

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

DATUM 28 april 2006

KENMERK CGM/060428-05

ONDERWERP Signalering 'Vereenvoudiging van regelgeving bij cisgenese, een reële optie?'

Geachte heer Van Geel,

Hierbij bied ik u de signalering "Vereenvoudiging van regelgeving bij genetische modificatie met planteigen genen, cisgenese, een reële optie?" aan.

Samenvatting:

Momenteel staat een speciale vorm van genetische modificatie, de zogenaamde cisgenese, in de belangstelling als mogelijkheid om tot vereenvoudiging van geldende voorschriften te komen. Bij cisgenese worden planten gemodificeerd met DNA van de plantensoort zelf of van kruisbare soorten. De Staatssecretaris van VROM heeft een beleidsvoornemen naar de Tweede Kamer gestuurd waarin hij aangeeft tezamen met de COGEM te willen onderzoeken of cisgene planten in aanmerking komen voor een vrijstelling van de ingeperkt gebruik vergunningplicht. In dit kader heeft de COGEM deze technisch-wetenschappelijke signalering opgesteld waarin de risico's van cisgene gewassen voor mens en milieu in kaart worden gebracht. In lijn hiermee worden eventuele opties voor versoepeling van de regelgeving in het geval van cisgene gewassen besproken.

De COGEM is van mening dat cisgene planten in sommige gevallen geen groter risico voor mens of milieu met zich brengen dan traditioneel veredelde gewassen. In deze gevallen is het een optie cisgene planten van onderdelen van de regelgeving vrij te stellen. Eén van de vereisten hierbij is dat het geïnserteerde functionele DNA in zijn geheel uit een donorplant afkomstig is en niet opgebouwd mag zijn uit meerdere DNA-fragmenten.

Met de huidige transformatietechnieken komen er naast planteigen sequenties soms ook noodzakelijkerwijs soortvreemde sequenties mee in de plant (T-DNA borders). Door insertie van deze sequenties is het theoretisch mogelijk dat allergene of toxische effecten optreden. De COGEM acht verder overleg met experts op het gebied van voedselveiligheid en toxicologie noodzakelijk om zo gezamenlijk de eventuele risico's voor voedselveiligheid in kaart te kunnen brengen.

De COGEM merkt op dat vrijstelling van vormen van cisgenese van de regelgeving maatschappelijk niet onomstreden is. In deze signalering gaat zij hier kort op in. Binnenkort zal de COGEM een signalering uitbrengen waarin de ethische en maatschappelijke aspecten van cisgenese nader worden verkend.

Deze signalering wordt u toegezonden naar aanleiding van uw notitie van 21 november jl. aan de Tweede Kamer 'Verantwoord en zorgvuldig vereenvoudigen van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen', waarin u aankondigt dat u samen met de COGEM wil onderzoeken of de bestaande vrijstelling voor zelfklonering onder Ingeperkt Gebruik uitgebreid kan worden naar cisgene planten.

Hoogachtend,



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

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. R.C. Zwart
Dr. C.P. Veerman, Minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit
Mr. L.J. Brinkhorst, Minister van Economische Zaken

Vereenvoudiging van regelgeving bij genetische modificatie met planteigen genen, cisgenese, een reële optie?

COGEM signalering CGM/060428-05

Commissie Genetische Modificatie (COGEM)

De COGEM heeft tot taak de regering te adviseren over de risicoaspecten van genetisch gemodificeerde organismen en te signaleren over ethische en maatschappelijke aspecten van genetische modificatie (Wet milieubeheer §2.3).

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1. Inleiding	9
2. Genetische modificatie en de risicoanalyse	11
3. Dynamiek van het plantengenoom	13
3.1 ‘Transposable elements’	13
3.2 Meiotische recombinatie	15
3.3 Recombinatie in somatische cellen	16
3.4 Polyploidisatie	16
3.5 Verschil in genaantal tussen verschillende organismen	17
4. Traditionele veredeling	19
5. Genoomveranderingen door genetische modificatie	23
6. Genetische modificatie met planteigen genen	27
6.1 Definitie cisgene planten	27
6.2 Analyse ingebracht DNA	27
6.3 Vergelijking genoomveranderingen	28
6.4 Aanwezigheid van vreemde sequenties	29
6.5 Conclusies	30
7. Opties voor eventuele vereenvoudiging regelgeving	33
7.1 Ingeperkt gebruik	33
7.2 Veldexperimenten	34
7.3 Toelating op de markt	35
7.4 Conclusies	36
8. Ethische en maatschappelijke aspecten	39
8.1 Ethische en maatschappelijke discussie	40
Referenties	43

Samenvatting

Cisgenese, een speciale toepassing van genetische modificatie, staat de laatste maanden steeds meer in de belangstelling. Bij cisgenese wordt een plant gemodificeerd met coderende DNA-sequenties uit de soort zelf of met DNA van kruisbare soorten. Dit in tegenstelling tot de meeste genetisch gemodificeerde (gg) gewassen die soortvreemd DNA, bijvoorbeeld afkomstig van bacteriën, bevatten en daardoor transgeen zijn.

Sommige deskundigen stellen dat cisgene planten veel lijken op traditioneel veredelde gewassen en dat zij geen grotere risico's voor mens en milieu met zich mee dragen dan de traditioneel veredelde gewassen. Indien dit het geval is, kan overwogen worden cisgenese als techniek geheel of gedeeltelijk vrij te stellen van de regelgeving voor genetisch gemodificeerde organismen. Dit kan bijvoorbeeld gevolgen hebben voor de etiketteringsplicht of de milieurisicobeoordeling.

Cisgenese is ook op de politieke agenda geplaatst. Staatssecretaris Van Geel heeft op 21 november 2005 een brief naar de Tweede Kamer gestuurd, waarin hij aangeeft samen met de COGEM te willen onderzoeken of er een vrijstelling kan gelden voor het ingeperkt gebruik van cisgene planten.

Met deze signalering brengt de COGEM mogelijke risico's van cisgenese in vergelijking met traditioneel veredelde gewassen in kaart. Hiernaast worden opties voor versoepeling van de regelgeving voor het ingeperkt gebruik alsmede de introductie in het milieu (veldproeven en marktintroducties) geschetst.

Risicoanalyse

Alleen wanneer de veiligheid voor mens en milieu gewaarborgd is tijdens de vervaardiging, kweek, teelt of consumptie van een gg-gewas wordt hiervoor een vergunning afgegeven. Om de risico's te kunnen bepalen, wordt een risicoanalyse uitgevoerd. Bij experimenten in de categorie 'ingeperkt gebruik' worden de verspreiding van het genetisch gemodificeerde organisme (ggo) en daarmee de risico's voorkomen door inperkende maatregelen op te stellen. De karakteristieken (bv. wind- of zelfbestuiver) van het gewas spelen daarbij een grote rol. Het geïnserteerde DNA is voor de milieurisicobeoordeling van ondergeschikte betekenis.

Bij introductie in het milieu (veldexperimenten of introductie op de Europese markt) zijn de mogelijkheden tot het opleggen van inperkende maatregelen gering tot afwezig. Om de risico's te kunnen bepalen, wordt daarom onder meer gekeken naar de eigenschappen van het ingebrachte gen.

De bijeffecten van de transformatietechniek worden ook in ogenschouw genomen, omdat bekend is dat modificatietechnieken kunnen leiden tot

veranderingen in het plantengenoom. Zo is het mogelijk dat het geïnserteerde DNA in een coderende regio van het genoom terecht komt. Hierdoor kunnen open leesramen verstoord raken of kan een fusie tussen twee leesramen plaatsvinden met als gevolg de vorming van nieuwe eiwitten die nog niet in de plant voorkwamen. Ook kunnen mutaties optreden. Dit alles kan tot gevolg hebben dat een plant nieuwe eigenschappen verwerft waardoor deze bijvoorbeeld invasiever wordt, een veranderde fitness verkrijgt of een effect op niet-doelwitorganismen veroorzaakt.

Wanneer een gg-gewas aan een risicoanalyse wordt onderworpen, fungeert de traditionele veredelingspraktijk voor een introductie in het milieu als referentiekader. De effecten die zouden kunnen optreden door toepassing van de genetische modificatie, worden daarom afgezet tegen de verwachte effecten van de traditionele veredeling. Het toepassen van andere referentiekaders dan de traditionele veredeling is ook denkbaar. Omdat het referentiekader van de traditionele veredeling echter is vastgelegd in Europese en nationale wetgeving hanteert de COGEM dit kader.

Genoomveranderingen door veredeling en natuur

Om een goede vergelijking te kunnen maken met de traditionele veredeling zijn de genoomveranderingen geïnventariseerd die van nature optreden of geïnduceerd worden door veredelingstechnieken. Uit deze inventarisatie komt naar voren dat het plantengenoom aan veranderingen onderhevig is. Vele processen, zoals transposonactiviteit en genfusie, kunnen bijdragen aan het ontstaan van nieuwe open leesramen. Stressfactoren zoals UV-licht en vraat, maar ook ziekteverwekkers en weefselkweek, kunnen de mutatiefrequentie van een plant verhogen. Dit kan resulteren in chromosoombreuken en inserties, deleties of duplicaties van DNA-fragmenten. Ook recombinatie in somatische cellen kan leiden tot mutaties. In de veredeling worden door middel van straling of chemische mutagentia kunstmatig mutaties aangebracht voor het verkrijgen van nieuwe cultivars met verbeterde eigenschappen.

De COGEM merkt op dat bovenstaande technieken zoals weefselkweek en mutagenese, op zich ook leidend tot ingrijpende wijzigingen in het genoom, zijn vrijgesteld van de regelgeving. Toelating van traditioneel veredelde gewassen vindt plaats op basis van fenotypische eigenschappen. Uitgebreide moleculaire karakterisering of toxiciteitstesten zijn hierbij niet vereist.

Genoomveranderingen door transformatie

Planten kunnen op verschillende manieren genetisch getransformeerd worden. Bij transformatie met behulp van de bacterie *Agrobacterium tumefaciens* als vector worden zogenaamde T-DNA borders samen met het gen van interesse in de plant gebracht. Bij gebruikmaking van de ‘particle bombardment-methode’

wordt het DNA gehecht aan kleine metalen bolletjes die vervolgens met een zogenaamde ‘particle gun’ in gastheercellen worden geschoten.

Door toepassing van genetische modificatie kunnen veranderingen in het plantengenoom ontstaan. Chromosoomherschikkingen en deleties van de insertieplaats of van chromosomaal DNA zijn aangetroffen. Hiernaast zijn deleties of duplicaties van de T-DNA borders waargenomen. T-DNA borders zijn sequenties van de *Agrobacterium* vector die samen met het gen van interesse in de plant worden ingebouwd. Ze zijn van soortvreemde origine en hebben een geringe lengte (doorgaans 2 of 24 basenparen). Al deze veranderingen kunnen leiden tot planten met nieuwe eigenschappen.

Als gevolg van de hierboven genoemde transformatiemethoden kunnen ook vaak delen van de ‘vector backbone’ in de plant worden ingebouwd. ‘Backbone sequenties’ zijn delen van de vector die tijdens het transformatieproces ongewenst in de plant terecht kunnen komen.

Vergelijking veredeling en cisgenese

Een cisgene plant is gemodificeerd met coderende sequenties van de plantensoort zelf of van kruisbare verwanten. De ingebrachte sequenties staan onder controle van hun eigen regulatiesignalen (promotor of terminator) en bevatten hun eventuele eigen intronen. Een voorwaarde hierbij is dat de functionele sequenties in hun geheel uit een donorplant afkomstig zijn en niet zijn opgebouwd uit meerdere DNA-fragmenten. Tevens geldt als voorwaarde dat de sequenties middels traditionele veredelingstechnieken in de plant kunnen worden ingebracht.

Hierdoor kan de plant louter op basis van het ingebrachte DNA geen eigenschappen verkrijgen die niet (kunnen) voorkomen in de soort zelf of in kruisbare soorten. De technisch-wetenschappelijke bepaalde risico’s voor het milieu van cisgene gewassen zijn hiermee niet groter dan de risico’s van traditioneel veredelde planten.

Wanneer gekeken wordt naar de beoogde gevolgen van cisgenese is de COGEM van mening dat de genoomveranderingen die hierdoor ontstaan, overeenkomsten vertonen met de veranderingen geïnduceerd door de traditionele veredeling. Er zullen geen open leesramen ontstaan die in principe ook niet onder natuurlijke omstandigheden of via traditionele veredeling tot stand kunnen komen.

De aanwezigheid van ‘backbone sequenties’ in de cisgene plant is geen vereiste voor het verkrijgen van de gewenste eigenschappen. De COGEM is daarom van mening dat cisgene planten geen ‘backbone sequenties’ mogen bevatten.

Het is momenteel nog niet mogelijk om op grote schaal *Agrobacterium* transformaties uit te voeren waarbij de gg-planten vrij zijn van T-DNA borders.

Vanwege de geringe lengte van de border en de ervaring die is opgedaan met de vele gg-planten die met *A. tumefaciens* zijn getransformeerd, verwacht de COGEM dat de aanwezigheid van deze sequenties geen veranderingen in biologische eigenschappen, zoals persistentie en verwildering, tot gevolg zal hebben. De COGEM is daarom van mening dat de milieurisico's van cisgene planten met T-DNA borders van *Agrobacterium* niet groter zullen zijn dan die van traditioneel veredelde planten.

Theoretisch is het echter mogelijk dat als gevolg van de aanwezigheid van T-DNA borders allergene producten ontstaan. Hoewel er geen praktijkvoorbeelden bestaan dat transformatie leidt tot allergeenvorming en de COGEM deze kans daarom zeer klein acht, bestaat over de afwezigheid van allergeenvorming op dit moment geen zekerheid. De COGEM pleit ervoor tot een nadere oordeelsvorming over de risico's van allergeenvorming te komen. De COGEM stelt voor experts in dit veld, waaronder voedingsdeskundigen, te raadplegen om gezamenlijk kennis over deze materie te inventariseren en eventuele kennislacunes in kaart te brengen.

Mogelijkheden tot vereenvoudiging van de regelgeving

Omdat cisgene planten overeenkomsten vertonen met planten die veredeld zijn op traditionele wijze, ontstaan er naar de mening van de COGEM op technisch-wetenschappelijke gronden opties om de regelgeving van ggo's op sommige plaatsen te versoepelen. De COGEM maakt hierbij onderscheidt tussen cisgene planten met en cisgene planten zonder T-DNA borders.

Om vast te stellen tot welke groep een cisgene plant behoort, is een moleculaire karakterisering noodzakelijk waarin bepaald wordt of de plant T-DNA borders bevat.

Indien de cisgene plant geen T-DNA borders bevat, is de COGEM van mening dat de risico's van cisgenese niet groter zijn dan de risico's die ontstaan door toepassing van de traditionele veredeling. In het geval van experimenten die vallen onder het ingeperkt gebruik, acht de COGEM het op basis van de technisch-wetenschappelijk bepaalde milieurisico's geoorloofd dergelijke cisgene planten na vervaardiging te houden in een ruimte waaraan geen inperkingsmaatregelen conform de ggo-richtlijnen toegekend zijn. Voor de kweek van deze planten zou vanuit die overweging geen vergunning noodzakelijk zijn.

Voor de introductie in het milieu zoals omschreven in de Europese Richtlijn 2001/18/EG, ziet de COGEM in lijn met deze gedachtegang het vrijstellen van deze cisgene planten als logische vervolgstap. Het uitvoeren van veldproeven in het kader van de milieurisicobeoordeling zou voor deze planten dan niet meer noodzakelijk zijn. Veldproeven blijven in dat geval wel vereist voor rassen-

registratie e.d.. Als cisgene planten worden vrijgesteld kan dit implicaties hebben voor de etiketteringsplicht. In de signalering over de ethische en maatschappelijke aspecten van cisgenese die de COGEM voornemens is uit te brengen, zal hier nader op worden ingegaan.

Indien de cisgene plant wel T-DNA borders bevat, zijn de technisch-wetenschappelijke mogelijkheden tot versoepeling van de regelgeving in de ogen van de COGEM beperkter. Bij het ingeperkt gebruik kan geen vereenvoudiging plaatsvinden omdat uitkruising voorkomen moet worden opdat eventuele allergenen niet in kruisbare verwanten terecht komen. Vrijstelling van richtlijn 2001/18/EG is bij deze planten eveneens niet mogelijk. Wanneer geen gegevens beschikbaar zijn, zal eerst een veldproef moeten worden uitgevoerd waarbij uitkruising voorkomen wordt zodat eventuele allergenen niet in het milieu geïntroduceerd worden. Bij marktintroducties zouden testen op bodem- en niet-doelwitorganismen niet meer noodzakelijk zijn. Ook eventuele verandering in persistentie of veronkruiding hoeft vanuit de ontwikkelde gedachtegang niet te worden onderzocht. Gezien de theoretische kans dat allergene effecten kunnen optreden, is een volledige moleculaire karakterisering wel noodzakelijk.

Ethische en maatschappelijke aspecten

De COGEM signaleert dat het vooralsnog onduidelijk is hoe burgers tegen cisgenese aankijken. Er wordt wel verondersteld dat er minder maatschappelijke bezwaren zullen zijn, omdat cisgene producten geen genetisch materiaal uit andere organismen bevatten. Hierover zijn echter nog geen gegevens voorhanden.

Cisgene planten blijven technisch gezien het resultaat van genetische modificatie. Tegenstanders van het proces van genetische modificatie kunnen daarom tegen cisgenese dezelfde ethische bezwaren hebben als tegen transgenese. Het is belangrijk deze bezwaren te onderkennen en serieus te nemen.

Bij het ontwikkelen van het beleid voor maatschappelijk omstreden technologische innovaties kunnen daarom interacties tussen beleidsmakers, wetenschappers en publiek een waardevolle bijdrage leveren¹. Hiernaast is het raadzaam zich niet te beperken tot specifieke vragen maar ook achterliggende bredere thema's ('wider issues') van cisgenese te bespreken met als doel gedeelde ambities te formuleren. Dit teneinde tot een breed gedragen beleidsstandpunt te komen.

¹ De COGEM heeft over dit onderwerp eerder een signalering (CGM/050408/04) uitgebracht getiteld: "De Farm Scale Evaluations geëvalueerd. Wat mag het beleid verwachten van wetenschap bij maatschappelijk omstreden technologische innovaties?"

De COGEM heeft het voornemen medio 2006 een signalering uit te brengen waarin de ethische en maatschappelijke aspecten van cisgenese aan bod zullen komen.

1. Inleiding

Sinds enkele maanden is er in Nederland een debat gaande over een nieuwe toepassing van genetische modificatie, de zogenaamde cisgenese. Cisgene planten zijn gemodificeerd met DNA van de plantensoort zelf of met DNA van verwante kruisbare soorten. Cisgenese is een variant op transgenese waarbij de modificatie plaatsvindt met soortvreemd DNA, bijvoorbeeld afkomstig van bacteriën.

De discussie richt zich onder meer op de risicoaspecten van cisgene planten (1). Het is de vraag of cisgene planten gelijke milieurisico's met zich meebrengen als traditioneel veredelde planten. Wanneer dit het geval zou zijn, bestaan er wellicht mogelijkheden om cisgenese als techniek geheel of gedeeltelijk vrij te stellen van bepalingen in de regelgeving voor genetisch gemodificeerde organismen. Dit kan tevens implicaties hebben voor de etiketteringsplicht van cisgene gewassen.

Cisgenese is ook op de politieke agenda geplaatst. Op 21 november 2005 heeft Staatssecretaris Van Geel de notitie 'Verantwoord en zorgvuldig vereenvoudigen van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen' naar de Tweede Kamer gestuurd (2). In deze notitie geeft hij onder meer aan samen met de COGEM te willen onderzoeken of de bestaande vrijstelling van het ingeperkt gebruik voor micro-organismen die genetisch gemodificeerd met "eigen genen" kan worden uitgebreid naar planten.

De COGEM brengt deze signalering uit teneinde een beter inzicht te verschaffen in cisgenese en de mogelijke gevolgen van deze techniek. In deze signalering zal de COGEM ingaan op de verschillen en de overeenkomsten tussen cisgene planten en traditioneel veredelde gewassen. Er zal worden stilgestaan bij veranderingen die van nature in het plantengenoom worden aangebracht. Tevens zullen de genetische veranderingen die optreden door toedoen van traditionele veredelings technieken en genetische modificatie beschreven worden. De veranderingen die optreden bij beide technieken zullen worden vergeleken en hieruit kunnen de technisch-wetenschappelijke risico's van cisgene planten voor het milieu vervolgens worden afgeleid.

Ten slotte zal de COGEM ingaan op mogelijke opties die bestaan om de regelgeving rond cisgene planten te vereenvoudigen. Hierbij zal zij aandacht besteden aan de mogelijke vereenvoudiging in het geval van ingeperkt gebruik en introductie in het milieu (veldproeven en marktintroducties).

2. Genetische modificatie en de risicoanalyse

Voordat een genetisch gemodificeerd (gg) gewas vervaardigd, gekweekt, geteeld of op de Europese markt mag worden toegelaten, dient een vergunningprocedure doorlopen te worden. De veiligheid voor mens en milieu staat hierbij centraal. Alleen wanneer de veiligheid voor mens en milieu gewaarborgd is, wordt er een vergunning afgegeven. Er is hierbij onderscheid te maken tussen vergunningen voor het ingeperkt gebruik en vergunningen voor een introductie in het milieu waar veldveldproeven en toelating tot de markt toe behoren.

Inherent aan experimenten die gedaan worden onder ingeperkt gebruik is dat de verspreiding van de plant wordt voorkomen. Afhankelijk van de karakteristieken van de plant worden hiervoor maatregelen genomen. Zo is het mogelijk verspreiding van pollen door wind tegen te gaan door de bloeiwijze te verwijderen of de bloeiwijzen te omhullen. Insectenbestuiving kan voorkomen worden door de planten bijvoorbeeld te plaatsen in een insectendichte kas.

Bij een introductie in het milieu zijn de mogelijkheden om verspreiding tegen te gaan beperkt omdat hier in de meeste gevallen inperkende maatregelen ontbreken. De risico's worden hier dan ook op een andere manier bepaald. De traditionele veredelingspraktijk fungeert als referentiekader. De effecten die zouden kunnen optreden door toepassing van de genetische modificatie worden dan afgezet tegen de verwachte effecten van de traditionele veredeling. Andere referentiekaders zoals de biologische landbouw zijn echter ook denkbaar. Omdat het referentiekader van de traditionele veredeling verankert ligt in de Europese regelgeving (Richtlijn 2001/18/EG) hanteert de COGEM dit kader.

Bij deze risicoanalyse wordt gekeken naar de kans op verspreiding van het gen door gg-pollen of zaden en de mogelijke veranderingen in persistentie en invasiviteit van de plant. Daarnaast wordt gekeken naar eventuele nadelige effecten indien verspreiding van de ingebrachte genen in het milieu zou optreden. Ook mogelijke indirecte effecten zoals op niet-doelwitorganismen die zouden kunnen leiden tot een verstoring van voedselketens of ecosystemen worden beoordeeld. Mogelijke schadelijke effecten op de bodemflora zoals een verstoring in de nutriëntenkringloop in de bodem worden ook meegenomen.

Om bovenstaande aspecten te kunnen beoordelen wordt een aantal factoren in ogenschouw genomen. Zo worden de kenmerken van de ingebrachte genen beoordeeld en wordt gekeken wat de mogelijke effecten van deze genen kunnen zijn. De karakteristieken van de gastheerplant en mogelijk aanwezige (wilde) verwante soorten worden beschouwd. Ook de gevolgen van de modificatietechniek worden geëvalueerd. Bij de huidige modificatietechnieken is het niet voorspelbaar waar het gen van interesse in de plant geïnserteerd wordt. Het is

mogelijk dat introductie van het DNA in een coderende regio van het genoom plaatsvindt. Hierdoor kunnen genen verstoord raken of kan een fusie tussen twee genen plaatsvinden met het gevolg dat er nieuwe eiwitten gevormd worden die nog niet in de plant voorkwamen. Ook kunnen mutaties optreden als gevolg van de modificatie. Dit alles zou tot gevolg kunnen hebben dat een plant nieuwe eigenschappen verwerft waardoor deze invasiever kan worden, een veranderde fitness kan verkrijgen of een effect op niet-doelwitorganismen of bodemorganismen kan veroorzaken.

3. Dynamiek van het plantengenoom

Niet alleen door genetische modificatie worden wijzigingen in het genoom geïnduceerd. Het plantengenoom is van nature ook voortdurend aan veranderingen onderhevig. Deze veranderingen zijn onder meer noodzakelijk om genetische diversiteit binnen een populatie te bewerkstelligen. In gevallen van stress zal een plant zich moeten aanpassen om zich in de populatie te handhaven. Onderzoek heeft aangetoond dat verschillende stressfactoren genoomveranderingen kunnen induceren. Hiernaast heeft het plantengenoom evolutionair gezien een groei doorgemaakt.

Hieronder zullen enkele factoren die verantwoordelijk zijn voor de dynamiek van het plantengenoom besproken worden. Deze gegevens vormen samen met de effecten die optreden door toepassing van de traditionele veredeling (hoofdstuk 4), het referentiekader voor de risicoanalyse.

3.1 ‘Transposable elements’

Het genoom van elk organisme bevat vele tot zeer vele ‘transposable elements’ ook wel transposons genoemd. Transposons zijn DNA sequenties die zich kunnen bewegen door het genoom van een cel. In planten met een groot genoom, zoals maïs en tarwe, kunnen transposons respectievelijk 80% en 90% van het totale genoom vormen (3).

Er bestaan vele verschillende typen transposons en ze zijn allen in staat zich van één plaats in het genoom te verplaatsen naar een andere plaats. Hiernaast bezitten zij het vermogen om zichzelf te vermenigvuldigen (4).

In planten komen twee klassen transposons voor. De eerste klasse bevat de zogenaamde retrotransposons die zich verplaatsen middels een RNA intermediair. Hierbij produceert het transposon een RNA kopie van zichzelf. Dit RNA molecuul wordt met behulp van het enzym reverse transcriptase omgezet in een DNA kopie dat vervolgens in het genoom geïnserteerd wordt. De andere klasse (klasse II) verplaatst zich met behulp van een DNA-DNA mechanisme. Hierbij maakt de transposon een DNA kopie van zichzelf dat vervolgens geïntegreerd wordt op een andere plek in het genoom. Een bekend transposon systeem in deze klasse is het *Ac/Ds* systeem van maïs waar zeer veel onderzoek naar is verricht (4).

Transposons bezitten verschillende voorkeuren voor een insertieplaats in het genoom. Klasse II elementen inserteren bij voorkeur in gebieden in het genoom die ongemethyleerd zijn en genetisch actief. (4). Dit zijn genenrijke gebieden waar zich in het algemeen weinig repetitief DNA bevindt. Sommige retrotransposons bezitten ook deze voorkeur. Een bepaalde klasse retrotransposons

die het meest voorkomt in het maïsgenoom, de zogenaamde ‘intergene long terminal repeat retrotransposons’ (IRPs), bezitten deze eigenschap echter niet. Zij hebben een voorkeur om zich te inserteren in de zogenaamde ‘long terminal repeats’ (LTRs) van andere retrotransposons. LTRs zijn repeterende sequenties die zich bevinden op het uiteinde van een transposon. Ze worden verondersteld een essentiële rol te hebben in de integratie van het transposon in het genoom.

Transposons zijn over het algemeen niet actief. Dit komt mede door epigenetische regulatie waarbij methylatie van de transposon plaatsvindt. Door stressfactoren, de zogenaamde ‘genomic shock’ kunnen transposons echter weer gereactiveerd worden (5). Externe stressfactoren zoals draai, UV licht, ziekteverwekkers, temperatuurschommelingen alsmede interne stressfactoren zoals het ontstaan van een DNA-breuk of polyploidisatie dragen hier aan bij.

Wanneer (re)-activering optreedt, kan dit grote effecten op zowel gen- als chromosoomniveau bewerkstelligen. De mate waarin transposons effecten zullen sorteren, zal afhangen van de transposonactiviteit en van de vraag of de activiteit plaatsvindt in plantenweefsels die bijdragen aan een volgende generatie.

Veranderingen op genniveau

Genen kunnen rechtstreeks beïnvloed worden doordat een transposon in een gen inserteert en daarmee de genexpressie modificeert. Klasse II elementen bezitten hiernaast het vermogen om na insertie het genoom weer ‘te verlaten’ en op een andere plek in het genoom te inserteren. Wanneer klasse II elementen inserteren worden vaak enkele basenparen aan het genoom toegevoegd (6). Dit proces staat bekend als ‘target site duplication’. Als klasse II elementen naar een andere plek in het genoom ‘springen’ blijven deze basenparen achter hetgeen vaak resulteert in een veranderd genproduct of een frameshift mutatie (6).

Transposons die de voorkeur bezitten om te inserteren in intronen kunnen bijdragen aan de verlenging van een gen. Omdat transposons het vermogen bezitten om genoomsegmenten te verwerven en te verplaatsen naar nieuwe locaties zijn zij in staat genkopie aantallen te verhogen.

Ook indirecte beïnvloeding is mogelijk doordat transposons regulatoire sequenties kunnen bevatten die de expressie van aanliggende loci kunnen beïnvloeden. Wanneer zo’n transposon in een promotorregio op het genoom inserteert kan de genregulatie onder invloed van het transposon komen te staan (7). Zo kan bijvoorbeeld een andere weefsel specificiteit verkregen worden. Onderzoek heeft laten zien dat veel promotorregio’s in het plantengenoom sequenties bevatten die afkomstig zijn van ‘transposable elements’ (8,9). Een voorbeeld is maïs waar 50% van de promotors, segmenten afkomstig van transposons bevatten.

Veranderingen op chromosoomniveau

Het veel onderzochte ‘transposable element’ *Ds* dat aanwezig is in maïs, is in staat chromosombreuken te veroorzaken. Wanneer een breuk heeft plaatsgevonden leidt dit tot een abnormaal chromosoomuiteinde dat hersteld moet worden. Dit kan geschieden met behulp van het enzym telomerase of door fusie met een ander chromosoomuiteinde. Dit kan leiden tot inversies, deleties en duplicaties (4).

Door toedoen van transposons is het plantengenoom evolutionair gezien gegroeid. Retrotransposons kopiëren zichzelf voortdurend. Schattingen laten zien dat retrotransposons het maïsgenoom hebben verdubbeld of zelfs vervijfvoudigd (10).

3.2 Meiotische recombinatie

Meiotische recombinatie treedt op tijdens de vorming van geslachtscellen (meiose). In de eerste stappen van de meiose vindt paring van homologe chromosomen plaats. Tijdens deze paring vindt homologe recombinatie plaats. Hierbij worden delen van zusterchromatiden uitgewisseld. De veranderingen die tijdens deze recombinatie ontstaan zijn terug te vinden in de gevormde geslachtscellen en worden derhalve doorgegeven aan het nageslacht. Hierdoor ontstaat onder meer genetische diversiteit. Doordat homologe recombinatie optreedt resulteert de recombinatie doorgaans niet in een mutatie of een verbreking van een open leesraam.

Niet overal in het genoom is de mate van meiotische recombinatie even hoog. Er bestaan zogenaamde ‘coldspots’ en ‘hotspots’ waar recombinatie gemiddeld gezien respectievelijk sporadisch of frequent optreedt. Onderzoek bij planten laat zien dat de meiotische hotspots over het algemeen te vinden zijn in gebieden met weinig repeterende DNA sequenties. Deze gebieden zijn meestal rijk aan genen (11). Weinig recombinatie vindt plaats in gebieden waar veel repeterend DNA te vinden is. Hier zijn zoals hierboven beschreven voornamelijk retrotransposons gelokaliseerd. Ook zijn coldspots vaak te vinden in de nabijheid van centromeren (12).

Er is veel onderzoek verricht naar de frequentie waarmee recombinaties plaatsvinden in het genoom. De gemiddelde frequentie bij *Arabidopsis* is 10 cross-overs per meiose. De frequentie bij tarwe, tomaat, lelie en maïs ligt respectievelijk rond de 40, 21, 55 en 20 cross-overs per meiose (13). Als wordt uitgegaan van de recombinatiefrequentie van *Arabidopsis* betekent dit dat elke generatie 10 recombinaties worden doorgegeven aan het nageslacht.

3.3 Recombinatie in somatische cellen

Organen worden bij planten continu aangelegd. Tijdens de ontwikkeling van een plant worden de voortplantingsorganen uit somatische cellen gevormd. Het is hierdoor mogelijk dat mitotische recombinaties (recombinaties die ontstaan tijdens de normale celdeling; de mitose) of recombinaties in somatische cellen worden doorgegeven aan het nageslacht. Dit is onder andere aangetoond in maïs (14).

In somatische cellen is recombinatie het basismechanisme voor DNA herstel. Fouten in het DNA kunnen ontstaan zijn door oxidatieve stress, UV-straling, foutieve DNA-synthese en metabole processen die zich afspelen in de cel. DNA-herstel middels recombinatie is dan essentieel om de integriteit van het genoom te kunnen behouden (15).

Wanneer dubbelstrengsbreuken in het DNA ontstaan maken planten als herstelmechanisme voornamelijk gebruik van het zogenaamde ‘Non Homologous End Joining’ (NHEJ), een vorm van “illegale recombinatie”. Dit mechanisme berust op het “aan elkaar plakken” van de gebroken DNA strengen. Dit resulteert doorgaans in deleties (van 1bp tot > 1kb) of inserties op de plaats waar de DNA-breuk optrad. Ook kunnen duplicaties of inversies optreden (16).

3.4 Polyploidisatie

Wanneer polyploidisatie optreedt, wordt het chromosoomaantal van een plant verdubbeld of zelfs verdrie- of verviervoudigd. Op deze wijze wordt dus extra chromosomaal DNA van de eigen plant of van een kruisbare verwant in een plant geïntroduceerd. Polyploidisatie draagt in grote mate bij aan de evolutie van het plantengenoom. Er wordt geschat dat 50% tot 70% van alle angiospermen zoals tarwe, rijst en alle fruit- en groentensoorten, polyploidisatie hebben ondergaan (17,18). Op deze wijze wordt onder andere genetische diversiteit binnen het plantenrijk gerealiseerd.

Na polyploidisatie kunnen zowel herschikkingen binnen een chromosoom als tussen chromosomen onderling optreden (17). Dit kan zo drastisch gebeuren dat het van sommige planten moeilijk te achterhalen is of ze een diploïde (plant met twee sets chromosomen waarbij één set afkomstig is van één ouder en de andere set van de andere ouderlijn) of een allotetrapolyploïde (plant met vier sets chromosomen waarbij er twee afkomstig zijn van beide ouderlijnen) achtergrond bezitten. Maïs is een voorbeeld waarbij er aanwijzingen bestaan dat de plant is voortgekomen uit een allotetrapolyploïd waar op grote schaal genoom herschikkingen hebben plaatsgevonden. Deze herschikkingen zijn zodanig dat het genoom niet meer gestructureerd is als zijnde een duidelijke allotetrapolyploïd (19).

3.5 Verschil in genaantal tussen verschillende organismen

Een vergelijking tussen de genomen van verschillende organismen laat grote verschillen zien. Prokaryoten bezitten ongeveer 5000 genen, in de mens zijn 20.000 tot 25.000 genen aanwezig en een plant bevat gemiddeld genomen meer dan 40.000 genen. Hiervoor zijn een aantal mechanismen verantwoordelijk. Geschat wordt dat 19% van eukaryotische exonen (delen van genen die coderen voor een eiwit) zijn gevormd door herverdeling van bestaande exonen (exon shuffling). Twee exonen van verschillende genen kunnen samenkomen of een exon kan gedupliceerd worden en zo resulteren in een nieuwe exon-intron overgang. Dit zou kunnen leiden tot het ontstaan van nieuwe open leesramen en daarmee het ontstaan van nieuwe eiwitten (20). Door het optreden van gen-duplicatie is het mogelijk dat het gedupliceerde gen zich evolueert en zo een andere functie verkrijgt terwijl het oorspronkelijke gen zijn functie behoudt (21). Twee genen kunnen ook fuseren of een gen kan zich splitsen waardoor nieuwe genen gevormd worden (22).

Evolutionair gezien speelt horizontale genoverdracht, waarbij DNA van één organisme wordt overgedragen naar een ander organisme dat niet zijn nakomeling is, vooral bij bacteriën een grote rol. Er zijn ook sterke aanwijzingen dat genen van mitochondriale oorsprong zijn ‘overgesprongen’ naar het kern genoom van planten (23).

Concluderend kan gesteld worden dat het plantengenoom dynamisch en aan veranderingen onderhevig is. De frequentie en de schaal waarop deze genetische veranderingen optreden is grotendeels onbekend. Zeker is dat mutaties en dergelijke een grote rol spelen in het evolutionaire proces. Echter zulke veranderingen lijken ook op kortere termijn op te treden. Veredelaars zijn genoodzaakt om de door hun gebruikte merkers voor bepaalde genetische eigenschappen regelmatig te controleren omdat in het verleden gebleken is dat de koppeling tussen merker en eigenschap verloren kan gaan. Ook blijken plantenrassen niet stabiel en verschuiven de eigenschappen over de loop van de jaren, deels omdat het uitgangsmateriaal genetische variatie bevat maar ook omdat mutaties en recombinaties optreden.

4. Traditionele veredeling

In de traditionele plantenveredeling wordt gebruik gemaakt van de natuurlijke variatie die tussen rassen van een zelfde soort bestaat. Zo staat het ene aardappelras garant voor een grote opbrengst en bezit een ander ras gewenste smaakeigenschappen. Door deze planten te kruisen ontstaat een ras dat hopelijk zowel een goede opbrengst heeft als over de juiste smaakeigenschappen beschikt. Het is hierbij van belang dat de eigenschappen stabiel in de plant aanwezig blijven. Om deze planten te verkrijgen worden vele kruisingen uitgevoerd en wordt vervolgens een grondige selectie op basis van fenotypische eigenschappen gemaakt.

Het ontstaan van de natuurlijke genetische variatie tussen planten is in het vorige hoofdstuk uitvoerig beschreven. Met het uitvoeren van natuurlijke kruisingen zijn in het verleden veel cultivars ontwikkeld. Er zitten echter beperkingen aan de variatie die te behalen is middels natuurlijke kruisingen. Veredelaars hebben daarom technieken ontwikkeld waarmee een groter bereik aan gewenste eigenschappen verworven kon worden.

Een van deze technieken is weefselkweek waarbij plantenweefsel wordt opgekweekt tot een volwassen plant. Door toepassing van weefselkweek worden veel fenotypische veranderingen in de plant geïnduceerd. Voorbeelden hiervan zijn chlorofyldeficiëntie, miniatuur planten, veranderde zaad- en blad karakteristieken en mannelijke steriliteit.

Er is veel onderzoek verricht naar de genetische veranderingen die verantwoordelijk zijn voor deze nieuwe fenotypische eigenschappen. Inmiddels is het duidelijk dat celkweek kan worden opgevat als zijnde een ‘genomic shock’ en dat de plant op deze shock reageert door veranderingen aan te brengen in het genoom. Over het algemeen zijn de genetische veranderingen die ontstaan door toepassing van weefselkweek gelijk aan die van natuurlijke optredende mutaties zoals beschreven in hoofdstuk 3. De frequentie van deze veranderingen ligt echter vele malen hoger (24).

Sommige veranderingen zullen geïnduceerd worden door de activering van transposons. Voorbeelden van retrotransposon-reactivering zijn onder meer gevonden bij rijst en tabak (25). Ook activering van klasse II elementen in maïs is aangetroffen (25). Andere mutaties die optreden zijn chromosombreuken, basenpaarveranderingen, verandering in kopieaantal van repeterende DNA-sequenties en veranderingen in DNA-methylering.

Als na het optreden van een chromosombreuk de chromosomen niet meer worden herenigd treedt deletie van het chromosoomsegment op. Hereniging met het chromosoomsegment leidt vaak tot inversies, duplicaties, deleties en translocaties.

Met behulp van weefselkweek is het bijvoorbeeld mogelijk niet-levensvatbare hybride-embryo's die wel de gewenste eigenschappen bezitten, bijvoorbeeld ontstaan na kruising van verschillende soorten, op te kweken tot een volwassen plant (zogenaamde 'embryo-rescue'). Op deze wijze zijn enkele nieuwe rijst-variëteiten ontwikkeld. De hybriden kunnen ook gevormd worden door middel van protoplastenfusie. Hierbij worden protoplasten van verschillende ouderlijnen gefuseerd en het fusieproduct wordt hierna opgekweekt. Steriele hybriden kunnen in sommige gevallen vruchtbaar gemaakt worden door het polyploidieniveau met behulp van de chemische stof colchicine te verdubbelen. Dit is gebeurd met het graangewas triticale (26).

Naast weefselkweek is het blootstellen van de plant aan mutagenen ook een manier om planten met gewenste fenotypische eigenschappen zoals verhoogde opbrengst, koudetolerantie of ziekteresistentie te verkrijgen. In de traditionele veredeling is deze kunstmatige mutagenese veelvuldig toegepast. Gedurende een periode van 70 jaar zijn ruim 2250 variëteiten met behulp van mutagenese ontwikkeld (27). Mutaties worden geïnduceerd door middel van bestraling zoals röntgenstralen en UV-stralen of chemische mutagenen zoals ethylmethaansulfoonaat (EMS). Gebruik van bestralingsmethoden kan leiden tot grote veranderingen in het genoom zoals deleties. Toepassing van EMS leidt veelal tot puntmutaties. Bovenstaande technieken zoals protoplastenfusie, weefselkweek en mutagenese zijn allen vrijgesteld van de ggo-regelgeving.

Bij toepassing van traditionele veredelingstechnieken is bekend dat chromosoomuitwisseling tussen de ouderlijnen kan optreden. Niet alleen (extra) hele chromosomen zijn terug te vinden in de nakomelingen, ook delen van chromosomen kunnen zijn uitgewisseld (28,29). Het is hierbij vaak niet op voorhand te voorspellen welke genen of welke (gedeeltes van) chromosomen in de nieuwe plant terecht komen.

Uit het bovenstaande kan geconcludeerd worden dat in de traditionele veredeling vele technieken worden toegepast om cultivars met gewenste eigenschappen te verkrijgen. Toepassing van deze technieken heeft vele veranderingen in het plantengenoom tot gevolg. Deze mogelijke veranderingen vormen samen met de veranderingen die van nature in het plantengenoom geïntroduceerd worden, het referentiekader waartegen de COGEM de effecten van cisgenese afzet.

Opgemerkt dient te worden dat de grenzen van wat technisch mogelijk is, steeds verder worden opgerekt. Door de huidige technieken is het steeds beter mogelijk gericht veranderingen aan te brengen in het plantengenoom. De technieken die in de traditionele veredeling worden toegepast en de resultaten die daarmee verkregen worden naderen hiermee steeds meer de genetische modificatie.

Het merendeel van de tot stand gekomen veranderingen zijn voor een veredelaar niet gewenst. De cultivar kan bijvoorbeeld niet levensvatbaar zijn, een lage opbrengst geven, slecht groeien of verkeerde smaak- of kleureigenschappen bezitten. Met behulp van grondige selectieprocedures worden alleen planten met de beste agronomische eigenschappen geselecteerd en voor toelating voorgedragen. Om de agronomische eigenschappen te kunnen bepalen worden de gewassen altijd meerdere generaties getest.

5. Genoomveranderingen door genetische modificatie

Het is bekend dat door toepassing van genetische modificatie wijzigingen in het plantengenoom worden aangebracht. Dit is ten eerste het gevolg van de insertie van elke gewenste DNA sequentie. Tot op heden is bij de ontwikkeling van nieuwe gewassen met behulp van genetische modificatie voornamelijk gebruik gemaakt van de toevoeging van soortvreemd DNA, de zogenaamde transgenese.

Door insertie van soortvreemd DNA kunnen cultivars verkregen worden met eigenschappen die vaak niet kunnen worden verkregen middels traditionele veredeling. De veredelaar heeft op deze wijze extra gereedschap in handen om een gewenste cultivar in handen te krijgen.

Tevens worden de wijzigingen geïnduceerd door het toepassen van de verschillende modificatietechnieken. Planten kunnen op verschillende wijze gemodificeerd worden. Zo kan een transformatie plaatsvinden met behulp van de bacterie *Agrobacterium tumefaciens* als vector (zie kader 1). DNA kan ook de plant worden binnengebracht via ‘particle bombardment’ (‘biolistics’). Bij deze methode wordt het DNA gehecht aan kleine metalen bolletjes die vervolgens met een zogenaamde ‘particle gun’ in gastheercellen worden geschoten. Uit deze gastheercellen wordt vervolgens de plant opgekweekt. Inherent aan het gebruik van deze methoden is het feit dat het niet vooraf te bepalen is waar het DNA in het genoom van de plant zal terechtkomen.

Kader 1: Transformatie met behulp van *Agrobacterium tumefaciens*

De bacterie *A. tumefaciens* is een plantpathogeen die in staat is tumoren in planten te veroorzaken. De eigenschappen om dit te veroorzaken zijn gelegen op het Ti plasmide van deze bacterie. Op het Ti-plasmide liggen twee gebieden die een belangrijke rol spelen bij de infectie en genoverdracht. Het eerste gebied is het T-DNA gebied. Op het T-DNA (Transfer-DNA) liggen oorspronkelijk genen die verantwoordelijk zijn voor tumorgroei en die zorgen voor de energievoorziening van de bacterie. Het T-DNA wordt begrenst door de zogenaamde linker en rechterborder. Een kopie van de genen die tussen de borders liggen worden overgedragen aan de plantencel en vervolgens geïntegreerd in het plantengenoom. Hiernaast is het vir-gebied aanwezig op de Ti-plasmide. In het vir-gebied liggen genen die coderen voor de synthese van een groot aantal eiwitten die een rol spelen bij de overdracht van het T-DNA naar de plantencel

Het vermogen om T-DNA in een plant te inserteren is door moleculair biologen aangegrepen om *A. tumefaciens* te gebruiken om planten te transformeren. Zij hebben het Ti-plasmide opgedeeld in een binair vector systeem. Eén plasmide bevat het vir-gebied en het andere plasmide bevat het T-DNA waarbij de oncogenen zijn verwijderd. Hiervoor in de plaats wordt het gen van interesse geplaatst. Het DNA wat in de plant wordt ingebouwd bedraagt dan het gen van interesse tezamen met de T-DNA borders.

Integratie van DNA in de plant kan door toepassing van bovenstaande methoden, vrijwel overal in het genoom plaatsvinden. Dit is tegenstelling tot de klassieke veredeling waarbij het gen door overkruisen over het algemeen in zijn natuurlijke context van omringende genen en sequenties in het kruisingsproduct terecht komt. Er bestaan wel aanwijzingen dat bij insertie door genetische modificatie bepaalde plaatsen in het genoom de voorkeur genieten (30,31). Het betreft hier genenrijke gebieden en gebieden met een lage concentratie van inactieve transposons en pseudogenen.

Wijzigingen door transformatie met *A. tumefaciens*

Uit onderzoek is gebleken dat transformatie met behulp van *A. tumefaciens* kan leiden tot veranderingen in de gensequentie van interesse zoals deleties. Het betreft hier meestal kleine deleties rond de insertieplaats. Grote DNA-herschikkingen of deleties van chromosomaal plant DNA zijn echter ook waargenomen. Insertie van extra genkopieën of delen van het transgen kan eveneens plaatsvinden. Hiernaast zijn deleties of duplicaties van de T-DNA-sequenties (DNA-sequenties die door middel van een *Agrobacterium*-transformatie in de plant terecht komen) en chromosoomherschikkingen zoals translocaties waargenomen (30,32). Ook de aanwezigheid van vectorsequenties die tijdens het transformatieproces normaliter niet mee inserteren in de plant, de zogenaamde ‘backbone sequenties’, zijn waargenomen.

Wijzigingen door transformatie met ‘particle bombardment’

Transformatie met behulp van ‘particle bombardment’ leidt tevens tot mutaties (33). In vergelijking met *A. tumefaciens* transformaties is hier echter veel minder onderzoek naar verricht. Door gebruik van ‘particle bombardment’ worden vaak vele genkopieën van het gen van interesse geïnserteerd in de plant. Insertie van één enkele genkopie komt echter ook voor en deze transformatiegebeurtenis is het meest interessant voor veredelaars. Genetisch gemodificeerde planten die getransformeerd zijn met ‘particle bombardment’ en op de markt zijn toegelaten bevatten doorgaans één genkopie. Onderzoek naar gg-haver laat zien dat deleties van chromosomaal DNA en herschikkingen van zowel chromosomaal als transgeen DNA plaatsvinden. Een analyse van de veranderingen van de insertieplaats die optreden als gevolg van ‘particle bombardment’ heeft tot op heden nog niet plaatsgevonden (34).

Opgemerkt moet worden dat het transformatie-experiment waarbij een gen in het genoom ingebracht wordt, een eerste stap is tot het verkrijgen van een bruikbare plantlijn. Na de transformatieprocedure zal de (moleculaire) veredelaar de meest geschikte plant selecteren uit het totaal van verkregen planten (of transformanten). Veel van de transformanten zullen weinig

levensvatbaar zijn of ongewenste agronomische eigenschappen vertonen ten gevolge van de transformatieprocedure. Ook kan het niveau van expressie van het ingebrachte gen tussen de verschillende transformanten sterk verschillen. De veredelaar zal verschillende plantlijnen gedurende meerdere generaties testen op onder meer genetische stabiliteit en agronomische kwaliteiten, teneinde de beste plant te kunnen selecteren.

Concluderend kan worden gesteld dat het genoom van de te transformeren plant kan veranderen door toepassing van genetische modificatie waarbij de verandering niet alleen het ingebrachte DNA betreft.

6. Genetische modificatie met planteigen genen

Door de grote aantallen sequentiedata die binnen de plantenbiotechnologie de afgelopen jaren gegenereerd zijn, neemt de beschikbaarheid van specifieke plantengenen sterk toe. Het is daardoor vaker mogelijk om naast transgene planten ook cisgene planten te creëren. In internationaal verband worden cisgene planten doorgaans aangeduid met ‘intrinsic plants’.

Hieronder zal een risicoanalyse worden uitgevoerd waarbij de risico's van cisgene planten worden vergeleken met die van traditioneel veredelde gewassen.

6.1 Definitie cisgene planten

In de definitie die de COGEM hanteert zijn cisgene planten gemodificeerd met een coderende DNA-sequentie uit de plantensoort zelf of uit een verwante donorplant. Het criterium hierbij is dat de ingebrachte functionele DNA-sequenties in principe in de plant ingebracht kunnen worden middels traditionele veredelingsstechnieken. De ingebrachte coderende sequenties staan onder controle van hun eigen regulatiesignalen (promotor of terminator) en bevatten hun eventuele eigen intronen. Hiernaast dient de functionele DNA-sequentie in het geheel uit een donorplant afkomstig te zijn en mag deze niet opgebouwd zijn uit meerdere fragmenten. Dit omdat anders DNA fragmenten kunnen worden samengesteld die niet via traditionele veredelingsstechnieken in de plant kunnen worden ingebracht. De plant kan hierdoor eigenschappen verkrijgen die niet via traditionele veredeling verworven kunnen worden. Door gebruik te maken van eigen regulatiesignalen kan geen andere weefsel-specificiteit verkregen worden dan in een “natuurlijke situatie”.

6.2 Analyse ingebracht DNA

Op basis van het ingebrachte DNA kunnen cisgene planten geen eigenschappen verkrijgen die niet voorkomen of kunnen voorkomen in de soort zelf of in kruisbare verwanten. De eigenschappen zijn namelijk al aanwezig in de soort zelf of in de kruisbare verwant. Dit is een overeenkomst met traditioneel veredelde gewassen en een verschil met transgene planten waar wel soortvreemde genen aanwezig zijn.

In vergelijking met traditioneel veredelde gewassen brengen cisgene gewassen, wanneer alleen gekeken wordt naar de geïntroduceerde genen, dus geen extra risico's met zich mee.

In de door de COGEM gehanteerde risicobeoordeling van gg-gewassen worden zoals eerder vermeld niet alleen de ingebrachte functionele DNA

sequenties in ogenschouw genomen, ook de gevolgen van de modificatietechniek geëvalueerd.

6.3 Vergelijking genoomveranderingen

In het vorige hoofdstuk is getoond dat verschillende transformatietechnieken mutaties in het plantengenoom induceren. Hiernaast wordt door toepassing van cisgenese het gen van interesse op een onbekende plek binnen het genoom geïnserteerd. Dit betekent overigens dat het mogelijk is om detectiemethoden te ontwikkelen waarmee een cisgene plant onderscheiden kan worden van een klassiek of natuurlijk kruisingsproduct. In het laatste geval zal het gen van interesse immers in zijn min of meer natuurlijke context van omringende sequenties voorkomen.

Het plantengenoom kent regionen met een hoge of een lage transcriptionele activiteit. Dit heeft als consequentie dat de plaats van integratie mede bepalend is voor de expressie van het gen van interesse (35). Ook is het mogelijk dat het gen in een coderende regio wordt geplaatst waardoor nieuwe leesramen en zo nieuwe eiwitten gevormd worden. Tevens bestaat de mogelijkheid dat metabole routes worden onderbroken met het gevolg dat fenotypische veranderingen kunnen ontstaan. Ten slotte worden bij genetische modificatie DNA-sequenties in het genoom van planten geïnserteerd. Dit houdt in dat DNA-sequenties aan het genoom worden toegevoegd.

Als gekeken wordt naar de dynamiek van het plantengenoom onder natuurlijke situaties en de toepassing van traditionele veredeling zijn ook veel veranderingen in het plantengenoom waar te nemen.

Het plantengenoom is aan mutaties onderhevig waardoor het genoom verandert. Externe stressfactoren kunnen de mutatiefrequentie van nature verhogen. Ook mitotische recombinatie en recombinatie in somatische cellen kan bijdragen aan het optreden van mutaties. 'Transposable elements' kunnen zich min of meer willekeurig door het plantengenoom verspreiden en zo open leesramen verstoren. 'Exon shuffling' en genfusie kunnen ook bijdragen aan het ontstaan van nieuwe open leesramen.

Ook in de traditionele veredeling worden technieken toegepast waarbij delen van een chromosoom in een nieuwe plant worden gebracht zonder dat vooraf te voorspellen is waar deze delen in het genoom zullen integreren. In de veredeling worden door cel- en weefselkweek vele mutaties gegenereerd. Hiernaast werd kunstmatige mutagenese, een evenals genetische modificatie ingrijpende techniek, veelvuldig toegepast voor het verkrijgen van nieuwe cultivars met verbeterde eigenschappen. Hoewel het bij mutagenese niet bekend is waar veranderingen in het plantengenoom ontstaan en hoe groot deze veranderingen

zijn, is mutagenese als techniek vrijgesteld van richtlijn 2001/18/EG (36). De toelating vindt hier, en bij alle conventioneel veredelde gewassen, plaats op basis van fenotypische eigenschappen.

6.4 Aanwezigheid van vreemde sequenties

Wanneer gesproken wordt over cisgene planten wordt verondersteld dat de plant alleen planteigen DNA bevat. Zoals uit hoofdstuk 5 is gebleken zullen echter vaak ook (kleine) soortvreemde sequenties na transformatie in de plant aanwezig zijn. Deze sequenties zijn afkomstig van de gebruikte vectorsystemen en kunnen niet middels traditionele veredeling in de plant worden gebracht.

Toepassing van ‘particle bombardment’ maakt het in principe mogelijk cisgene planten te verkrijgen die uitsluitend bestaan uit DNA van de soort zelf of van kruisbare verwanten. Vaak zullen echter ook onbedoeld ‘backbone sequenties’ in de plant geïntroduceerd worden. De ‘backbone’ sequenties zijn van bacteriële origine en kunnen veel basenparen omvatten. ‘Backbone sequenties’ vervullen geen noodzakelijke functie in de cisgene plant.

Uit onderzoek is gebleken dat tijdens *Agrobacterium* transformatie ook ‘backbone sequenties’ kunnen mee inserteren in de plant (37,38). Hiernaast worden de zogenaamde ‘T-DNA borders’ als gevolg van de transformatie in de plant geïnserteerd. Deze sequenties zijn van bacteriële oorsprong en zijn essentieel voor het transformatieproces. Van de rechterborder blijven 2 basenparen in de plant achter, de restanten van de linkerborder bedragen meestal 24 basenparen.

Er zijn momenteel vele initiatieven gaande waarbij technieken worden ontwikkeld om planten te vervaardigen waarin de T-DNA borders afwezig zijn. Tijdens een *A. tumefaciens* transformatie worden daarbij in plaats van de T-DNA sequenties homologe sequenties van plantaardige origine gebruikt die de functie van de T-DNA border kunnen vervullen (37, 39-41). Het is momenteel nog niet duidelijk wanneer deze vectoren op grote schaal kunnen worden toegepast.

De COGEM merkt op dat ‘backbone sequenties’ in de cisgene plant overbodig zijn en niet noodzakelijk voor het verkrijgen van gewenste eigenschappen. Omdat deze sequenties van bacteriële oorsprong zijn en de aanwezigheid niet noodzakelijk is, is de COGEM van mening dat deze sequenties niet in een plant aanwezig mogen zijn als deze als cisgene plant wordt aangemerkt.

Daarnaast merkt de COGEM op dat de aanwezigheid van de T-DNA borders wel essentieel is voor een succesvolle transformatie. De rechterborder (2 bp) zal door de geringe lengte resulteren in een mutatie die ook door ‘transposable elements’ of illegale recombinatie in de plant veroorzaakt kan worden. De

gevolgen van de aanwezigheid van de linkerborder zijn minder goed in te schatten. Gezien de geringe lengte van de border en de ervaring die is opgedaan met de vele gg-planten die met *Agrobacterium* zijn getransformeerd, verwacht de COGEM dat de aanwezigheid van deze sequenties geen veranderingen in biologische eigenschappen, zoals veronkruiding, tot gevolg zal hebben.

Als gevolg van de insertie van T-DNA borders is het theoretisch mogelijk dat door de fusie van twee open leesramen, allergene of toxische stoffen gevormd kunnen worden. Hoewel er geen voorbeelden uit de praktijk zijn waar insertie daadwerkelijk heeft geleid tot de vorming van allergenen en de COGEM deze kans zeer klein acht, kan zij hier met de huidige kennis geen uitsluitel over bieden.

6.5 Conclusies

De COGEM is van mening dat uitsluitend op basis van de beoogde ingebrachte sequenties de technisch-wetenschappelijke risico's van cisgene planten niet groter zullen zijn dan die van traditioneel veredelde gewassen. De gevolgen van de modificatietechniek worden door de COGEM echter ook geëvalueerd.

Onderzoek heeft uitgewezen dat het plantengenoom in natuurlijke situaties aan veranderingen onderhevig is. In de veredeling worden door toepassing van een scala aan technieken zoals mutagenese en cel- en weefselkweek ook vele veranderingen in het plantengenoom geïnduceerd.

De COGEM is van mening dat de veranderingen die geïnduceerd worden onder natuurlijke omstandigheden en in de traditionele veredeling overeenkomsten vertonen met de veranderingen die ontstaan door toepassing van cisgenese. Er zullen geen open leesramen ontstaan die in principe ook niet onder natuurlijke omstandigheden of tijdens traditionele veredeling kunnen ontstaan. Er wordt immers geen soortvreemde sequentie ingebracht zoals bij transgenese. Het geïnserteerde gen is afkomstig van een kruisbare soort of van de plant zelf. De nieuwe open leesramen die eventueel ontstaan door fusie van het ingebrachte gen en genomische sequenties, zouden ook kunnen ontstaan middels toepassing van traditionele veredeling.

Gezien de ervaringen met de teelt van gg-gewassen zoals maïs, soja en katoen, heeft de COGEM geen redenen om aan te nemen dat de milieurisico's, zoals verwildering en een toename in persistentie, van cisgene planten groter zullen zijn dan die van traditioneel veredelde gewassen.

Hoewel er uit de praktijk geen voorbeelden zijn die hier op wijzen, is het op basis van de huidige kennis niet uit te sluiten dat cisgene planten in vergelijking met traditioneel veredelde cultivars een groter risico met zich meebrengen ten aanzien van de vorming van allergenen, ten gevolge van de insertie van de T-DNA border.

De COGEM acht het van belang om de vragen rond allergeniteit en toxiciteit nader te onderzoeken. In dit verband kan nader overleg tussen experts, inclusief voedingsdeskundigen, leiden tot een inventarisatie van de huidige kennis en leemten in vereiste kennis op dit gebied. Op deze wijze kunnen de mogelijke risico's van cisgene planten voor voedselveiligheid en de mogelijkheden tot eventuele versoepeling van de regelgeving op het gebied van cisgene planten in kaart worden gebracht.

7. Opties voor eventuele vereenvoudiging regelgeving

Cisgene planten vertonen grote overeenkomsten met traditioneel veredelde gewassen. Hierdoor lijken opties te ontstaan om cisgenese als techniek geheel of gedeeltelijk vrij te stellen van bepalingen genoemd in de regelgeving omtrent genetisch gemodificeerde organismen, zonder dat op technisch wetenschappelijke gronden de veiligheid voor mens of milieu in het geding komt.

De COGEM onderscheidt twee categorieën binnen de cisgene planten die elk aparte implicaties voor mogelijke vereenvoudiging met zich meebrengen. De eerste groep bestaat uit planten waarin uitsluitend DNA van de plantensoort zelf of van kruisbare verwanten geïntroduceerd is. Naar de mening van de COGEM zijn de risico's van deze planten gelijk aan die van traditioneel veredelde planten. Dit betekent niet dat er per definitie geen risico's verbonden zijn aan de teelt van cisgene gewassen, de risico's zijn alleen niet groter dan die van traditioneel veredelde gewassen.

De tweede groep bevat naast de 'soorteigen' sequenties ook nog kleine heterologe fragmenten in de vorm van T-DNA borders. Omdat het theoretisch gezien niet uit te sluiten valt dat toxische en allergene effecten zullen optreden als gevolg van de insertie van de T-DNA border heeft dit implicaties voor de mogelijke vereenvoudiging van de regelgeving.

Om vast te kunnen stellen tot welke groep een cisgene plant behoort, zal altijd een moleculaire karakterisering plaats moeten vinden waarin bepaald wordt of de plant T-DNA borders bevat. Hiernaast moet er gecontroleerd worden op de aanwezigheid van 'backbone sequenties'.

Wanneer gekeken wordt naar regelgeving die mogelijk versoepeld kan worden is er een onderscheid te maken tussen de regelgeving voor het ingeperkt gebruik, voor veldexperimenten en voor de markttoelating van gg-planten.

7.1 Ingeperkt gebruik

In zijn brief naar de Tweede Kamer heeft de Staatssecretaris van VROM aangegeven samen met de COGEM te willen onderzoeken of er een vrijstelling kan gelden voor het ingeperkt gebruik van cisgene planten (2). Inherent aan experimenten die gedaan worden onder ingeperkt gebruik is dat de verspreiding van de plant wordt voorkomen. Indien cisgene planten worden vrijgesteld, houdt dit dus in dat er geen maatregelen moeten worden genomen om te voorkomen dat de plant zich in het milieu kan verspreiden.

De fysische inperking en de karakteristieken van de plantensoort zorgen in de regel voor een adequate inperking van het ggo. Bij de inschatting van de risico's

van gg-planten die worden geteeld onder inperkende omstandigheden speelt de aard en functie van het ingebrachte gen daarom een ondergeschikte rol. Een uitzondering hierop zou het geval zijn dat door het insert de eigenschappen waarop de inperking van de gg-plant is gebaseerd, veranderen.

In de Nederlandse regelgeving zijn verschillende ingeperkte ruimten gedefinieerd waarin experimenten met gg-planten kunnen plaatsvinden zoals laboratoria (PL), kweekcellen (PC-I), en plantenkassen (PK-I en PK-II).

Planten worden doorgaans getransformeerd met behulp van geattenueerde *A. tumefaciens* stammen. Deze transformatie dient momenteel te geschieden op ML-I niveau. Na transformatie worden de planten doorgaans gekweekt op PC-I niveau in een afsloten container. Hier vindt ook de afdoding van *A. tumefaciens* plaats. Hierna kunnen de handelingen met de gg-planten plaatsvinden op PC-I, PK-I, PK-II.

De COGEM is van mening dat cisgene planten die geen T-DNA borders bevatten op technisch-wetenschappelijke gronden buiten een geclassificeerde ruimte gekweekt zouden kunnen worden. De milieurisico's die deze planten met zich meebrengen zijn namelijk vergelijkbaar met die van traditioneel veredelde planten. De vervaardiging dient wel binnen inperking te geschieden. Vrijstelling kan daarmee plaatsvinden als is vastgesteld dat de plant vrij is van *A. tumefaciens*.

Indien T-DNA borders in de plant aanwezig zijn, is de COGEM van mening dat uitkruising voorkomen dient te worden.

7.2 Veldexperimenten

Voordat gg-planten in het milieu geïntroduceerd mogen worden, en daarmee veldexperimenten uitgevoerd mogen worden, dient een vergunning onder de Europese Richtlijn 2001/18/EG aangevraagd te worden. Deze richtlijn handelt over veldproeven en marktintroducties.

De informatie die over een plant bekend is, bepaalt de omvang van het veldexperiment en de aard van mogelijk aanvullende inperkingsmaatregelen zoals de omvang van het experiment en de aard van mogelijk aanvullende inperkingsmaatregelen zoals isolatieafstanden.

Er bestaan in Nederland drie klassen van veldproeven. Indien weinig informatie bekend is over de gg-plant zal de plant eerst worden getest op zijn eigenschappen in het veld. Dit mogen slechts vijf proefvelden zijn van maximaal 1 hectare waarbij verspreiding van de plant wordt voorkomen (klasse I). Hierna zullen enkele planten met voor de aanvrager de juiste eigenschappen voor een markttoelating geselecteerd en gekarakteriseerd worden (klasse II of III).

In navolging van het ‘stap-voor-stap principe’ dat in de richtlijn staat beschreven, kunnen werkzaamheden met gg-planten pas worden opgeschaald naar een hogere klasse als voldoende informatie over de mogelijke milieueffecten verkregen is in voorgaande proeven. Deze experimenten dienen niet noodzakelijkerwijs door de aanvrager te zijn uitgevoerd. Resultaten kunnen ook uit andere studies verkregen zijn.

De COGEM acht op bovengenoemde gronden een vrijstelling van veldproeven zoals omschreven in Richtlijn 2001/18, met cisgene planten van de eerste categorie in de rede liggen. Dit omdat deze planten geen grotere risico's met zich meebrengen dan planten veredeld op traditionele wijze. Dit betekent niet dat er in het geheel geen veldproeven uitgevoerd hoeven te worden. Net als bij klassieke veredelingsproducten zijn veldproeven in het kader van rassenregistratie of herbicidenbeoordeling verplicht.

In het geval er T-DNA borders in de plant aanwezig zijn, zijn de mogelijkheden tot versoepeling van de regelgeving beperkter. Zoals in hoofdstuk 6 beschreven acht de COGEM het onwaarschijnlijk dat cisgene planten in vergelijking met traditioneel veredelde gewassen grotere milieurisico's zoals verwildering en persistentie met zich meebrengen. In veldproeven hoeft op basis van de ontwikkelde gedachtegang hier dan ook niet naar gekeken te worden.

Het valt echter niet volledig uit te sluiten dat de gg-plant allergene eigenschappen verwerft. In dit geval moeten de mogelijk schadelijke effecten beperkt blijven tot het proefobject waarbij de verspreiding van het ggo voorkomen dient te worden.

7.3 Toelating op de markt

In richtlijn 2001/18 wordt aangegeven welke aspecten in een milieurisico-beoordelingen meegenomen moeten worden. Deze effecten staan in hoofdstuk 2 beschreven en omvatten o.a. effecten op bodem- of niet-doelwitorganismen, en veranderingen in persistentie of invasiviteit van de plant.

Binnen de richtlijn 2001/18 zijn enkele technieken vrijgesteld. Het betreft hier onder meer mutagenese en celfusie (met inbegrip van protoplastenfusie) van plantencellen van organismen die genetisch materiaal kunnen uitwisselen met behulp van traditionele kweekmethoden (36). Een vrijstelling houdt onder meer in dat de planten op de markt kunnen worden toegelaten zonder dat er een risicoanalyse wordt uitgevoerd.

De COGEM is van mening dat indien cisgene planten behoren tot groep één, er een vrijstelling van de regelgeving zou kunnen plaatsvinden. Immers, de technisch-wetenschappelijke risico's van cisgene gewassen zijn niet groter dan die van de traditioneel veredelde planten. Er bestaan ook mogelijkheden om een

versoepeling in te stellen rond de etiketteringsplicht. Dit is echter een maatschappelijke afweging en is niet gestoeld op technisch-wetenschappelijke gronden. In de ethische en maatschappelijke signalering die de COGEM voornemens is over dit onderwerp uit te brengen, zal nader op de etiketteringsplicht worden ingegaan.

Indien de cisgene plant T-DNA borders bevat ligt vrijstelling naar de mening van de COGEM niet in de rede. Een versoepeling op sommige punten is echter wel denkbaar. Verandering in persistentie of invasiviteit hoeft niet te worden onderzocht omdat dit in vergelijking met traditioneel veredelde gewassen niet vaker zal voorkomen.

Wanneer de risico's op niet-doelwitorganismen in ogenschouw worden genomen wordt gekeken naar de mogelijke effecten die ontstaan als gevolg van het ingebrachte gen. Omdat het ingebrachte gen in een cisgene plant ook via uitkruising in de plant kan terecht komen, is de COGEM van mening dat in het geval van een cisgene plant testen naar de effecten op niet-doelwitorganismen niet noodzakelijk zal zijn.

Ook de risico's op de bodemmicroflora worden bepaald door te kijken naar de ingebrachte DNA-sequenties. Ook hier verwacht de COGEM geen andere effecten op bodemorganismen dan die welke kunnen ontstaan door de teelt van traditioneel veredelde gewassen.

Gezien de huidige onzekerheid over de mogelijkheid tot vorming van allergenen en toxinen door insertie van de T-DNA borders zullen wel allergeniteits- en toxiciteitstesten en een moleculaire karakterisatie in dit kader uitgevoerd moeten worden. Op deze manier kan gecontroleerd worden of er door insertie van de T-DNA borders toxische of allergene effecten zijn ontstaan.

De COGEM merkt op dat deze experimenten erg kostbaar en tijdrovend zijn en dat ze groot deel van de huidige dossieropbouw omvatten. Indien deze testen uitgevoerd moeten worden zal de werkelijke versoepeling van de regelgeving gering zijn.

7.4 Conclusies

De COGEM is van mening dat indien een cisgene plant uitsluitend bestaat uit DNA van de plantensoort zelf of van kruisbare verwanten (plant bevatten geen T-DNA border), en dat dit DNA in zijn geheel uit de donorplant afkomstig is en niet is opgebouwd uit meerdere fragmenten, er geen technisch-wetenschappelijke bezwaren zijn om de vergunningverleningsprocedure voor deze cisgene plant te vereenvoudigen. Voor vergunningen onder het ingeperkt gebruik kunnen de planten na vervaardiging buiten een geclassificeerde ruimte gehouden worden. Hiernaast zou op basis van de ontwikkelde technisch-

wetenschappelijke gedachtegang deze groep van cisgene planten vrijgesteld kunnen worden van de Europese Richtlijn 2001/18/EC zonder dat de veiligheid voor mens en milieu in het geding is.

Indien cisgene planten T-DNA borders bevatten, is de mogelijkheid tot versoepeling van de regeling naar de mening van de COGEM beperkter omdat gezien de stand van de huidige kennis niet alle mogelijke risico's uitgesloten kunnen worden. Bij het ingeperkt gebruik dient uitkruising voorkomen te worden. Bij de introductie van cisgene planten in het milieu zullen eerst klasse I veldexperimenten moeten worden uitgevoerd waarbij de mogelijk optredende effecten beperkt blijven tot het proefobject. Dit om mogelijke introductie van allergenen of toxinen in het milieu te voorkomen.

Bij een marktintroductie zijn studies naar effecten op bodem- of niet-doelwitorganismen niet vereist. Verandering in persistentie of veronkruiding hoeft eveneens niet te worden onderzocht omdat in vergelijking met traditioneel veredelde gewassen dit niet vaker zal voorkomen. Daar niet alle mogelijk milieurisico's uitgesloten kunnen worden, is uitvoering van toxiciteits- en allergeniteitstesten en een volledige moleculaire karakterisering wel noodzakelijk. Dit om te controleren of er toxische of allergene effecten kunnen optreden.

8. Ethische en maatschappelijke aspecten

Het verleden heeft geleerd dat genetische modificatie van planten ethische en maatschappelijke vragen oproept, en kan leiden tot heftige emoties. De producenten van genetisch gemodificeerde gewassen verwachtten destijds dat de invoering van de gewassen op de gebruikelijke manier zou verlopen en dat de consumenten de producten na verloop van tijd wel zouden accepteren. Deze aanname bleek achteraf niet te kloppen.

Wetenschappelijke kennis en de daarop gebaseerde regelgeving over genetische modificatie heeft de Europese consument niet op alle punten kunnen overtuigen. Genetisch gemodificeerde gewassen worden momenteel binnen Europa dan ook niet op grote schaal geaccepteerd. Indien consumenten en burgers nu geconfronteerd gaan worden met cisgene producten zonder dat daarover vooraf communicatie heeft plaatsgevonden, bestaat de kans dat deze producten eveneens niet geaccepteerd zullen worden.

De hiervoor aangeduide ontwikkelingen tonen aan dat de inzet van technische wetenschappelijke gegevens om draagkracht te creëren voor het overheidsbeleid niet altijd voldoende is. In haar eerder uitgebrachte signalering *“De Farm Scale Evaluations geëvalueerd. Wat mag het beleid verwachten van de wetenschap bij maatschappelijk omstreden technologische innovaties”* pleit de COGEM voor het inzetten van de overigens nog volop in ontwikkeling zijnde methoden van ‘postnormale’ wetenschap als het gaat om beleidsontwikkeling ten aanzien van complexe maatschappelijke problemen, die aanleiding kunnen geven tot maatschappelijke onrust (42).

Bij het toepassen van ‘postnormale’ wetenschap worden de aangedragen oplossingen niet alleen door de wetenschappelijke experts bepaald. Wil er draagkracht voor het beleid ontstaan, dan moeten niet alleen experts gehoord worden maar ook belanghebbenden en mensen die de consequenties van het beleid zullen ondervinden. Deze ‘extended peer review’ waarborgt dat alle relevante aspecten, zowel maatschappelijk als wetenschappelijk, in de argumentatie meegenomen worden. Daarnaast is het raadzaam de discussie niet te beperken tot de specifieke kwestie, maar deze in een breder kader te plaatsen. Zo kunnen de achterliggende doelen en bredere thema’s, de zogenaamde ‘wider issues’, verhelderd en onder de aandacht gebracht worden.

De COGEM is van mening dat bij de beleidsvorming rond cisgenese het inzetten van methoden behorend tot het domein van de ‘postnormale’ wetenschap een goed instrument kan zijn.

8.1 Ethische en maatschappelijke discussie

Het is vooraf niet voorspelbaar hoe de discussie rond cisgenese en haar producten zich zal ontwikkelen. Nieuwe ontwikkelingen in de biotechnologie zoals cisgenese spelen zich af in een maatschappelijke omgeving waarin ook de ethische en maatschappelijke oordeelsvorming voortdurend evolueert. Er bestaat geen algemene overeenstemming over wat ethisch aanvaardbaar is. Dit betekent dat bij elke nieuwe ontwikkeling alle relevante aspecten bij de meningsvorming geïnventariseerd en afgewogen moeten worden.

In de signalering '*Naar een integraal ethisch-maatschappelijk toetsingskader voor moderne biotechnologie*' wordt een model geschetst voor de integrale ethische toetsing van biotechnologische ontwikkelingen (43). Dit toetsingskader kan behulpzaam zijn bij een ethisch-maatschappelijke afweging van nieuwe technologische innovaties, zoals het met behulp van cisgenese modificeren van planten.

Aspecten die een rol spelen bij de discussie omtrent transgene gewassen komen in sommige gevallen ook bij cisgene gewassen naar voren. Hieronder wordt kort ingegaan op enkele aspecten die een rol kunnen gaan spelen in de discussie.

Referentiekader

De COGEM hanteert bij haar milieurisicobeoordeling de staande landbouwpraktijk als referentiekader. Hierbij vergelijkt zij de effecten van genetisch gemodificeerde gewassen (en dus cisgene gewassen) met de effecten van traditioneel veredelde gewassen. Potentieel nadelige effecten van genetisch gemodificeerde gewassen moeten hierbij boven de effecten van de conventionele landbouw uitstijgen willen ze aangemerkt worden als risico. Dit referentiekader is vastgelegd in de nationale en Europese regelgeving.

De keuze voor de traditionele veredeling als referentiekader houdt niet in dat de introductie van traditioneel veredelde gewassen in het milieu geen nadelige effecten met zich mee kan brengen. In het verleden is de keuze gemaakt om traditioneel veredelde gewassen niet aan een risicoanalyse te onderwerpen.

Er is een momenteel een discussie gaande over de vraag of het huidige referentiekader nog voldoet nu steeds meer inzichten in zowel de moderne als de traditionele veredelingspraktijken verworven worden. Sommigen zijn van mening dat in bepaalde gevallen ook traditioneel veredelde gewassen en de daarmee samenhangende landbouwpraktijken aan een milieurisicoanalyse onderworpen moeten worden. Een risicobeoordeling zou in dit geval plaats moeten vinden op basis van de nieuw verworven eigenschap. Zij zouden in dit opzicht het onderscheid tussen genetisch gemodificeerde gewassen en traditioneel gewassen willen afschaffen.

Anderen zijn eveneens van oordeel dat het onderscheid tussen gg-gewassen en traditioneel veredelde planten afgeschaft kan worden. Zij pleiten echter voor het afschaffen van een milieurisicobeoordeling voor verschillende categorieën van gg-gewassen.

Het is momenteel nog niet duidelijk hoe de discussie zich zal gaan ontwikkelen. Wel is duidelijk dat de keuze voor het hanteren van een ander referentiekader een politieke afweging vergt.

Consumentenacceptatie

Een centraal element in de discussie rond genetisch gemodificeerde gewassen betreft acceptatie door de consument. De Europese consument staat in het algemeen afwijzend tegenover genetisch gemodificeerde planten en producten die hiervan afkomstig zijn. Eind jaren '90 deed de term 'Frankensteinvoedsel' haar intrede en deze geeft duidelijk de negatieve gevoelens en de angst in een deel van de maatschappij ten opzichte gg-voedsel weer (44). Het is de vraag hoe burger en consument zullen reageren op cisgene gewassen.

Een belangrijk aspect in het proces van acceptatie lijkt de keuzevrijheid van de consument om een product wel of niet te kunnen kopen. Deze keuzevrijheid voor of tegen gg-voedsel kan in het geding komen wanneer cisgene producten niet als zodanig geëtiketteerd zouden worden omdat ze zijn vrijgesteld van de richtlijn. In de supermarkt kan de consument dan geen onderscheid meer maken tussen traditioneel veredelde en cisgene gewassen en hun producten. Het is niet duidelijk of een vrijstelling van etikettering voor cisgene producten binnen de EU richtlijnen mogelijk is. De detectie van cisgene producten is overigens technisch mogelijk, aangezien het gen van interesse omringd zal zijn door andere sequenties dan in planten ontstaan door kruising, zoals klassiek veredelingsproducten.

Bedrijven in de veredelingssector onderkennen de gevoelens van de consument en zijn zeer voorzichtig met de introductie van nieuwe producten op de Europese markt. De introductie van cisgene producten op de markt zal waarschijnlijk dan ook zorgvuldig plaatsvinden.

Eigenheid van de plant

Cisgene gewassen mogen als eindproduct in veel opzichten overeenkomen met conventioneel veredelde, ze zijn technisch gezien het resultaat van genetische modificatie. Voorstanders van cisgenese veronderstellen dat er minder ethische en maatschappelijke weerstand door wordt opgeroepen, omdat cisgene producten geen genetisch materiaal uit andere organismen bevatten (45-47).

Tegenstanders van het proces van genetische modificatie zullen daarentegen mogelijk tegen cisgenese dezelfde of vergelijkbare bezwaren hebben als tegen transgenese. Zij beschouwen de vervaardiging van gg-planten als onnatuurlijk.

Bij de toepassing van genetische modificatie ontbreekt het volgens sommigen aan respect voor de eigenheid van de plant en de soortspecifieke aard van deze organismen en daarmee aan respect voor de integriteit van de plant (48-49). Het idee dat alles binnen de natuur door de mens naar eigen wens aangepast mag worden, stuit bij sommigen op principiële bezwaren.

Het is op dit moment nog niet duidelijk of burgers een wezenlijk onderscheid zullen maken tussen cisgene en andere transgene gewassen.

De COGEM heeft het voornemen om medio 2006 een signalering uit te brengen waarin de elementen die een rol spelen in de ethische en maatschappelijke discussie rond cisgenese nader belicht zullen worden.

Referenties

1. NRC Handelsblad (2006). Manipuleren met eigen genen moet kunnen. 16-03-2006
2. Van Geel P.B.L.A. (2005). Vereenvoudiging Wet- en Regelgeving Biotechnologie: het Besluit ggo. SAS/2005205962
3. McCarthy EM. *et al.* (2002). Long terminal repeat retrotransposons of *Oryza sativa*. *Genome biology* **3**: research0053.1-0053.11
4. Bennetzen J.L. (2002). Transposable element contributions to plant gene and genome evolution. *Plant molecular biology* **42**: 251-269
5. McClintock B. (1984). The significance of responses of the genome to challenge. *Science* **226**: 792-801
6. Fedoroff N. (2000). Transposons and genome evolution in plants. *Proceedings of the national academy of science* **97**: 7002-7007
7. Kloeckener-Gruissem B. en Freeling M. (1995). Transposon-induced promotor scrambling: A mechanism for the evolution of new alleles. *Proceedings of the national academy of science* **92**: 1836-1840
8. Wessler S.R. *et al.* (1995). LTR-retrotransposons and MITEs: important players in the evolution of plant genomes. *Current opinion in genetics and development* **5**: 814-821
9. White S.E. *et al.* (1994). Retrotransposons in the flanking regions of normal plant genes: a role of *copia*-like elements in the evolution of gene structure and expression. *Proceedings of the national academy of science* **91**: 11792-11796
10. Sanmiguel P. en Bennetzen J.L. (1998). Evidence that a recent increase in maize genome size was caused by the massive amplification of intergene retrotransposons. *Annals of botany* **82** (supplement A): 37-44
11. Lichten M. en Goldman A.S.H. (1995). Meiotic recombination hotspots. *Annual reviews genetics* **29**: 423-444
12. Schnable P.S. *et al.* (1998). Genetic recombination in plants. *Current opinion in plant biology* **1**: 123-129
13. Anderson L.K. en Stack S.M. (2002). Meiotic recombination in plants. *Current genomics* **3**: 507-525
14. Das O.P. *et al.* (1990). A somatic gene rearrangement contributing to genetic diversity in maize. *Proceedings of the national academy of science* **87**: 7809-7813
15. Vergunst A.C. en Hooykaas P.J.J. (1999). Recombination in the plant genome and its application in biotechnology. *Critical reviews in plant sciences* **18**: 1-31
16. Gorbunova V. and Levy A.A. (1999). How plants make ends meet. DNA double-strand break repair.
17. Soltis D.E. en Soltis P.S. (1999). Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. *Trends in ecology and evolution* **14**: 348-352
18. Wendel J.F. (2000). Genome evolution in polyploids. *Plant molecular biology* **42**: 225-249
19. Gaut B.S. en Doebley J.F. (1997). DNA sequence evidence for the segmental allotetraploid origin in maize. *Proceedings of the national academy of science* **94**: 6809-6814
20. Patthy L. (1999). Genome evolution and the evolution of exon-shuffling- a review *Gene* **238**: 103-114
21. Prince V.E. en Pickett F.B. (2002). Splitting pairs: the diverging fates of duplicated genes. *Nature reviews genetics* **3**: 827-837
22. Long M. *et al.* (2003). The origin of new genes: Glimpses of the young and old. *Nature review genetics* **4**: 865-875
23. Bergthorsson U. *et al.* (2003). Widespread horizontal transfer of mitochondrial genes in flowering plants. *Nature* **424**: 197-201

24. Phillips R.L. *et al.* (1994). Genetic instability of plant tissue cultures: Breakdown of normal controls. *Proceedings of the national academy of science* **91**: 5222-5226
25. Hirochika H *et al.* (1996). Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture. *Proceedings of the national academy of science* **93**: 7783-7788
26. Poehlman JM. and Sleper DA. (1995). *Breeding field crops* 4th edition, Iowa State University Press
27. Alhoowalia BS. *et al.* (2004). Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica* **135**: 187-204
28. Heijbroek W. *et al.* (2002). The Effect of Different Levels of Beet Cyst Nematodes (*Heterodera schachtii*) and Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV) on Single and Double Resistant Sugar Beet Cultivars. *European journal of plant pathology* **108**: 735-744
29. Azanza F. *et al.* (1994). Characterization of the effects of introgressed segments of chromosome 7 and 10 from *Lycopersicon chmielewskii* on tomato soluble solids, pH and yield. *Theoretical applied genetics* **87**: 965-972
30. Forsbach A. *et al.* (2003). A comprehensive characterization of single-copy T-DNA insertions in the *Arabidopsis thaliana* genome. *Plant molecular biology* **52**: 161-176
31. Alonso JM. *et al.* (2003). Genome-wide insertional mutagenesis of *Arabidopsis thaliana*. *Science* **301**: 653-657
32. Tax FE. and Vernon DM. (2001). T-DNA-associated duplication/translocations in *Arabidopsis*. Implications for mutant analysis and functional genomics. *Plant physiology* **126**: 1527-1538
33. Mararevitch SK. *et al.* (2003). Complete sequence analysis of transgene loci from plants transformed via microprojectile bombardment. *Plant molecular biology* **52**: 421-432
34. Latham J.R. *et al.* (2006). The mutational consequences of plant transformation. *Journal of biomedicine and biotechnology* **2006**: 1-7
35. Butaye KMJ. *et al.* (2005). Approaches to minimize variation of transgene expression in plants. *Molecular breeding* **16**: 79-91
36. Richtlijn 2001/18/EG; Richtlijn 2001/18/EG van het Europees parlement en de raad inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van Richtlijn 90/220/EEG van de Raad.
37. Rommens CM. (2004). All-native DNA transformation: a new approach to plant genetic engineering. *Trends in plant science* **9**: 457-464
38. Kononov ME. *et al.* (1997). Integration of T-DNA binary vector 'backbone' sequences into the tobacco genome: Evidence for multiple patterns of integration. *Plant journal* **11**: 945-957
39. Rommens CM. *et al.* (2004). Crop improvement through modification of the plants's own genome. *Plant physiology* **135**: 421-431
40. Lokerse AS. *et al.* (2004). Intragenic vectors: Mining plant DNA sequences for functional equivalents of essential vector components. Poster presentation. Crop and food Research, New Zealand
41. Rommens C.M. *et al.* (2005). Plant-derived transfer DNAs. *Plant physiology* **139**: 1338-1349
42. Commissie Genetische Modificatie (2005). De Farm Scale Evaluations geëvalueerd. Wat mag het beleid verwachten van de wetenschap bij maatschappelijk omstreden technologische innovaties? CGM/050408-04
43. Commissie genetische modificatie (2003). Naar een integraal ethisch-maatschappelijk toetsingskader voor moderne biotechnologie. CGM/030618-02
44. Korthals M. (2002). Voor het eten. Filosofie en ethiek van voeding. Boom Amsterdam. ISBN: 9053528245
45. Nielsen KM. (2003). Transgenic organisms - time for conceptual diversification? *Nature biotechnology* **21**: 227-228

46. Madsen KH. *Et al.* (2002). Ranking genetically modified plants according to familiarity. *Journal of agricultural and environmental ethics* **15**: 267-278
47. Jochemsen H. (2002). Toetsen en begrenzen. Een ethische en politieke beoordeling van de moderne biotechnologie. Wetenschappelijke instituten van de GPV en RPF
48. Verhoog H. *et al.* (2002). Hoe natuurlijk is de biologische landbouw? Onderzoek naar de vraag of biologische landbouw een 'natuurlijke' landbouw is of zou moeten zijn. Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek. Stimuleringsprogramma Ethiek & Beleid
49. Lammerts van Bueren ET. *et al.* (2003). Concepts of intrinsic value and integrity of plants in organic plant breeding and propagation. *Crop Science* **43**: 1922-1929