



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            |
| DGM/SAS IM 04-004 | 29 november 2004 | CGM/041221-01 | 21 december 2004 |

Onderwerp  
Advies ontwerpbeschikking DGM/SAS IM 04-004

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van de ontwerpbeschikking DGM/SAS IM 04-004 en de vergunningaanvraag, getiteld 'Beproeving en vermeerdering van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte', van AVEBE b.a. te Veendam, deelt de COGEM u het volgende mee.

#### **Samenvatting:**

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van kleinschalige (klasse 3) veldproeven met genetisch gemodificeerde aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een verlaagd amylosegehalte. Het doel van de voorgenomen werkzaamheden is het testen en vermeerderen van deze aardappelen onder veldomstandigheden.

De genetisch gemodificeerde aardappel kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten. De aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen, maar de kans hierop is zeer beperkt. Uit experimenten is gebleken dat een verlaagd amylosegehalte geen effect heeft op de vorstgevoeligheid van aardappelen. De knollen zijn vorstgevoelig en zullen de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. In de noodzaak om eventuele aardappelopslag uit zaad of achterbleven knollen te verwijderen wordt in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans* voorzien. De COGEM is verder van mening dat aan alle criteria die gesteld worden aan een klasse 3 experiment wordt voldaan.

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 horizontal line underneath the name.

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

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

# **Titel: Testen en vermeerderen van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte**

**COGEM advies: CGM/041221-01**

## **1. Inleiding**

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van veldproeven met genetisch gemodificeerde aardappelplanten (*Solanum tuberosum*) met een gewijzigde zetmeelsamenstelling. De vergunningaanvrager, AVEBE b.a., is van plan om door middel van veldtesten de agronomische eigenschappen te evalueren van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een gewijzigde zetmeelsamenstelling (vergunningaanvraag: BGGO IM 04-004). Tevens zal vermeerdering van de genetisch gemodificeerde aardappelplanten plaatsvinden.

De vergunningaanvraag betreft kleinschalige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde aardappelplanten in de gemeentes Borger-Odoorn, Emmen, Aa en Hunze, Veendam, Pekela en Eemsmond.

De vergunningaanvraag betreft aardappelplanten, waarin het *kgz* gen, dat codeert voor een korrelgebonden zetmeelsynthese (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 technisch 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.

Deze aanvraag verschilt met eerdere vergunningaanvragen, die door de COGEM beoordeeld zijn, omdat er nu twee constructen gebruikt worden die het *kgz* gen in sense en antisense oriëntatie bevatten.

### *Voorgaande COGEM adviezen*

De COGEM heeft in het verleden verschillende keren positief geadviseerd over vergelijkbare vergunningaanvragen. In 2001 heeft de COGEM geadviseerd voor aardappelplanten van het ras Karnico met een verlaagd amylosegehalte (CGM/011129-01; CGM 020612-08). De betreffende vergunning is in juli 2004 vernietigd door de Raad van State op juridische en procedurele gronden. De Raad van

State oordeelde dat in deze vergunning niet inzichtelijk was gemaakt dat de risicoanalyse conform de nieuwe Europese richtlijn 2001/18 is uitgevoerd.

Verder heeft de COGEM in 2003 positief geadviseerd (CGM/030909-01) over een vergunningaanvraag voor veldproeven met alle aardappelzetmeelrassen met een verlaagd amylosegehalte.

In de onderhavige ontwerpbeschikking (IM 04-004) zijn een aantal aanpassingen doorgevoerd waaruit blijkt dat de onderliggende risicoanalyse volgens 2001/18 is uitgevoerd. In dit advies heeft de COGEM inzichtelijk willen maken dat ook zij haar risicoanalyse conform de Europese richtlijn uitvoert.

## **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 en de bijbehorende bijlagen beschreven. Hierin is vastgelegd dat bij de milieurisicobeoordeling zowel gekeken wordt naar mogelijk directe als naar 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 mogelijke schadelijke effecten; een schatting van het risico dat aan elk bepaald kenmerk van het ggo is verbonden; de bepaling van risicomangementmaatregelen; 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 het introduceren van genetische gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte in het milieu. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij is de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van aardappel 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. Ook kan een eiwit mogelijk intact blijven in insecten, waarna het door insecten verspreid kan worden vanuit het proefveld. Mogelijke schadelijke effecten op de bodemmicroflora zouden als gevolg een verstoring in de nutriëntenkringloop in de bodem kunnen hebben.

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.

De COGEM heeft eerder richtlijnen opgesteld voor de beoordeling van veldproefaanvragen met genetisch gemodificeerde planten (CGM/990518-41). In deze richtlijnen worden criteria beschreven voor een klasse-indeling van veldproeven teneinde mogelijke milieurisico's te voorkomen. Indien weinig kennis 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 de onderhavige aanvraag betreft een klasse 3 veldexperiment. Dit houdt in dat de jaarlijkse maximale omvang van de proef vijf hectare bedraagt op slechts tien locaties. In de onderhavige aanvraag wordt verzocht om de werkzaamheden te mogen uitvoeren op negen locaties.

Eventuele effecten hoeven bij een klasse 3 experiment 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.

## **2.1 Eigenschappen 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 landbouwgewas afkomstig uit Zuid-Amerika (1). *S. tuberosum* is onderverdeeld in twee ondersoorten: *tuberosum* en *andigena*. De ondersoort *tuberosum* wordt in Europa geteeld. 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). In Nederland vormt aardappel een belangrijk akkerbouwgewas, waarbij de geteelde variëteiten zijn onder te verdelen in consumptieaardappels en zetmeelaardappels. De laatste categorie wordt met name in noordoost Nederland geteeld.

Aardappel kent de volgende structuren voor verspreiding en overleving: pollen, zaden en knollen. In haar natuurlijke ecosysteem en in de meeste ecosystemen waarin de aardappel als cultuurgewas wordt toegepast, vindt vrijwel altijd knolvorming en in de meeste gevallen ook bloei plaats. In Nederland wordt de aardappel vegetatief vermeerderd. Aardappelknollen zijn koude-gevoelig en overleven de winter in Nederland gewoonlijk niet. Alleen tijdens zachte winters zijn de aardappelknollen in staat te overleven en het volgende jaar uit te lopen (4).

De pollenkorrels van aardappel zijn relatief zwaar en worden verspreid via insecten, met name hommels. Zowel kruis- als zelfbevruchting komt voor bij aardappel al vindt er hoofdzakelijk zelfbestuiving plaats (80-100%) (3). Windbestuiving speelt geen rol van betekenis. Uitkruising met in Nederland voorkomende wilde verwanten van de aardappel is niet mogelijk (4). Tot op heden zijn er in Europa nog geen levensvatbare hybriden gevonden in de natuurlijke systemen (5). Uitkruising naar andere gecultiveerde aardappelrassen is wel mogelijk (4).

Zaden worden niet door vogels verspreid. De zaden die eventueel worden gevormd op de cultuuraardappelen worden niet gebruikt, omdat bij de vermeerdering pootaardappelen worden gebruikt in plaats van zaden. Ook worden de eventuele zaden niet benut voor andere toepassingen. Het loof van de aardappelen, inclusief de bloeiwijzen, met eventuele zaden wordt gewoonlijk voor de oogst afgedood en wordt niet verder benut. Er is aangetoond dat op een perceel zaden kunnen achterblijven die levensvatbaar zijn. Op basis van de ervaringen in de gangbare praktijk wordt verwacht dat een deel van deze zaden in staat is om de winter te overleven en te kiemen.

## **2.2 Eigenschappen van de ingebrachte genen**

Voor het verkrijgen van aardappelen die verminderd amylose tot expressie brengen, zijn de planten genetisch gemodificeerd met behulp van *Agrobacterium tumefaciens*, waarbij gebruik is gemaakt van twee constructen. Als basisvector is in het eerste construct gebruik gemaakt van een plasmide pKGBAmf-IR1.1, welke is afgeleid van de binaire vector pBIN19 en derhalve *nptIII* bevat. Voor het tweede construct is gebruik gemaakt van een plasmide pIRMASmf, welke ook is afgeleid van de binaire vector pBIN19. Op beide vectoren zijn de volgende genen gelegen:

- een knol-specifieke promotor van het *kgz* gen, afkomstig uit *S. tuberosum*;
- *kgz* cDNA afkomstig uit *S. tuberosum* en coderend voor een korrelgebonden zetmeelsynthase. Het *kgz* cDNA is in een 'inverted repeat' configuratie gekloneerd om *kgz* expressie uit te kunnen schakelen. In het eerste construct is een 1.1 kb

5' gedeelte van het *kgz* cDNA in 'sense' oriëntatie met vervolgens het volledig *kgz* cDNA in een antisense configuratie aanwezig, waardoor een inverted repeat ontstaat.

In het tweede construct wordt ook een 'inverted repeat' gevormd door een 617 baseparen fragment (bps. 1070-1687) van het *kgz* cDNA gekloneerd in 'antisense' oriëntatie met vervolgens een 761 baseparen fragment van het *kgz* cDNA (bps. 926-1687) in een 'sense' configuratie.

- *Tnos*, de terminator van het nopalinesynthasegen van het Ti-plasmide uit *Agrobacterium tumefaciens*.

Het *nptIII* gen is geplaatst op de 'backbone' sequentie en zal niet in het genoom van planten worden ingebouwd. Daarnaast staat het *nptIII* gen onder controle van een prokaryote promotor en kan dus ook niet in planten tot expressie komen. Alleen genen die onder controle zijn van een in eukaryote werkzame promotor komen in de plant tot expressie. Naast de bovengenoemde genen bevat pKGBA50mf-IR1.1 en pIRMASmf enkele regulatoire sequenties die dienen als startplaats voor replicatie in prokaryoten. Deze zogenaamde 'origins of replication' zijn in planten niet functioneel. Alleen planten waarvan aangetoond is dat die geen vectorsequenties bevatten zullen in de veldexperimenten gebruikt worden.

Het *kgz* gen codeert voor korrelgebonden zetmeelsynthase (KGZ) wat betrokken is bij de synthese van amylose. Het *kgz* gen is van nature al aanwezig in de aardappelplant. De constructen zijn zodanig ontworpen dat transcriptie wel zal plaatsvinden maar, translatie (omzetting van RNA naar eiwit) van de gevormde transcripten zal waarschijnlijk niet plaatsvinden, als gevolg van de 'inverted repeat' oriëntatie. Dit wordt veroorzaakt door intern hybridiseren van de RNA transcripten, waarbij secundaire structuren gevormd worden die translatie van die transcripten onmogelijk maakt (6,7). 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 amylosevorming in onderhavige aardappelplanten (8, 9,10).

### **3. Overwegingen en advies**

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

Aardappel kan in Nederland niet uitkruisen met wilde verwanten, maar wel met andere gecultiveerde aardappelrassen (4). Echter de kans dat dit zal gebeuren is klein en hierbij dient te worden opgemerkt dat aardappels in Nederland vegetatief worden vermeerderd. Daarnaast zijn aardappelknollen koude-gevoelig en kunnen alleen

achtergebleven aardappelknollen tijdens zachte winters overleven en het volgende jaar uitlopen (4).

Opslagplanten kunnen ontstaan uit levensvatbare knollen dan wel uit zaden die zijn achter gebleven op het perceel of in de directe omgeving. Aardappelopslag uit knollen is onderscheidbaar van opslag uit zaad. Aan opslag uit zaad zitten cotylen, terwijl die niet zitten aan opslag uit knollen. Onder omstandigheden (bijvoorbeeld bij aardappelrassen die veel zaad zetten) is het merendeel van de opslagplanten afkomstig van opslagzaad. Opslagplanten worden met name aangetroffen na een zachte winter. Echter, in het kader van de verplichte bestrijding van de aardappelmoeheidsziekte, zoals is vastgelegd in de "Verordening Hoofdproductschap Akkerbouw bestrijding *Phytophthora infestans* bij aardappelen 2003", wordt eventuele aardappelopslag routinematig verwijderd. Controle op uitvoering van de opslagbestrijding wordt uitgevoerd door de Plantenziektenkundige Dienst. Een onderdeel van deze *Phytophthora* bestrijding is dat tenminste twee jaar geen aardappelteelt op hetzelfde veld mag plaatsvinden. In de praktijk blijkt dat aardappelopslag doelmatig bestreden wordt. Aardappel kan zich in Nederland niet handhaven. Verwildering, het proces waarbij zich vanuit cultuurpopulaties beklijvende wilde populaties ontwikkelen, is in Nederland dan ook niet waargenomen bij aardappel.

Eerdere experimenten hebben uitgewezen dat een verlaagd amylosegehalte niet van invloed is op de vorstgevoeligheid van aardappelknollen (11). De COGEM heeft in 1995 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 haar mening bevestigd in een later advies (CGM/990112-01) 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.

### **3.2 Overweging van mogelijke risico's van de ingebrachte genen**

De aardappelplanten zijn genetisch gemodificeerd met behulp van het plasmide pKGBA50mf-IR1.1 of het plasmide pIRMASmf, die beide afgeleid zijn van de vector pBIN19. Op beide vectoren zijn verschillende delen van het *kgz* cDNA gebruikt voor het antisense (RNAi) construct en is het *nptIII* gen aanwezig. Alleen het *kgz* 'inverted repeat' construct is onder controle van een in eukaryoten werkzame promotor en komt tot expressie in planten. Het *nptIII* gen is geplaatst op de 'backbone' sequentie onder controle van 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 aanvrager zal alvorens de genetisch gemodificeerde



aardappelplanten in het veld worden gezet gegevens aanleveren waaruit blijkt dat het *nptIII* gen en andere op de 'vectorbackbone' gelegen sequenties niet aanwezig zijn in de genetisch gemodificeerde aardappelplanten. De COGEM is van mening dat aan alle criteria voor de beschrijving van de constructen zoals die vereist zijn voor een klasse 3 experiment, worden voldaan.

De COGEM heeft in een eerder advies (CGM/011029-01) 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.

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 verwaarloosbaar klein zijn. Het betreft een soort-eigen eiwit, derhalve zullen getrunceerde eiwitten potentieel ook in wild-type aardappelen voorkomen. 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 delen van het eiwit.

Uit eerdere beoordelingen is 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.

### **3.3 Advies**

Het betreft een vergunningaanvraag voor veldexperimenten met genetisch gemodificeerde aardappelen met verlaagd amylosegehalte. Er zijn geen redenen te veronderstellen dat de verlaging van het amylosegehalte in aardappelknollen zal leiden tot verwildering. De knollen zijn vorstgevoelig en zullen de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. Alleen tijdens zachte winters zijn de aardappelknollen in staat te overleven en het volgende jaar uit te lopen. Uit experimenten is gebleken dat een verlaagd amylosegehalte geen effect heeft op de vorstgevoeligheid van de aardappelen. De genetisch gemodificeerde aardappel kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten. De aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen, maar de kans daarop is klein. Eventuele opslag uit zaad of achtergebleven knollen zal

worden bestreden in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans*. In de praktijk blijkt dat deze aardappelopslag effectief bestreden wordt.

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.

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. 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<sup>e</sup> druk, Wolters-Noordhoff, Groningen
3. Plaisted R.L. (1980). Potato. In: Fehr WR & Hadley HH (Eds). Hybridization of crop plants. Am. Soc. Agr. Wisconsin. USA
4. Consensus Document on the Biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (Potato) No. 8, 1997
5. Botanical Files de Vries, F.T., van der Meijden R., Brandenburg, W.A, Gorteria, supplement 1. 1992
6. 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.
7. 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.
8. Yu, H, Kumar PP. (2003). Post-transcriptional gene silencing in plants by RNA. *Plant Cell Reports* (22): 167-174
9. Wassenegger M. and Pélissier T. (1998). A model for RNA-mediated gene silencing in higher plants. *Plant Molecular Biology* (37): 349-362.
10. Matzke M, Matzke, AJM and Kooter JM (2001). RNA: Guiding gene silencing. *Science* (293): 1080-1083
11. verslag Karna in het kader van vergunning BGGO 93/14, d.d. 22 december 1994, kenmerk WMS9415/ph