

Advies betreffende: **Molecular biology of rhizosphere bacteria**

Kennisgever: **Universiteit Leiden**

COGEM kenmerk
CGM/020228-03

BGGO nummer
GGO 01-264

Datum advies
28 februari 2002

Inleiding

De in de kennisgeving beschreven experimenten richten zich op het bestuderen van genen die betrokken zijn bij de wortelkoloniserende eigenschappen van *Pseudomonas* spp., het bestuderen van genen van wortelkoloniserende *Pseudomonas* spp. die betrokken zijn bij de bescherming van planten tegen fytopathogene schimmels (biocontrole) en het bestuderen van de genexpressie in de rhizosfeer door het gebruik van autofluorescerende eiwitten bedoeld voor het zichtbaar maken van *Pseudomonas* spp..

Allereerst is het de bedoeling dat kolonisatie- en biocontrolegenen uit *Pseudomonas* spp. en rhizobia en/of marker genen coderend voor autofluorescerende eiwitten die het mogelijk maken om bacteriën zichtbaar te maken, in *Escherichia coli* worden gekloneerd. Vervolgens zullen deze genen ook in *Pseudomonas* en rhizobia worden gekloneerd. Om de genexpressie in de rhizosfeer in de tijd te volgen worden genetisch gemodificeerde *Pseudomonas* of rhizobia geïnculeerd op zaden of direct op de wortels van zaailingen, waarna deze worden geïncubeerd onder geconditioneerde omstandigheden. Voor deze experimenten worden zaden of plantenwortels gebruikt van bijvoorbeeld tomaat, radijs, aardappel, avocado, tarwe, gerst en andere relevante land- en tuinbouwgewassen.

Overwegingen en inschaling

Voor donororganismen waarvan vaststaat dat zij niet behoren tot een groep van *Pseudomonas* spp. die pathogeen is voor mens of dier dan wel toxines produceert van klasse T1 of hoger, adviseert de COGEM om de kloneringen in *E. coli* in te schalen op VMT niveau (artikel 5.2.j van de Regeling1).

Het volgende aanvullend voorschrift moet worden gehanteerd:

- van uit de bodem geïsoleerde *Pseudomonas*-soorten wordt door middel van identificatie met 16S rDNA analyse, DAPI en Biolog vastgesteld dat zij niet behoren tot een groep van pseudomonaden die pathogeen is voor mens of dier of die toxinen van klasse T-1 of hoger produceert.

De klonering in en handelingen met *Pseudomonas* spp. en rhizobia, die behoren tot de *Pseudomonas*-soorten die vermeld staan (in sommige gevallen weliswaar onder een andere naam) in Bijlage 1 van de Regeling1, zijn reeds eerder door de COGEM beoordeeld (CGM/000501-04) en toentertijd ingeschaald op VMT niveau (artikel 5.2.j, 6.2.e van de Regeling1). Bij experimenten met deze ggo's in associatie met

planten(zaden) moeten de volgende aanvullende voorschriften in acht genomen worden om verspreiding van bacteriën te voorkomen:

- inoculatie van de plantenzaden met genetisch gemodificeerde pseudomonaden en het planten van de zaden in buizen of bakken vindt plaats in een veiligheidskabinet van klasse II;
- vervoer van de buizen of bakken van en naar de PC-I of PC-II cel vindt plaats in gesloten, breukvaste en lekdichte containers conform Bijlage 9 van de Regeling;
- monsternamen vindt plaats in een veiligheidskabinet van klasse II. Hierbij wordt de gehele inhoud van de buizen of bakken geoogst. Het resterende materiaal dat niet gebruikt wordt voor monsternamen dient te worden gedecontamineerd.

In tegenstelling tot de hierboven genoemde groep pseudomonaden, die vermeld staat in Bijlage 1 van de Regeling¹, zijn uit de bodem geïsoleerde *Pseudomonas* spp. niet nader gekarakteriseerd, terwijl geen gegevens worden overgelegd die uitsluiten dat betreffende stammen pathogeen zijn voor mens of dier dan wel toxines produceren. Handelingen met deze groep Pseudomonaden moeten daarom worden ingeschaald op C-I niveau (artikel 5.3.j, 6.3.e van de Regeling¹). Bij experimenten met deze ggo's in associatie met planten(zaden) moeten de volgende aanvullende voorschriften in acht genomen worden om verspreiding van bacteriën te voorkomen:

- inoculatie van de plantenzaden met genetisch gemodificeerde pseudomonaden en het planten van de zaden in buizen of bakken vindt plaats in een veiligheidskabinet van klasse II;
- vervoer van de buizen of bakken van en naar de PC-I of PC-II cel vindt plaats in gesloten, breukvaste en lekdichte containers conform Bijlage 9 van de Regeling;
- monsternamen vindt plaats in een veiligheidskabinet van klasse II. Hierbij wordt de gehele inhoud van de buizen of bakken geoogst. Het resterende materiaal dat niet gebruikt wordt voor monsternamen dient te worden gedecontamineerd.

Mochten er naderhand gegevens worden overgelegd die alsnog een inschaling op VMT rechtvaardigen, dan kan de situatie opnieuw worden bezien.

De COGEM adviseert om handelingen met planten in associatie met alle hierboven genoemde genetisch gemodificeerde *Pseudomonas* spp. en rhizobia in kweekcellen in te schalen op PC-II niveau conform artikel 6.7.2. van de Regeling .

Het in de kennisgeving beschreven gesloten buissysteem geeft op zich inperking die vergelijkbaar is met PC-II niveau. Zolang de fysische inperking niet wordt verbroken, kunnen de in deze aanvraag beschreven ggo's geassocieerd met planten ook in een dergelijk gesloten buissysteem gehouden worden, mits dit geplaatst is in een PC-I cel. Opening van de buizen en handelingen met geopende buizen moeten plaats vinden in een veiligheidskabinet van klasse II.