

Aan de staatssecretaris van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
De heer drs. P.L.B.A. van Geel
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 22 december 2006
KENMERK CGM/061222-01
ONDERWERP Advies veldproef met genetisch gemodificeerde NK603 maïs (IM 06-005)

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van een adviesvraag met betrekking tot het uitvoeren van veldproeven met herbicidentolerante NK603 maïs van Pioneer Hi-Bred Northern Europe Sales Division, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over een kleinschalige veldproef (klasse I) met genetisch gemodificeerde maïs (maïslijn NK603). Door de genetische modificatie is de maïs tolerant geworden voor herbiciden met als werkzame stof glyfosaat. In eerdere stadia heeft de COGEM reeds positief geadviseerd over teelt, import en verwerking van NK603 maïs.

Maïs is vorstgevoelig en zal de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. Hiernaast is opslag van maïs in Nederland niet van landbouwkundige betekenis. De ingebrachte genen bieden buiten het proefobject geen selectief voordeel en er zijn geen redenen op aan te nemen dat de modificatie zal leiden tot verwildering. Bovendien zijn er geen aanwijzingen dat de ingebrachte genen coderen voor humane toxische of allergene eiwitten. De genetisch gemodificeerde maïslijn kan in Nederland niet uitkruisen naar andere wilde verwanten. De maïsplant kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen. Indien uitkruising optreedt, is de COGEM van mening dat de kans op schadelijke effecten, gezien het bovenstaande verwaarloosbaar klein is. Hiernaast is de mate van uitkruising geminimaliseerd door de in acht genomen isolatieafstand van 250 meter en het planten van vier randrijen niet gg-maïs. Met de inachtneming van een isolatieafstand van 250 meter zal eventuele uitkruising en daarmee vermenging niet leiden tot handelsbelemmeringen.

Dit alles overwegende heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht zij de risico's van deze veldproef 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, stylized initial 'Z' followed by a long horizontal stroke that ends in a small hook.

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

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. I. van der Leij

Veldproef met herbicidentolerante NK603 maïs

COGEM advies CGM/061222-01

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van kleinschalige veldproeven met genetisch gemodificeerde maïs (*Zea mays*) met een herbicidentolerantie. De betreffende maïsvariant staat bekend onder de naam NK603. Hiernaast bestaat er het voornemen veldproeven te verrichten met maïsplanten die beschikken over zowel herbicidentolerantie als insectenresistentie (NK603 x 1507 en NK603 x1507 x 59122). De COGEM adviseert apart over elk van de drie afgegeven ontwerpbeschikkingen (CGM/061222-01, CGM/061222-02 en CGM/061222-03).

Deze vergunningaanvraag heeft betrekking op klasse I veldproeven in drie gemeenten in Nederland. Het betreft maïsplanten waarin twee genen uit *Agrobacterium tumefaciens* (*cp4 epsps* en *cp4 epsps L214P*) zijn ingebracht. Door expressie van deze genen verwerft de maïsplant tolerantie voor herbiciden met als werkzame stof glyfosaat.

In het verleden heeft de COGEM al enige malen positief over de NK603 maïslijn (CGM/030319-08, CGM/060704-01) of over kruisingen met deze lijn (CGM/040421-01, CGM/050228-02, CGM/050228-03, CGM/050526-01 en CGM/060510-01) geadviseerd. Het betrof hier advisering over Europese markttoelatingen op het gebied van import, verwerking of teelt.

2. Milieurisicoanalyse

Bij de risicobeoordeling van 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 introductie in het milieu wordt door de COGEM de staande landbouw en de klassieke veredeling als 'baseline' voor genetische gemodificeerde gewassen gebruikt (CGM/021017-06).

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 wordt gekeken naar mogelijk directe en 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 mogelijk 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 algeheel 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 genetische gemodificeerde maïsplanten met een tolerantie voor glyfosaatherbiciden. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij zijn de kans op verspreiding door pollen en zaden, het eventueel uitkruisen van maïs 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 verspreiding van de ingebrachte genen in het milieu zou optreden. Ook incidentele consumptie of vraat en mogelijke toxische of allergene effecten op mens en dier zijn onderwerp van de risicoanalyse. Effecten op niet-doel organismen zouden kunnen leiden tot een verstoring van voedselketens of ecosystemen. Een eiwit kan mogelijk intact blijven in insecten, waarna het door de insecten verspreid kan worden vanuit het proefveld. Mogelijke schadelijke effecten op de bodemmicroflora zouden een verstoring in de nutriëntenkringloop in de bodem kunnen veroorzaken.

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.

Veldproeven binnen Nederland kunnen worden ingedeeld in drie verschillende klassen. Indien weinig kennis van het ggo 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 eventueel verkregen worden uit eerdere kleinschalige veldproeven, of andere bronnen.

Het veldexperiment in deze aanvraag betreft een klasse één veldexperiment. Bij een klasse één veldexperiment mogen werkzaamheden op maximaal vijf locaties worden uitgevoerd waarbij de locatie niet meer dan één hectare mag bedragen. De genetisch gemodificeerde maïsplanten van deze aanvraag kunnen worden geïntroduceerd op maximaal tien locaties verspreid over drie verschillende gemeenten. Jaarlijks worden maximaal vijf locaties daadwerkelijk gebruikt. Het proefveld zal omgeven zijn door vier randrijen van niet gg-maïs. De omvang per locatie (inclusief de vier randrijen) bedraagt jaarlijks maximaal één hectare. Indien in de nabijheid andere maïsvelden aanwezig zijn

wordt tevens een isolatieafstand van 250 meter in acht genomen.

Eventuele schadelijke effecten moeten bij een klasse één experiment beperkt blijven tot het proefobject.

2.1 Eigenschappen van het gewas

Maïs (*Zea mays* L.) behoort tot de familie van de *Gramineae* en is als landbouwgewas oorspronkelijk afkomstig uit Midden-Amerika. Maïs is overwegend een windbestuiver (4). Insectenbestuiving speelt bij maïs nauwelijks een rol, maar kan niet volledig worden uitgesloten (1). De levensduur van maïspollen varieert volgens de literatuur van 30 minuten (2) tot 9 dagen (3). Experimenten hebben aangetoond dat 90% van het geproduceerde pollen binnen 5 meter en 98% binnen 25 tot 50 meter van de grens van het veld neerkomen (8-9).

Maïs heeft in Europa geen wilde verwanten. Opslag van maïsplanten komt in Europa zelden en onder Nederlandse omstandigheden zelden tot nooit voor (5,6). Verwildering van de maïsplant is in Nederland nooit waargenomen.

2.2 Eigenschappen van de ingebrachte genen

De genetisch gemodificeerde maïslijn NK603 is gegenereerd door middel van ‘particle bombardment’. Een fragment dat beide *cp4 epsps* expressiecassettes bevat, is op deze wijze geïnserteerd in de plant.

De twee expressiecassettes bevatten de volgende sequenties:

- *cp4 epsps* expressiecassette 1:
 - P-ract1/ract1 intron: promotor en eerste intron afkomstig van *Oryza sativa*;
 - *ctp2*, gen van *Arabidopsis thaliana*; codeert voor een ‘chloroplast transit peptide’
 - *cp4 epsps*, gen afkomstig van *Agrobacterium tumefaciens CP4*; codeert voor 5-enolpyruvylshikimate-3-fosfaatsynthase (EPSPS)
 - Nos 3’, terminator van *A. tumefaciens*.
- *cp4 epsps* expressiecassette 2:
 - E35S, constitutieve promotor van het *Cauliflower mosaic virus* (CaMV)
 - *hsp70*, intron afkomstig van *Z. mays*;
 - *ctp2* gen van *A. thaliana*;
 - *cp4 epsps L214P*, gen van *A. tumefaciens CP4*;
 - Nos 3’, terminator van *A. tumefaciens*.

Eigenschappen van de geïntroduceerde genen verantwoordelijk voor herbicidentolerantie

De *cp4 epsps* genen zijn verantwoordelijk voor de glyfosaattolerantie die de maïsplant verkregen heeft. EPSPS, een enzym betrokken bij de biosynthese van aromatische aminozuren wordt geremd door glyfosaat. Door de binding van glyfosaat aan EPSPS

veranderd de vouwing van het enzym waardoor de vorming van aromatische aminozuren geremd wordt met het gevolg dat de plant zal afsterven. Maïslijn NK603 brengt *cp4 epsps* genen tot expressie die van nature een hoge tolerantie bevatten voor glyfosaat. De tolerantie is te danken aan de aanwezigheid van één enkele mutatie. Hierdoor is één aminozuur in de eiwitketen van het enzym veranderd waardoor het enzym geen andere vouwing verkrijgt (10). Dit heeft als gevolg dat de productie van aromatische aminozuren nog steeds kan plaatsvinden wanneer de plant wordt bespoten met glyfosaat. De planten zullen hierdoor dus niet afsterven. EPSPS eiwitten zijn actief in de chloroplasten van een plantencel. De ingebrachte sequentie coderend voor het 'chloroplast transitpeptide' zorgt ervoor dat het transgene EPSPS eiwit wordt getransporteerd naar de chloroplast. (7).

3. Overwegingen en advies

3.1 Overweging van mogelijke risico's van het genetisch gemodificeerde gewas

Maïs is niet winterhard en kent daardoor een sterke biologische inperking onder Noord-Europese klimaatomstandigheden. Maïszaden kennen geen kiemrust, waardoor een eventuele kieming snel zal optreden. Gekiemde zaden zijn zeer gevoelig voor opportunistische schimmels en koude. Opslag van maïs komt onder Nederlandse omstandigheden zelden tot nooit voor. Indien toch opslag optreedt, heeft de aanvrager aangegeven deze te zullen verwijderen.

Maïs is geen inheemse soort in Nederland en er komen hier ook geen wilde verwanten voor. Uitkruising naar wilde verwanten kan daarom niet plaatsvinden. Uitkruising met andere maïscultivars kan wel voorkomen. De aanvrager heeft echter aangegeven een isolatieafstand van 250 meter rondom het proefobject in acht te nemen. Hiernaast zullen vier randrijen met niet gg-maïs aangeplant worden. Het is bekend dat het plaatsen van niet-gg-planten om het proefveld uitkruising tegengaat doordat een deel van het pollen op deze wijze weggevangen wordt (11). Daarnaast wordt de concentratie 'gg-pollen' door het pollen van de niet-gg-maïs verlaagd. Dientengevolge zal de mate van uitkruising met eventueel aanwezige naburige maïsvelden geminimaliseerd worden.

3.2 Overweging van mogelijke risico's van de ingebrachte genen

De *cp4 epsps* genen zijn verantwoordelijk voor de herbicidentolerantie die de NK603 maïslijn heeft verkregen. Op grond van praktijkinformatie en de ingebrachte eigenschappen zijn er geen redenen om aan te nemen dat de ingebrachte genen het verwilderingspotentieel van de maïsplant vergroten. Op het gebied van de herbicidentolerantie zal de plant alleen een selectief voordeel verwerven indien bespuiting met glyfosaatherbicides plaatsvindt. Bespuiting zal normaliter echter alleen plaatsvinden op de akker waarmee de effecten van het herbicide beperkt blijven tot het

proefobject. Sequentievergelijkingen met EPSPS eiwitten hebben laten zien dat er geen homologie bestaat tussen de eiwitten en bekende humane toxines of allergenen.

Op grond van de ingebrachte genen heeft de COGEM geen redenen om aan te nemen dat een kleinschalige veldproef met maïslijn NK603 schadelijke effecten op de bodemmicroflora of op niet-doelwitorganismen zal veroorzaken.

3.3 Advies

Het onderhavige advies heeft betrekking op een vergunningaanvraag voor veldexperimenten met genetisch gemodificeerde maïsplanten met een glyfosaatherbicidentolerantie. In eerdere stadia heeft de COGEM positief geadviseerd over zowel teelt als import en verwerking van NK603 maïs of kruisingen van deze lijn. Zij was destijds van mening dat de teelt van NK603 maïs verwaarloosbaar kleine risico's voor mens of milieu met zich meebracht.

Maïs is vorstgevoelig en zal de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. Opslag van maïsplanten komt in Nederland zelden tot nooit voor. Indien opslag toch optreedt zal dit door de aanvrager worden verwijderd. Dit houdt in dat na één teeltseizoen de maïsplant, mits niet opnieuw ingezaaid, niet meer in de natuur aanwezig is.

De COGEM acht de kans verwaarloosbaar klein dat er schadelijke effecten zowel binnen als buiten het proefobject zullen plaatsvinden. Er zijn geen redenen om aan te nemen dat de ingebrachte genen het verwilderingspotentieel van de plant verhogen of de plant een selectief voordeel geven buiten het proefobject. Hiernaast heeft onderzoek aangetoond dat de ingebrachte genen niet coderen voor bekende humane toxische of allergene eiwitten en acht de COGEM het niet aannemelijk dat schadelijke effecten op niet-doelwitorganismen of bodemorganismen zullen optreden.

De genetisch gemodificeerde maïslijn kan in Nederland niet uitkruisen naar andere wilde verwanten. De maïsplant kan wel uitkruisen naar andere maïsvariëteiten. Indien uitkruising optreedt, is de COGEM van mening dat de kans dat schadelijke effecten optreden verwaarloosbaar klein is gezien het bovenstaande. Hiernaast neemt de aanvrager een isolatieafstand van 250 meter in acht en worden vier randrijen met niet gg-maïs aangeplant. Deze maatregelen zijn voldoende om eventuele uitkruising met het oog op coëxistentie in te perken. Hierdoor zullen eventuele handelsbelemmeringen door vermenging van gg-maïs met conventionele of biologische cultivars niet optreden.

Dit alles overwegende heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht zij de risico's van deze veldproef voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Referenties

- (1) Hin CJA (2001). Rapport Landbouwkundige risico's van uitkruising van GGO-gewassen Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM).
- (2) Coe EHJR, Neuffer MG, Hoisington DA 1988. The genetics of Corn. pp. 81-258. In: Sprangue GF, Dudley JW, Editors. Corn and Corn Improvement, Third Edition. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin. 986 pp.
- (3) Treau R, Emberlin J (2000). Pollen dispersal in the crops Maize (*Zea mays*), Oil seed rape (*Brassica napus* ssp. *Oleifera*), Potatoes (*Solanum tuberosum*), Sugar beet (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) and Wheat (*Triticum aestivum*)- Evidence publications. Soil Association.
- (4) Poehlman JM and Sleper DM (1995). Breeding field crops. Iowa state university press. Fourth edition.
- (5) Kempenaar C, Van der Brink L, Bus CB, Groten JAM, De Visser CLM, Lotz LAP (2003). Gangbare landbouwkundige praktijk en recente ontwikkelingen voor vier akkerbouwgewassen in Nederland. Plant Research International, Wageningen UR.
- (6) Opinion of the Scientific Committee on Plants concerning the adventitious presence of GM seeds in conventional seeds (2001). Scientific Committee on Plants of the European Commission. Brussel. SCP/GMO-SEED-CONT/002-FINAL.
- (7) Della-Cioppa GS, Bauer C, Klein BK, Shah DM, Fraley RT and Kishore G.M. (1986). Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants *in vitro*. Proceedings of the National Academy of Sciences **83**: 6873-6877
- (8) Eastham K en Sweet J. (2002). Genetically modified organisms (GMO's). The significant of gene flow through pollen transfer. European Environment agency, Environmental issue report, 28
- (9) Sears MK & Stanley-Horn D (2000). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations. In: Fairbairn C, Scoles G & McHughen A. (Eds.) Proceedings of the 6th International Symposium on The Biosafety of Genetically Modified Organisms. University Extension Press, Canada.
- (10) Funke T. *et al.* (2006). Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. Proceedings of the National Academy of Science **103**: 13010-13015
- (11) COGEM (2004). Coëxistentie in de landbouw. Vermenging, uitkruising en isolatieafstanden. COGEM signalering CGM/041013-01