



Commissie Genetische Modificatie

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
C/GB/02/M3/3	23 maart 2004	CGM/040421-01	21 april 2004

Onderwerp  
Advies Marktdossier C/GB/02/M3/3  
Insectresistente en herbicidentolerante maïs NK603 x MON810

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van het dossier C/GB/02/M3/3, 'Insect resistant maize NK603 x MON810' voor de import van genetisch gemodificeerde maïs door Monsanto Europe S.A. adviseert de COGEM als volgt.

**Samenvatting:**

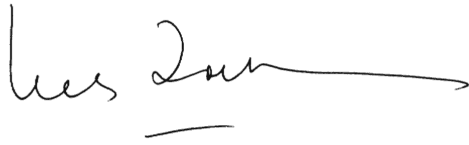
In 2002 heeft Monsanto een aanvraag ingediend voor een markttoelating van import en verwerking van het kruisingsproduct (NK603 x MON810) van de genetisch gemodificeerde maïslijnen NK603 en MON810. De teelt van deze maïslijn maakt geen onderdeel uit van de vergunningaanvraag. Ouderlijn MON810 is door de inbouw en de expressie van het *cryIAb* gen minder gevoelig voor de Europese maïsboorder. De ouderlijn NK603 is door het ingebrachte *cp4 epsps* gen tolerant geworden voor herbiciden met als werkzame stof glyfosaat.

De COGEM acht de risico's voor mens en milieu, bij de import en verwerking van de maïslijn NK603 x MON810, verwaarloosbaar klein.

Maïs heeft in Nederland geen wilde verwanten en opslag van maïsplanten is in Nederland niet van landbouwkundige betekenis. Verwildering van de maïsplant in Nederland is nooit waargenomen. Op grond van praktijkinformatie en ingebrachte eigenschappen zijn er geen redenen om aan te nemen dat de modificatie het verwilderingspotentieel vergroot. Derhalve is de COGEM van mening dat incidenteel morsen van de genetisch gemodificeerde maïs in Nederland geen additionele risico's oplevert. Daarnaast is de veiligheid voor mens en milieu voldoende onderbouwd met betrekking tot de aanwezigheid van de ingebrachte sequenties in onderhavige hybride en de nakomelingen hiervan.

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  
Voorzitter COGEM

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

# **Titel: Marktdossier C/GB/02/M3/3 “Insectenresistente en herbidentolerante maïs NK603 x MON810”**

**COGEM advies: CGM/040421-01**

## **Inleiding**

In 2002 is een aanvraag ingediend door Monsanto Europe S.A. voor import, opslag en verwerking tot producten voor voedings- en voedertoepassingen van de genetisch gemodificeerde hybride maïslijn NK603 x MON810. De teelt van onderhavige maïslijn maakt geen onderdeel uit van de vergunningaanvraag. De maïslijn is ontstaan uit een traditionele kruising van de genetisch gemodificeerde maïslijnen NK603 en MON810. De NK603 maïslijn is door de inbouw en de expressie van het *cp4 epsps* gen tolerant geworden voor herbiciden met als werkzame stof glyfosaat. MON810 is door insertie van het *cryIAb* gen resistent geworden voor bepaalde plaaginsecten uit de orde van de lepidoptera, waaronder de Europese maïsboorder. De maïslijn MON810 is voor import en verwerking reeds toegelaten tot de Europese markt (dossiernummer C/FR/95/12-02).

### *Voorgaande COGEM adviezen*

De COGEM heeft reeds eerder positief over deze maïslijn geadviseerd in het kader van de vrijwillige veevoederbeoordeling (CGM/020912-02). Daarnaast is de import van de maïslijn NK603 op 19 maart 2003 positief beoordeeld (CGM/030319-08). Tevens is in 2003 over de maïslijn MON810, in het kader van een aanvraag voor hybride MON863 x MON810, een positief advies uitgebracht (CGM/031016-04).

## **Aspecten 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). Maïs heeft in Europa geen wilde verwanten. Opslag van maïsplanten is in Europa zelden van landbouwkundige betekenis, en in Nederland in het geheel niet (5,6). Verwildering van de maïsplant is in Nederland nooit waargenomen. Op grond van praktijkinformatie en de ingebrachte eigenschappen zijn er geen redenen om aan te nemen dat de modificatie het verwilderingspotentieel vergroot.

## Moleculaire karakterisering

### *Beschrijving van de geïntroduceerde genen*

Door middel van de transformatie van maïs-embryo's met 'particle bombardment' is de maïslijn NK603 gemodificeerd. Een restrictie-fragment van het plasmide PV-ZMGT32, dat beide *cp4 epsps* expressiecassettes bevat, is in de plant gebracht. De twee cassettes bevatten de volgende sequenties:

- *cp4 epsps* gencassette 1:
  - P-ract1/ract1 intron, promotor en intron afkomstig van *Oryza sativa* (rijst). Het intron bevordert de transcriptie
  - *ctp2*, gen afkomstig van *Arabidopsis thaliana* en coderend voor een chloroplast transit peptide
  - *cp4 epsps*, gen afkomstig van *Agrobacterium tumefaciens* CP4, coderend voor 5-enolpyruvylshikimaat-3-fosfaatsynthase (EPSPS)
  - Nos 3', terminator uit *A. tumefaciens*
- *cp4 epsps* gencassette 2:
  - E35S, constitutieve promotor van het *Cauliflower mosaic virus* (CaMV)
  - *hsp70*, intron afkomstig van *Zea mays*, stabiliseert de transcriptie
  - *ctp2*, gen afkomstig van *A. thaliana* en coderend voor een chloroplast transit peptide
  - *cp4 epsps L214P*, gen afkomstig van *A. tumefaciens* CP4, coderend voor EPSPS
  - Nos 3', terminator uit *A. tumefaciens*, stopt de transcriptie

Daarnaast zijn er een 'origin of replication' en een *nptII* gen aanwezig op de vector. Deze sequenties zijn niet aanwezig op het ingebrachte restrictiefragment en zijn niet bedoeld voor het transformatie proces.

De maïslijn MON810 is tevens gemodificeerd met behulp van 'particle bombardment' Hier is gebruik gemaakt van de vector PV-ZMBK07. Deze vector bevat de volgende elementen:

- E35S, constitutieve promotor van het CaMV
- *hsp7*, intron afkomstig van *Z. mays*, stabiliseert gentranscriptie
- *cryIA(b)* gen, afkomstig van *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. Het gen codeert voor het Cry1Ab  $\delta$ -endotoxine

Daarnaast zijn er wederom een 'origin of replication' en een *nptII* gen aanwezig op de vector. Deze sequenties zijn niet aanwezig op het ingebrachte restrictiefragment.

Aangezien de ouderlijnen NK603 en MON810 geen antibioticumresistentiegenen bevatten zal onderhavige maïslijn NK603 x MON810 eveneens geen antibioticumresistentiegenen dragen.

## *Eigenschappen van de geïntroduceerde genen*

### Insectenresistentie

De insectenresistentie van onderhavige maïslijn is verkregen door de plant genetisch te modificeren met een gen dat codeert voor het Bt-toxine Cry1Ab. Het binden van deze  $\delta$ -endotoxine aan receptoren in de middendarm van insecten, gevolgd door perforering van de darm, is essentieel voor de bestrijding van plaaginsecten.

Onderhavige marktaanvraag betreft het Cry1Ab toxine, dat toxisch is voor bepaalde insecten uit de orde van de *Lepidoptera* (schubvleugeligen) en in het bijzonder voor de larven van de Europese maïsboorder (*Ostrinia nubilalis*) en de ‘pink borer’ (*Sesamia cretica*). De schade, veroorzaakt door deze larve, bestaat daaruit dat de larven een gat in de stengel boren en de stengel uithollen, waardoor de stengels plooien en omvallen.

De Europese maïsboorder is niet van landbouwkundig belang voor Nederland. In Nederland vindt overwegend snijmaïsteelt plaats. De poppen van de maïsboorder (*Ostrinia nubilalis*) worden bij de oogst van deze maïs meegehakseld, waardoor een opbouw van de maïsboorderpopulatie niet kan plaatsvinden. De maïsboorder is daarom in de snijmaïsteelt niet van landbouwkundig belang. Bovendien is het klimaat in Nederland niet optimaal voor de Europese maïsboorder.

Hierbij dient overigens aangetekend te worden dat het bovenstaande aspect in het geval van een extreme klimaatsverandering wel een rol zou kunnen gaan spelen en het advies in dat geval heroverwogen zal moeten worden.

### Herbicidentolerantie

De herbicidentolerantie is verworven door de plant genetisch te modificeren met het *cp4 epsps* gen dat codeert voor 5-enolpyruvylshikimaat-3-fosfaatsyntase (EPSPS). Glyfosaat remt de werking van EPSPS, een enzym in de biosyntheseroute van aromatische aminozuren. Door de remming van het EPSPS worden de aromatische aminozuren niet langer gevormd waardoor de plant zal afsterven. Onderhavige maïslijn brengt het *cp4 epsps* gen tot expressie dat van nature een hoge tolerantie bezit tegen glyfosaat. Toediening van glyfosaat zal bij onderhavige maïslijn niet leiden tot sterfte omdat de plant nog steeds aromatische aminozuren kan produceren (7). EPSPS eiwitten zijn actief in de chloroplasten van een plantencel. Het ingebrachte *ctp2* gen resulteert in het transport van het EPSPS eiwit naar de chloroplast.

### **Conclusies en Advies**

De aanvraag omvat de import van de hybride maïslijn NK603 x MON810 en de verwerking van deze maïs tot producten voor voedings- en voedertoepassingen. Maïs heeft in Nederland geen wilde verwanten en opslag van maïsplanten is in Nederland niet van landbouwkundige betekenis. Verwildering van de maïsplant is in

Nederland nooit waargenomen. Op grond van praktijkinformatie en ingebrachte eigenschappen zijn er geen redenen om aan te nemen dat de modificatie het verwilderingspotentieel vergroot. Derhalve is de COGEM van mening dat incidenteel morsen van de genetisch gemodificeerde maïs in Nederland geen additionele risico's zal opleveren.

Tevens is de COGEM van mening dat de veiligheid voor mens en milieu voldoende onderbouwd is met betrekking tot de aanwezigheid van de ingebrachte sequenties in onderhavige hybride en de F2 generatie. Daarnaast is ook de afwezigheid van backbone-sequenties voldoende onderbouwd.

De COGEM acht, op basis van bovenstaande argumenten, de risico's voor mens en milieu bij de import en verwerking van de maïslijn NK603 x MON810 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) Mannerlöf M, Tuveesson S, Steen P, Tenning P (1997). Transgenic sugar beet tolerant to glyphosate. *Euphytica* **94**: 83-91.