

Advies betreffende: **Veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte**

Kennisgever: **AVEBE b.a**

COGEM kenmerk
CGM/030909-01

BGGO nummer
BGGO 03/04

Datum advies
17 september 2003

Inleiding

Het doel van de door AVEBE b.a. aangevraagde experimenten is middels veldproeven de agronomische eigenschappen van de genetische gemodificeerde aardappelplanten (*Solanum tuberosum*) met een gewijzigde zetmeelsamenstelling te evalueren. Tevens zal vermeerdering van de genetisch gemodificeerde aardappelplanten plaatsvinden.

De aanvraag is een uitbreiding van de bestaande vergunning BGGO 01/11. De onderhavige aanvraag omvat een uitbreiding met alle zetmeelrassen (i.p.v. van slechts het ras Karnico) als uitgangsorganisme, en een herziening van de beschrijvingen van de locaties waarbij in vergelijking met BGGO 01/11 een tweetal locaties zijn gewijzigd. De vergunningaanvraag betreft kleinschalige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde aardappelplanten in de gemeenten Aa en Hunze, Borger-Odoorn, Eemmond, Emmen, Pekela en Veendam.

De aanvraag omvat aardappelplanten, waarin het *kgz* gen, dat codeert voor een korrelgebonden zetmeelsynthase (KGZ), is ingebracht. Het *kgz* gen is in 'antisense' oriëntatie ingebracht samen met het 5'gedeelte van het *kgz* cDNA in 'sense' oriëntatie waardoor een inverted repeat configuratie ontstaat. Dit resulteert in onderdrukking van de expressie van het in de plant aanwezige *kgz* gen hetgeen een verlaging van het amylosegehalte in knollen tot gevolg heeft. De genetisch gemodificeerde aardappelplanten zijn vrij van antibioticumresistentiemarkers.

In aardappelen komen twee soorten zetmeel voor, amylopectine en amylose. Amylopectine heeft, in tegenstelling tot amylose een sterk vertakte structuur. Zuiver amylopectine wordt gebruikt bij specifieke technische hoogwaardige toepassingen in onder andere de textiel- en papierindustrie. De aanvrager verwacht dat dankzij dit zuivere amylopectinezetmeel er bij de verwerking voor hoogwaardige toepassingen minder energie en chemische hulpstoffen nodig zijn.

Voorgaande COGEM adviezen

De COGEM heeft positief geadviseerd over de aanvraag BGGO 01/11 op 29 oktober 2001 (CGM/011029-01). In dit advies heeft de COGEM gesignaleerd dat de mogelijkheid bestaat dat een getrunceerd KGZ-eiwit tot expressie komt en dat er in geval van opschaling nadere gegevens omtrent de expressie van dit genproduct moeten worden verstrekt. De COGEM stelde echter ook dat het ontbreken van de gegevens niet van invloed is op de (positieve) beoordeling van de betreffende aanvraag. De COGEM heeft op verzoek van het ministerie van VROM hier later een nadere toelichting op gegeven (CGM 020612-08). In dit advies geeft de COGEM aan dat het theoretisch mogelijk is dat het in sense oriëntatie geplaatste *kgz* DNA, eventueel met sequenties van het in anti-

sense geplaatste *kgz* –cDNA aanleiding kan geven tot een nieuw expressieproduct. De aanvrager heeft het construct zodanig ontworpen dat transcriptie zal plaatsvinden maar dat als gevolg van de ‘inverted repeat’ oriëntatie translatie (omzetting van RNA naar eiwit) van de gevormde transcripten waarschijnlijk niet zal plaatsvinden. Dit als gevolg van intern hybridiseren van de RNA transcripten waarbij secundaire structuren gevormd worden die translatie van die transcripten onmogelijk maakt (1,2). Tevens is het waarschijnlijk dat als gevolg van de vorming van secundaire RNA-structuren de transcripten gevoeliger zijn voor intracellulaire degradatieprocessen (3,4,5). Dezelfde degradatieprocessen worden verondersteld de basis te zijn voor het in de genetisch gemodificeerde aardappelplanten opgewekte ‘antisense’ effect. Op basis van de bovenstaande argumenten wordt de kans dat in de onderhavige aardappelplanten nieuwe expressieproducten gevormd worden onwaarschijnlijk geacht.

Daarnaast geeft de COGEM in haar advies aan dat indien het getrunceerde KGZ-eiwit tot expressie zou komen de mogelijke gevolgen voor mens en milieu uiterst beperkt blijven. De argumenten die hiervoor worden gegeven zijn dat het ten eerste geen vreemd DNA betreft. Uit een lange historie van veilig gebruik blijkt dat het KGZ-eiwit in niet gemodificeerde planten niet toxisch is en er geen redenen zijn om aan te nemen dat dit anders zou zijn voor slechts een deel van het eiwit. Ten tweede is uit eerdere beoordelingen gebleken dat de aanwezigheid van antisense *kgz* cDNA niet leidt tot de vorming van nieuwe expressieproducten die tot effecten kunnen leiden bij mens en milieu.

Overigens is er bij de voorgestelde werkzaamheden geen sprake van vervoeding of humane consumptie waardoor eventuele gezondheidsrisico’s als gevolg van vervoeding en consumptie nihil zijn.

Aspecten van het gewas

De COGEM beschrijft in haar advies van 29 oktober 2001 (CGM/011029-01) uitgebreid de risico aspecten van het gewas aardappel. In dit advies wordt aandacht besteed aan de structuren die de aardappel kent voor verspreiding en overleving: pollen, zaden en knollen. De COGEM concludeerde destijds en is nog steeds van mening dat risico’s van verspreiding en overleving verwaarloosbaar klein zijn. De aardappel vormt geen onderdeel van de Nederlandse flora en uitkruising naar wilde verwanten vindt niet plaats. Uitkruising naar andere cultuurrassen is wel mogelijk. Hierbij dient te worden opgemerkt dat aardappel in Nederland vegetatief wordt vermeerderd. Aardappelknollen zijn vorstgevoelig en kunnen alleen zachte winters overleven.

De COGEM is verder van mening dat de risicoanalyse die destijds uitgevoerd is voor het aardappelras Karnico niet rasspecifiek is en dus ook van toepassing is op andere zetmeelrassen.

Eerdere experimenten hebben uitgewezen dat een verlaagd amylosegehalte niet van invloed is op de vorstgevoeligheid van aardappelknollen (verslag Karna in het kader van vergunning BGGO 93/14, d.d. 22 december 1994, kenmerk WMS9415/ph). De COGEM heeft naar aanleiding van deze resultaten een advies afgegeven (CGM/950203-07) waarin gesteld wordt dat de conclusie zich uitstrekt tot alle genetisch gemodificeerde aardappelen met een verlaagd amylosegehalte, ongeacht het uitgangsras waar de genetisch gemodificeerde aardappelen van afgeleid zijn. De COGEM heeft het advies CGM/990112-01 uitgebracht in het kader van een wijzigingsverzoek van BGGO 95/05

voor opschaling tot grootschalige teelt van de rassen Apropos en Apriori, waarvan de zetmeelsamenstelling veranderd was. De COGEM was van oordeel dat er geen bezwaar bestond tegen de voorgestelde werkzaamheden van klasse 5 en stelt nogmaals dat een verlaging van de hoeveelheid van amylose geen ongewenste invloed zal hebben op de vorstgevoeligheid van aardappelknollen.

Moleculaire karakterisatie

De aardappelplanten zijn genetisch gemodificeerd met behulp van het plasmide pKGBA50mf-IR1.1, dat afgeleid is van vector pBIN19. Op pKGBA50mf-IR1.1 zijn de complete sequenties van een tweetal genen aanwezig: *kgz* in 'antisense' oriëntatie en *nptIII*. Alleen het *kgz* 'inverted repeat' construct is gelegen achter een in eukaryoten werkzame promotor en komt tot expressie in planten. Het *nptIII* gen is geplaatst op de backbone sequentie achter een prokaryote promotor en zal niet in het genoom van planten worden ingebouwd en dus ook niet tot expressie komen. Naast de bovengenoemde genen bevat pKGBA50mf-IR1.1 enkele regulatoire sequenties die dienen als startplaats voor replicatie in prokaryoten. Deze zogenaamde 'origins of replication' zijn in planten niet functioneel. De COGEM is van mening dat aan alle criteria voor de beschrijving van de constructen zoals die vereist zijn voor een klasse 3 experiment, wordt voldaan. De COGEM blijft bij haar eerdere signalering in het advies CGM/011029-01 dat in het algemeen de mogelijkheid bestaat dat een getrunceerd KGZ-eiwit tot expressie wordt gebracht en dat in geval van opschaling nadere gegevens omtrent de expressie van dit genproduct moeten worden onderzocht. Een nadere toelichting waarom dit niet van belang is bij onderhavige aanvraag wordt uitgelegd in de paragraaf voorgaande COGEM adviezen (op pagina 2) en in het advies CGM/020612-08.

Schaal van het experiment

Het betreft hier een klasse 3 veldexperiment volgens de indeling zoals die is geformuleerd in het COGEM advies CGM/990518-41. Dit houdt in dat de jaarlijkse maximale omvang van een dergelijke proef 5 hectare bedraagt verspreid over maximaal 9 locaties. Eventuele effecten hoeven niet meer strikt beperkt te blijven tot het proefobject. Om die reden is bij de beoordeling rekening gehouden met de gevolgen van de expressie van de betreffende genen en de schaal van de voorgenomen werkzaamheden, op basis van resultaten uit eerdere proeven met dezelfde of vergelijkbare planten.

Conclusies en Advies

De COGEM heeft tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar. De in het vorige advies (CGM/011029-01) beschreven risicoanalyse was niet specifiek voor het aardappelras Karnico maar is van toepassing op alle nu bekende zetmeelaardappelrassen. Samenvattend acht de COGEM de risico's van deze veldproef voor mens en milieu verwaarloosbaar klein op basis van de volgende argumenten.

Aardappel kruist niet uit naar wilde verwanten. Aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen, maar hierbij dient te worden opgemerkt dat aardappels in Nederland

vegetatief worden vermeerderd. Uit experimenten is gebleken dat een verlaagd amylosegehalte geen effect heeft op de vorstgevoeligheid van aardappelen. De vector is voor een klasse 3 experiment voldoende gekarakteriseerd. Er is een kaart van het construct aangeleverd waaruit blijkt welke combinaties van tot expressie te brengen sequenties, regulatie sequenties en overige selectie elementen zijn gebruikt voor de modificatie. De gevolgen van de expressie van het *kgz* gen kan beoordeeld worden op basis van resultaten uit eerdere proeven met vergelijkbare planten. Hiermee wordt voldaan aan de criteria voor een klasse 3 experiment.

Referenties

- (1) Wesley, SV, Helliwell CA, Smith, NA, Wang, M, Rouse DT, Liu, Q, Gooding PS, Singh, SP, Abbott, D, Stoutjesdijk PA, Robinson, SP, Gleave AP, Green, AG and Waterhouse PM (2001). Construct design for efficient and high-throughput gene silencing in plants. *The Plant Journal* Vol. 27, pp. 581-590.
- (2) Muskens, MWM, Vissers APA, Mol, JNM, Kooter JM. (2000) Role of inverted DNA repeats in transcriptional and post-transcriptional gene silencing. *Plant Molecular Biology* Vol. 43, pp. 243-260.
- (3) Yu, H, Kumar PP. (2003). Post-transcriptional gene silencing in plants by RNA. *Plant Cell Reports* (gepubliceerd online 21 augustus 2003).
- (4) Wassenegger M. and Pélissier T. (1998). A model for RNA-mediated gene silencing in higher plants. *Plant Molecular Biology* Vol. 37, pp. 349-362.
- (5) Matzke M, Matzke, AJM and Kooter JM (2001). RNA: Guiding gene silencing. *Science* Vol. 293, pp. 1080-1083.