

Voorzitter: prof.dr.ir. B.C.J. Zoeteman

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

Uw kenmerk	Uw brief van	Kenmerk	Datum
BGGO 03/11	30 januari 2004	CGM/040303-03	4 maart 2003

Onderwerp
Advies Ontwerpbeschikking BGGO 03/11

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van de ontwerpbeschikkingen BGGO 03/11 en de vergunningaanvraag, getiteld 'Application for the release into the environment of potato event AM99-2003 according to the Genetically Modified Organisms Decree', aangevraagd door BASF Plant Science GmbH te Ludwigshafen, Duitsland, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

Het doel van onderhavige aanvraag is middels veldproeven (klasse 1) de agronomische eigenschappen van de genetisch gemodificeerde aardappelplanten (*Solanum tuberosum*) met een verlaagd amylopectine te evalueren. Tevens zal plantenmateriaal verzameld worden voor verdere analyse en zal vermeerdering van deze aardappelplanten plaatsvinden.

De COGEM is van mening dat aan alle criteria die gesteld worden aan een klasse 1 experiment wordt voldaan. Hiernaast kan de gemodificeerde aardappel niet uitkruisen naar wilde verwanten. De aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen, maar hierbij dient te worden opgemerkt dat aardappels in Nederland vegetatief worden vermeerderd. Aardappelknollen zijn koude-gevoelig en overleven de winter in Nederland gewoonlijk niet. Bovendien is de aanvrager voornemens een isolatieafstand van 20 meter in acht te nemen. De COGEM is mede op basis van eerder beschreven experimenten van mening dat bij de voorgestelde isolatieafstand, de kans op uitkruising naar andere aardappelgewassen verwaarloosbaar klein is.

De COGEM heeft derhalve tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht de risico's 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, appearing to read 'B.C.J. Zoeteman', with a long horizontal flourish extending to the right.

Prof. dr. ir. B.C.J. Zoeteman

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

Titel: Veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylopectinegehalte

COGEM advies: CGM/040303-03

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van kleinschalige veldproeven met genetisch gemodificeerde aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een veranderd zetmeelgehalte. BASF Plant Science GmbH is voornemens aardappelplanten met een veranderd zetmeelgehalte te evalueren en heeft hiertoe drie verschillende aanvragen ingediend: BGGO 03/09, BGGO 03/10, BGGO 03/11. De COGEM zal over elk van de drie afgegeven ontwerpbeslikkingen afzonderlijk adviseren (CGM/040303-01, CGM/040303-02, CGM/040303-03).

Het doel van onderhavige experimenten is middels veldproeven de agronomische eigenschappen van de genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylopectinegehalte te evalueren. Tevens zal plantenmateriaal verzameld worden voor verdere analyse en zal vermeerdering van deze aardappelplanten plaatsvinden. De vergunningaanvraag betreft kleinschalige werkzaamheden in de gemeente Borger-Odoorn.

In aardappelen komen twee soorten zetmeel voor, amylopectine en amylose. De aanvraag omvat aardappelen waarbij de vorming van amylopectine geremd wordt. De aanvrager verwacht met behulp van de genetisch gemodificeerde aardappelen de amylosewinning vereenvoudigd zal worden wat leidt tot een verminderd verbruik van chemicaliën, water en energie.

De COGEM heeft niet eerder over aardappelen met een verlaagd amylopectinegehalte geadviseerd.

Schaal van het experiment

Het betreft hier een klasse 1 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 één hectare bedraagt verspreid over maximaal één locatie. Eventuele effecten moeten beperkt blijven tot het proefobject.

Aspecten van het gewas

De aardappelplant (*Solanum tuberosum*) behoort tot de familie van de *Solanaceae* waartoe ook de tomaat, aubergine, tabak en peper behoren en is als landbouw gewas afkomstig uit Zuid-Amerika (1). *S. tuberosum* is onderverdeeld in twee ondersoorten: *tuberosum* en *andigena*. De ondersoort *tuberosum* wordt in Europa geteeld. In onderhavige experimenten is gebruik gemaakt van het zetmeelras Dinamo als uitgangsras.

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 komt in de Nederlandse flora niet voor, wel heeft zij wilde verwanten: de zwarte nachtschade, (*Solanum nigrum* subsp. *nigrum*), de beklierde nachtschade (*Solanum nigrum* subsp. *schultesii*), bitterzoet (*Solanum dulcamara*), glansbes nachtschade (*Solanum physalifolium*) en driebloemige nachtschade (*Solanum triflorum*) (2). Uitkruising naar deze verwanten is niet mogelijk (3). Uitkruising naar andere gecultiveerde aardappelrassen is wel mogelijk (3). Hierbij dient te worden opgemerkt dat de aardappel in Nederland vegetatief wordt vermeerderd.

Aardappelknollen zijn koude-gevoelig en overleven de winter in Nederland gewoonlijk niet. Alleen tijdens zachte winters zijn aardappelknollen in staat te overleven en het volgende jaar uit te lopen. Bovendien is de aanvrager voornemens een isolatieafstand van 20 meter in acht te nemen. De COGEM is mede op basis van eerder beschreven experimenten van mening dat bij de voorgestelde isolatieafstand, de kans op uitkruising naar andere aardappelgewassen verwaarloosbaar klein is (3). Mocht uitkruising in het zeer onwaarschijnlijke geval wel optreden dan vindt er in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans* verwijdering van aardappelopslag plaats (7). Verwildering van de aardappelplant is in Nederland nog nooit waargenomen.

De COGEM merkt daarnaast op dat in het kader van de verplichte wisselteelt in Nederland zetmeelaardappelen slechts eens in de twee jaar op hetzelfde perceel geteeld mogen worden. De onwaarschijnlijke combinatie van twee zachte winters met een onvolledige verwijdering van aardappelopslag zou kunnen leiden tot incidentele opslag van een kruisingsproduct van de genetisch gemodificeerde aardappel en een gecultiveerd aardappelras. Zoals eerder opgemerkt is verwildering van de aardappelplant in Nederland nog nooit waargenomen. Bovendien is verdere vestiging van dit kruisingsproduct niet mogelijk aangezien in de aardappelteelt gebruik gemaakt wordt van gecertificeerd pootgoed. De scherpe selectieve wijze van vermeerdering van dit pootgoed sluit uit dat zich hierin kruisingsproducten van onderhavige aardappelplant bevinden.

De COGEM wil opmerken dat een verlaging van het amylopectine-gehalte invloed kan hebben op de vorsttolerantie van de aardappelplant. De aanvrager heeft in Zweden veldproeven met onderhavige aardappelplanten uitgevoerd. Hierbij zijn geen verschillen geconstateerd in vorsttolerantie. Ook experimenten uitgevoerd in het laboratorium hebben geen verschillen in vorsttolerantie aangetoond. De aanvrager levert hier echter geen ondersteunende gegevens over aan. Voor een klasse 1 experiment is dit geen vereiste maar de COGEM acht het noodzakelijk dat bij eventuele opschaling van de veldproef gegevens omtrent de vorsttolerantie worden aangeleverd.

Moleculair-biologische aspecten

De genetisch gemodificeerde aardappelplant (AM99-2003) is gegenereerd door middel van een *Agrobacterium* transformatie. Hierbij is gebruik gemaakt van de binaire vector pHAbE12A, welke afgeleid is van de vector pGPTV-KAN.

De pHAbE12A vector bevat naast de pGTV-KAN sequenties de volgende elementen:

- Pgbss, knolspecifieke promotor van het *kzg* gen, afkomstig van *Solanum tuberosum*
- *be1* cDNA in antisense oriëntatie afkomstig van *S. tuberosum*
- *be2* cDNA in antisense oriëntatie afkomstig van *S. tuberosum*
- Tnos, terminator van het nopaline synthase gen (*nospA*), afkomstig van *A. tumefaciens*
- Pnos, constitutieve promotor, afkomstig van *Agrobacterium tumefaciens*
- *nptII* gen, coderend voor neomycine fosfotransferase II, afkomstig van transposon Tn5
- *g7*, terminator afkomstig van *A. tumefaciens*

Beide *be*-genen coderen voor vertakkingsenzymen (branching enzyme EC 2.4.1.8) die betrokken zijn bij de synthese van amylopectine. Deze genen zijn van nature al aanwezig in de aardappelplant. Door het inbrengen van de synthetische *be*-genen in 'antisense' oriëntatie wordt er 'antisense' boodschapper RNA gevormd. Hierbij worden secundaire RNA-structuren gevormd. Als gevolg van de vorming van deze secundaire structuren zijn de transcripten gevoeliger voor intracellulaire degradatieprocessen. Deze processen worden verondersteld de basis te zijn voor het opgewekte 'antisense' effect en daardoor voor de remming van amylopectinevorming in onderhavige aardappelplanten (4,5,6).

De plant bevat tevens het *nptII* gen wat codeert voor neomycine fosfotransferase II. Expressie van het gen resulteert in resistentie tegen kanamycine en neomycine.

De vector (pHAbe12A) die gebruikt is voor de genetische modificatie bevat tevens het antibioticumresistentiegen *nptIII*. Dit gen wordt gebruikt als selectiemarker bij transformatie-experimenten. Expressie van het gen resulteert in resistentie tegen amikacine, kanamycine en neomycine. Het *nptIII* gen is geplaatst op de 'backbone' sequentie van de vector. De aanvrager levert gegevens waaruit blijkt dat het gen niet in het genoom van aardappelplanten is ingebouwd.

Conclusies en Advies

De genetisch gemodificeerde aardappel kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten. De aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen. Hierbij dient opgemerkt te worden dat aardappels in Nederland vegetatief worden vermeerderd. Bovendien is de aanvrager voornemens een isolatieafstand van 20 meter in acht te nemen. De COGEM is mede op basis van eerder gedane experimenten van mening dat bij de voorgestelde isolatieafstand, de kans op uitkruising naar andere aardappelgewassen verwaarloosbaar klein is. Mocht uitkruising in het zeer onwaarschijnlijke geval wel optreden dan vindt er in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans* verwijdering van aardappelopslag plaats.

De COGEM merkt op dat een verlaging van het amylopectinegehalte invloed kan hebben op de vorsttolerantie van de aardappelplant. De aanvrager heeft in Zweden veldproeven met onderhavige aardappelplanten uitgevoerd. Hierbij zijn geen verschillen geconstateerd in vorsttolerantie. Ook experimenten uitgevoerd in het laboratorium hebben geen verschillen in vorsttolerantie aangetoond. De aanvrager levert hier echter geen ondersteunende gegevens over aan. Voor een klasse 1 experiment is dit geen vereiste maar de COGEM acht het noodzakelijk dat bij eventuele opschaling van de veldproef gegevens omtrent de vorsttolerantie worden aangeleverd.

De vector is voor een klasse 1 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 COGEM heeft tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht de risico's van deze veldproef voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Referenties

- (1) T.B. Tutin, N.A. Burges, A.O. Chater, J.R. Edmondson, V.H. Heywood, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M. Walters, and D.A. Webb (1972). *Flora Europaea: Diapensiaceae to Myoporaceae*. Cambridge University Press, Cambridge
- (2) Van der Meijden, R (1996). *Heukels' flora van Nederland*, 22^e druk, Wolters-Noordhof, Groningen
- (3) Consensus Document on the Biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (Potato) No. 8, 1997
- (4) Yu, H, Kumar PP. (2003). Post-transcriptional gene silencing in plants by RNA. *Plant Cell Reports* (22): 167-174
- (5) Wassenegger M. and Pélissier T. (1998). A model for RNA-mediated gene silencing in higher plants. *Plant Molecular Biology* (37): 349-362
- (6) Matzke M, Matzke, AJM and Kooter JM (2001). RNA: Guiding gene silencing. *Science* (293): 1080-1083
- (7) Hoofdproductschap Akkerbouw. Verordening HPA bestrijding *Phytophthora infestans* bij aardappelen 2003