aanwezigheid van vruchtpluis of luchtzakken, vruchtkenmerken die verspreiding van het zaad bevorderen of juist beperken (zoals vlezigheid of zaadvastheid), kiemkracht).

D. tenuifolia

D. tenuifolia is een inheemse plantensoort die zich in Nederland gemakkelijk in het wild vestigt en kan kruisen met in Nederland voorkomende wilde verwanten. De COGEM acht het daarom noodzakelijk dat bij werkzaamheden met gg-*D. tenuifolia* de verspreiding van transgenen naar het milieu zo goed mogelijk wordt ingeperkt.

Kruisbestuiving met gg-stuifmeel kan worden voorkomen door ontsnapping van het pollen uit de kas tegen te gaan. *D. tenuifolia* kent insectenbestuiving. Ten einde bestuiving van kruisbare verwanten van *D. tenuifolia* te voorkomen, adviseert de COGEM werkzaamheden met gg-*D. tenuifolia* uit te voeren in een insectendichte kast. Aangezien niet uitgesloten kan worden dat *D. tenuifolia* pollen zich door de lucht verspreidt, adviseert de COGEM als aanvullende maatregel de bloeiwijzen voor de bloei (dat wil zeggen voordat de knoppen zich openen) te verwijderen of pollendicht in te hullen ten einde eventuele windbestuiving te voorkomen.

Indien de gg-*D. tenuifolia* vruchten draagt (hauwtjes), kunnen deze openbarsten en de zaadjes op de grond vallen. De COGEM acht het daarom van belang dat de ruimte waarin de werkzaamheden plaatsvinden voorzien is van een verharde vloer teneinde uitsleep van zaad te voorkomen.

Het voorgaande in overweging nemende, adviseert de COGEM bij werkzaamheden met gg-*D. tenuifolia* maatregelen te nemen die insecten- en windbestuiving voorkomen door deze uit te voeren in een insectendichte ruimte met daarbij de aanvullende maatregel bloeiwijzen pollendicht in te hullen. Zij adviseert werkzaamheden in kassen onder inperkingsniveau PK-II (PKb-I onder de nieuwe 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013') uit te voeren, en een overeenkomstig inperkingsniveau voor kweekcellen toe te passen. Aangezien de kleine lichtgewicht zaadjes van *D. tenuifolia* zich eenvoudig verspreiden en moeilijk te traceren zijn, adviseert zij tevens aanvullende maatregelen te nemen die de uitsleep van zaad buiten de werkruimte voorkomt.

V. vinifera

Hoewel *V. vinifera* hier niet oorspronkelijk vandaan komt, kan de plantensoort onder de Nederlandse klimatologische omstandigheden groeien. De COGEM kan niet uitsluiten dat in Nederland opslag buiten de gecultiveerde omgeving mogelijk is. *V. vinifera* kan kruisen met in Nederland voorkomende wilde verwanten zoals wilde druif.

Indien tijdens werkzaamheden met gg-*V. vinifera* stuifmeel uit de kas vrijkomt, kan kruising met niet-genetisch gemodificeerde verwanten plaatsvinden. *V. vinifera* kent insectenbestuiving. Ten einde bestuiving van kruisbare verwanten te voorkomen, adviseert de COGEM werkzaamheden met gg-*V. vinifera* uit te voeren in een insectendichte kas. Aangezien *V. vinifera* pollenkorrels kleiner zijn dan pollenkorrels van de typische windbestuiver maïs,²⁵ kan niet worden uitgesloten worden dat *V. vinifera* pollen zich door de lucht verspreidt. De COGEM adviseert daarom als aanvullende maatregel bloeiwijzen voor de bloei (dat wil zeggen voordat de knoppen zich openen) te verwijderen of pollendicht in te hullen ten einde eventuele windbestuiving te voorkomen.

Naast seksuele voortplanting kent *V. vinifera* ook vegetatieve vermeerdering door de vorming van wortelstokken. Opslagplanten van *V. vinifera* ten gevolge van wortelstokgroei buiten de gecultiveerde omgeving zijn waargenomen. De COGEM acht het daarom van belang dat er maatregelen worden genomen die ervoor zorgen dat de plant zich niet via de grond kan verspreiden.

Bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM bij werkzaamheden met gg-*V. vinifera* maatregelen te nemen die insecten- en windbestuiving voorkomen door deze uit te voeren in een insectendichte ruimte met daarbij de aanvullende maatregel bloeiwijzen pollendicht in te hullen. Werkzaamheden in kassen adviseert zij uit te voeren onder inperkingsniveau PK-II (PKb-I) waarbij hetzelfde bovenstaande aanvullende doelvoorschrift in acht wordt genomen. Voor kweekcellen adviseert zij een overeenkomstig inperkingsniveau toe te passen.

M. balsamina, M. charantia en M. cochinchinensis

M. balsamina, M. charantia en M. cochinchinensis groeien niet onder de Nederlandse klimatologische omstandigheden. Kruisbare verwanten zijn in Nederland niet gevonden. Gezien de fylogenetische afstand, acht de COGEM het zeer onwaarschijnlijk dat de drie *Momordica* soorten zullen kruisen met in Nederland voorkomende komkommerachtigen.

De COGEM acht de standaardmaatregelen die tijdens werkzaamheden met gg-planten de verspreiding van pollen, zaden en reproductieve plantendelen voorkomen, voldoende. Zij adviseert de

werkzaamheden met de drie gg-*Momordica* soorten in kassen onder PK-I (PKa-I) inperking uit te voeren. Voor kweekcellen adviseert zij een overeenkomstig inperkingsniveau toe te passen.

Conclusie

De COGEM adviseert om werkzaamheden met gg-*D. tenuifolia* en gg-*V. vinifera* plaats te laten vinden onder aanvullende maatregelen die insecten- en windbestuiving voorkomen. Tevens dient vegetatieve vermeerdering van wortelstokken van gg-*V. vinifera* voorkomen te worden. Daarnaast adviseert zij bij werkzaamheden met gg-*D. tenuifolia* aanvullende maatregelen in acht te nemen ten einde uitsleep en verspreiding van zaad te voorkomen. Werkzaamheden met gg-*Momordica* kunnen onder PK-I inperkingsniveau plaatsvinden.

Referenties

1. Bureau GGO (december 2010). Inperkingsmaatregelen bij activiteiten met genetische gemodificeerde planten. http://www.ggo-vergunningverlening.nl//dsresource?objectid=rivmp:193527&type=org&disposition=inline&ns_nc=1
2. Weeda EJ *et al.* (2003). Nederlandse oecologische flora. Wilde planten en hun relaties 2. KNNV Uitgeverij /IVN. ISBN 90-5011-180-7
3. Van der Meijden R (2005). Heukels' flora van Nederland, 23e druk, Wolters-Noordhoff, Groningen
4. Pratap A & Gupta S K (2009). Chapter 3, Biology and ecology of wild crucifers. In: Biology and Breeding of Crucifers. 37–68. Eds Gupta KG. CRC Press, Boca Raton, Florida
5. Hall MKD *et al.* (2012). Some perspectives on rocket as a vegetable crop: a review. Vegetable Crops Research Bulletin 76: 21-41
6. Van Hengstum T *et al.* (2013). Impact of experimental plant invasions on plant-pollinator and plant-herbivore interactions. In: Ecological effects of plant invasions: 16-33. PhD thesis, University of Amsterdam, The Netherlands. ISBN: 978-90-821099
7. Bundesamt für Naturschutz (10/04/14). *Diploaxis tenuifolia*. Floraweb. <http://www.floraweb.de/pflanzenarten/artenhome.xsql?suchnr=1978&>
8. Murray MG *et al.* (2008). Aeropalynological research in *Salitral de la Vidriera*, Buenos Aires province, Argentina. *Aerobiologica* 24: 181-190
9. Cappers RTJ *et al.* (2012). Digitale zadenatlas van Nederland. 2e editie. Eds Cappers TJ *et al.* Barkhuis & Groningen University Library. <http://seeds.eldoc.ub.rug.nl/>
10. Hintze C *et al.* (2013). D³: The Dispersal and Diaspore Database - Baseline data and statistics on seed dispersal. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 15: 180-192. www.seed-dispersal.info
11. Stace AC (1975). Hybridization and the flora of the British Isles. Ed Stace AC. Academic Press, San Diego
12. Dieren, planten en paddenstoelen in Nederland (10/04/2014). <http://www.soortenbank.nl/>
13. Overzicht van de Nederlandse biodiversiteit (10/04/2014). <http://www.nederlandsesoorten.nl/get?site=nlr>
14. Wijnstok/ *Vitis vinifera* (10/04/14). <http://waarneming.nl/soort/view/7660>
15. Arnold C *et al.* (2005). Is there a future for wild grapevine (*Vitis vinifera* subsp. *silvestris*) in the Rhine Valley? *Biodiversity and Conservation* 14: 1507-1523

16. Arrigo N & Arnold C (2007). Naturalised *Vitis* rootstocks in Europe and consequences to native wild grapevine. PLoS ONE 2(6): e521
17. Vasconcelos MC *et al.* (2009). The flowering process of *Vitis vinifera*: a review. Am J Enol Vitic 60(4): 411-434
18. Perry RL *et al.* (1983). Root distribution of four *Vitis* cultivars. Plant and Soil 71: 63-74
19. Brantjes NBM (1978). Pollinator attraction of *Vitis vinifera* subsp. *silvestris*. Vitis 17: 229-233.
20. Domestication of plants in the old world (2012). Fourth edition. Eds Zohary D *et al.* Oxford University Press, New York
21. Behera TK *et al.* (2011). *Momordica*. In: Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Vegetables. Ed Kole C. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
22. PROTA Network Office Europe (14/04/2014). Plant resources of tropical Africa. Protabase record display. www.prota.org.
23. Schaefer H & Renner SS (2010). A three genome phylogeny of *Momordica* (*Cucurbitaceae*) suggests seven returns from dioecy to monoecy and recent long-distance dispersal to Asia. Molecular Phylogenetics and Evolution 54(2): 553-560
24. Young JM. *et al.* (2001). A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Con1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie *et al.* 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. Int J Syst Evol Microbiol. 51: 89-103
25. Van Hengstum T *et al.* (2009). Pollen flow out of greenhouses for wind-pollinated species, in the context of current GM containment regulations in the Netherlands. COGEM report CGM 2009-01