

Aan de staatssecretaris van Openbaar Vervoer en Milieu
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
De heer A.A. Aartsen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 02 december 2025
KENMERK CGM/251202-01
ONDERWERP Advies Inschaling van werkzaamheden met gg-parasitaire bronswespen

Geachte heer Aartsen,

Naar aanleiding van een adviesvraag over het dossier IG 19-053_002 getiteld 'CRISPR/Cas9 knockouts in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* as a host', ingediend door Wageningen University, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over het inschalingsniveau voor werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) parasitaire wespen van verschillende soorten, waaronder *Nasonia giraulti*, *Nasonia oneida*, *Nasonia longicornis*, *Trichomalopsis sarcophagae*, *Urolepis rufipes*, *Pachycrepoideus vindemmiae*. Daarnaast wordt advies gevraagd om inschaling van zowel *Muscidifurax raptorellus*, *Muscidifurax uniraptor*, en *Muscidifurax raptor*, als het gehele *Muscidifurax*-genus. De aanvrager wil genetische aanpassingen uitvoeren door middel van micro-injecties met o.a. CRISPR/Cas-eiwitten bij wespenpoppen en verdoofde volwassen wespen, gevolgd door onderzoek en kweek van de gg-wespen. De DNA-injecties vinden plaats op veiligheidsniveau ML-I; het verdere onderzoek en de kweek in een D-I ruimte.

De wespensoorten lijken sterk op elkaar. Sommige soorten kunnen mogelijk in Nederland overleven; voor andere is dat onwaarschijnlijk, mede omdat de kans dat volwassen wespen de Nederlandse winter overleven, klein wordt geacht. De COGEM adviseert om, naast de genoemde individuele soorten, alleen de reeds beschreven *Muscidifurax*-soorten in de vergunning op te nemen, en niet het hele genus. Zo kan bij nieuw beschreven soorten eerst worden beoordeeld of de huidige maatregelen volstaan.

De COGEM acht de aanvullende veiligheidsmaatregelen die zij zelf heeft voorgesteld voor werkzaamheden met fruitvliegjes (*Drosophila melanogaster*) noodzakelijk voor de werkzaamheden op D-I, waarbij moet worden gewaarborgd dat ook de kleinste wespensoort niet kan ontsnappen. De COGEM is van oordeel dat de risico's voor mens en milieu op deze inperkingsniveaus in combinatie met de aanvullende maatregelen, verwaarloosbaar klein zijn.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Drs. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Dit advies is mede tot stand gekomen met de inbreng van prof. dr. L.W. Beukeboom. Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM-lid prof. dr. ir. G. Messelink niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Advies Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde parasitaire bronswespen

COGEM-advies CGM/251202-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) parasitaire wespen *Nasonia giraulti*, *Nasonia oneida*, *Nasonia longicornis*, *Trichomalopsis sarcophagae*, *Urolepis rufipes*, *Pachycrepoideus vindemmiae*. Daarnaast is gevraagd voor inschaling van zowel *Muscidifurax raptorellus*, *Muscidifurax uniraptor* en *Muscidifurax raptor*, als het gehele genus *Muscidifurax*. De onderhavige aanvraag (IG 19-053_002), ingediend door Wageningen University, betreft een uitbreiding van reeds vergunde werkzaamheden met poppen en volwassen insecten van *Nasonia vitripennis*, waarbij met CRISPR/Cas knock-outs gemaakt worden. De aanvrager verzoekt om op inperkingsniveau ML-I de hierboven genoemde parasitaire wespen (inclusief *N. vitripennis*) genetisch te modificeren middels CRISPR/Cas knock-outs of knock-ins, en de gg-wespen vervolgens op D-I inperkingsniveau te hanteren voor verdere experimenten. De aanvrager wil de werkzaamheden op inperkingsniveau D-I uitvoeren met inachtneming van de aanvullende voorschriften die gelden voor activiteiten met gg-*Drosophila melanogaster*.¹

2. Achtergrondinformatie over (parasitaire) bronswespen

De parasitaire wespen uit de genera *Muscidifurax*, *Nasonia*, *Pachycrepoideus*, *Trichomalopsis* en *Urolepis* behoren allen tot de superfamilie van bronswespen (Hymenoptera (vliesvleugeligen): Chalcidoidea). Er zijn ongeveer 23.000 soorten beschreven in deze superfamilie,² al wordt hun daadwerkelijke aantal hoger geschat.³ Bronswespen zijn klein; vaak tussen de 0,5-5 mm lang.⁴ Bronswespen worden in het Nederlands zo genoemd omdat sommige soorten een metaalachtige kleur hebben, al zijn er ook veel die zwart van kleur zijn. Bronswespen hebben een geknikte antenne, die ze onderscheidt van andere insectensoorten. De meeste bronswespsorten parasiteren op eitjes, larven en andere ontwikkelingsstadia van andere (soorten) insecten.⁴ Andere bronswespsorten zijn planteneters, waarbij de wespen vaak gallen vormen. Sommige bronswespen worden ingezet als biologische bestrijders, omdat deze specifieke plaagorganismen parasiteren.

2.1 *Nasonia giraulti*, *Nasonia oneida* en *Nasonia longicornis*

Er worden momenteel vier soorten parasitaire wespen erkend binnen het genus *Nasonia* (*N. vitripennis*, *N. giraulti*, *N. longicornis* en *N. oneida*), die allemaal met elkaar gekruist kunnen worden en levensvatbare en vruchtbare hybriden produceren.^{5,6} Volwassen *Nasonia*-wespen zijn 2 tot 3 mm groot.^{7,8,9} *Nasonia*-soorten zijn parasitoïde wespen: vrouwtjes leggen hun eieren in vliegenpoppen, die hierdoor niet verder ontwikkelen. Alle *Nasonia*-soorten zijn, zoals veel Hymenoptera, haplodiploïd: uit onbevuchte (haploïde) eieren ontstaan mannetjes, terwijl uit bevruchte (diploïde) eieren vrouwtjes ontstaan.^{10,11} Ongepaarde vrouwtjes kunnen derhalve wel voortplanten, maar kunnen alleen mannetjes produceren en niet zelfstandig een nieuwe populatie starten. Deze vorm van voortplanting heet arrhenotokie, waarbij mannetjes parthenogenetisch worden geproduceerd en vrouwtjes seksueel.

N. vitripennis parasiteert onder anderen bromvliegen (Diptera: Calliphoridae), dambordvliegen (Diptera: Sarcophagidae) en huisvliegen (Diptera: *Musca domestica*). *N. giraulti*, *N. oneida* en *N. longicornis* parasiteren bij voorkeur bromvliegen van het geslacht *Protocalliphora* (Diptera: Calliphoridae) die hun eieren leggen in vogelnesten,¹² maar zijn ook in staat andere soorten vliegen te parasiteren.

N. vitripennis komt wereldwijd voor, waaronder in Nederland,¹³ mogelijk vanwege het parasiteren van met mensen-geassocieerde vliegen.¹² *N. giraulti*, *N. oneida* en *N. longicornis* zijn endemisch in delen van de Verenigde Staten van Amerika en Canada,⁵ waarbij *N. giraulti* en *N. oneida* in het (noord)oosten voorkomen en *N. longicornis* overwegend in het westen.¹⁴

2.2 *Trichomalopsis sarcophagae*

Het genus *Trichomalopsis* omvat vele soorten waarvan vele slecht zijn gekarakteriseerd. *Trichomalopsis sarcophagae* is ongeveer 2-3 mm groot en is waarschijnlijk van alle bekende *Trichomalopsis*-soorten het meest nauw verwant aan soorten uit het *Nasonia*-genus.¹² *T. sarcophagae* komt voor in de Verenigde Staten van Amerika en Canada. De wesp overwintert daar succesvol bij temperaturen onder het vriespunt.¹⁵ De parasitaire wesp parasiteert op verschillende soorten vliegen en motten, waaronder de Huisvlieg (*M. domestica*), Stalvlieg (ook wel steekvlieg), *Stomoxys calcitrans*, Koolvlieg (*Delia radicum*), vleesvliegen (zoals *Blaesoxipha kellyi* en *Sarcophaga bullata*), en bepaalde motten (zoals *Trichoplusia ni* en *Loxostege sticticalis*).¹⁶ *T. sarcophagae* is een arrhenotoke soort.¹⁷

2.3 *Urolepis rufipes*

Urolepis rufipes is een solitaire, parasitaire wesp die voorkomt in Canada en de Verenigde Staten van Amerika, en daarnaast ook is aangetroffen in Duitsland en Denemarken.¹⁸ *U. rufipes* is in staat om bij temperaturen onder het vriespunt succesvol te overleven.¹⁹ Deze wesp parasiteert het popstadium van onder andere de Huisvlieg (*M. domestica*) en de Stal- of steekvlieg (*S. calcitrans*). Mannetjes zijn over het algemeen kleiner (gemiddelde lichaamslengte 1,8 mm) dan vrouwtjes (gemiddelde lichaamslengte 2,7 mm).²⁰ *U. rufipes* is een arrhenotoke soort.²¹

2.4 *Pachycrepoideus vindemmiae*

Pachycrepoideus vindemmiae is een solitaire, parasitaire wesp die poppen van veel vliegensoorten (Diptera) parasiteert. *P. vindemmiae* komt van nature in Nederland voor.²² *P. vindemmiae* is een van de twee soorten die aanwezig zijn in Europa, Noord- en Zuid-Amerika en die in staat zijn de Suzuki-fruitvlieg (*Drosophila suzukii*) te doden. De Suzuki-fruitvlieg is een exoot in deze regio's die grote schade kan aanrichten in de fruitteelt.²³ De wesp is circa 2 tot 3 mm groot.²⁴ Deze soort is arrhenotook.²⁵

2.5 Het genus *Muscidifurax*

Het genus *Muscidifurax* omvat negen soorten, *Muscidifurax adanacus*, *Muscidifurax neoraptorellus*, *Muscidifurax raptor*, *Muscidifurax raptorellus*, *Muscidifurax raptoroides*, *Muscidifurax similadanacus*, *Muscidifurax sinesensilla*, *Muscidifurax uniraptor* en *Muscidifurax zaraptor*.^{26,27,28,29} Soorten worden in dit genus ingedeeld op basis van morfologische eigenschappen, zoals de vorm van de antenne. De verschillende *Muscidifurax*-soorten hebben ongeacht hun herkomst vrijwel allemaal een vergelijkbare lichaamslengte van ongeveer 1,4-2,8 mm, waarbij vrouwtjes gemiddeld langer zijn dan mannetjeswespen. Uitzonderingen hierop zijn de *M. adanacus* (vrouwtjes zijn 4,8 mm lang)²⁶ en *M. similadanacus* (vrouwtjeswespen zijn gemiddeld 3,4 mm lang; mannetjes 3,0-3,5 mm).²⁷ *M. similadanacus* is gevonden in China, evenals *M. neoraptorellus* en *M. sinesensilla*.²⁷ *M. adanacus* komt voor in Turkije en parasiteert

vermoedelijk vliegen uit het genus *Fannia*.²⁶ *M. raptoroides*, *M. uniraptor*, *M. zaraptor* en *M. raptorellus* zijn gevonden in Noord- of Zuid-Amerika.^{28,29} *M. raptor* komt onder andere in Nederland voor.^{30,31}

Van de soort *M. uniraptor* is bekend dat deze zich thelytokisch voortplant. Dit wordt veroorzaakt door een endosymbiotische relatie met de bacterie *Wolbachia*.³² Thelytokie is een vorm van parthogenese waarbij er alleen sprake is van asexuele voortplanting, waarnaar uitsluitend vrouwelijke nakomelingen. Bij Hymenoptera kan proces worden geïnduceerd door bacteriën. Als gevolg hiervan bestaat *M. uniraptor* alleen uit vrouwtjes die zich asexueel voortplanten. *M. zaraptor* en *M. raptorellus* planten zich arrhenotokisch. Van de overige *Muscidifurax*-soorten is de voortplantingswijze niet bekend.

Vermoedelijk parasiteren alle *Muscidifurax*-soorten de Huisvlieg (*M. domestica*) en de Stal- of steekvlieg (*S. calcitrans*). Er zijn geen data bekend of er – naast *M. raptor* – *Muscidifurax*-soorten zijn die kunnen overleven in het Nederlandse klimaat.

3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager wil onderzoek doen naar de sekse-determinatie en de evolutie daarvan bij de verschillende wespesoorten door genen o.a. aan- of uit te schakelen, of aan te passen. De aanvrager wil dit doen door gebruik te maken van CRISPR/Cas-complexen, bestaande uit een Cas-eiwit en een guide RNA (gRNA), om specifieke genen uit te schakelen (knock-outs) of te wijzigen. Voor het inbrengen van nieuwe genetische informatie (knock-ins) bevat het CRISPR/Cas-complex een gRNA met een homologie-tag en wordt het complex gecombineerd met lineaire DNA-fragmenten met homologie-tags. Deze complexen zullen op inperkingsniveau ML-I middels micro-injecties in een pop van een wesp of volwassen wesp worden ingebracht. Er zullen geen sequenties worden ingebracht die coderen voor Cas-eiwitten. De aanvrager stelt dat deze werkzaamheden derhalve niet zullen resulteren in een gene drive.

Voorafgaand aan de micro-injectie op ML-I worden wesp poppen met dubbelzijdig tape op een microscoopglas vastgeplakt. Volwassen wespen worden individueel in een klein plastic buisje gehouden, afgesloten met een wattenprop. De wesp wordt verdoofd door CO₂ in de buis te blazen met een dunne naald. Na verdoving wordt de volwassen wesp op een CO₂-pad met continue CO₂-toevoer uitgeschud en geïnjecteerd. Direct na de injectie wordt de wesp teruggeplaatst in het buisje, waar de wesp weer bij zal komen. De aanvrager stelt dat het ongeveer 2 minuten duurt voordat de wespen weer mobiel zijn.

Na injectie met het CRISPR/Cas-complex met, indien van toepassing, de lineaire DNA-fragmenten, worden de poppen en volwassen wespen in een gesloten, breukvrije, lekdichte, dubbele houder naar de D-I-ruimte vervoerd. In de D-I ruimte worden de poppen in een incubator geplaatst tot de poppen van het witte naar het zwarte stadium verkleuren. De poppen worden vervolgens individueel in een buis geplaatst, en voorzien van vliegenpoppen (*Calliphora* sp.), waarin de volwassen wesp na het verpoppen eitjes zal leggen. De volwassen gg-wespen krijgen direct na injectie een vliegenpop in het buisje aangeboden. Na afdoding zullen de gg-wespen verder moleculair of fenotypisch worden geanalyseerd. De aanvrager geeft aan dat afdoding van alle wespen, inclusief de insecten die niet worden gebruikt voor kweek of analyse, zal plaatsvinden door ze in vloeibaar stikstof te dompelen, of door ze gedurende 24 uur bij -20 °C te bewaren.

3.1 Aanvullende maatregelen bij werkzaamheden voorgesteld door aanvrager

De aanvrager is voornemens de werkzaamheden op ML-I uit te voeren volgens de standaard voorschriften die gelden voor dit inperkingsniveau. Voor de handelingen op inperkingsniveau D-I heeft de aanvrager aangegeven de aanvullende voorschriften voor activiteiten met *gg-Drosophila melanogaster* (fruitvlieg), zoals beschreven in artikel 9.1.4.1.2.3.2 van de Regeling ggo¹, in acht te nemen. Deze zijn als volgt:

- Het verblijf bevat een sluis waarvan de opening aan de buitenkant is voorzien van een deur en de opening naar de binnenkant is afgesloten met een gordijn van insectengaas. De deur is aan de onderzijde voorzien van veegborstels en aan de zij- en bovenkant zijn tochtstrips in de sponning aangebracht;
- De ramen van het verblijf zijn afgekit;
- Alle kieren zijn afgekit;
- Alle ventilatieopeningen zijn voorzien van insectengaas;
- Kapstokken voor dagelijkse kleding zijn buiten het verblijf aangebracht;
- Kapstokken voor de werkkleding zijn in de sluis aangebracht;
- Een diepvriezer (-20 °C) is in het verblijf aanwezig;
- Werkkleding wordt gedragen. Alvorens de werkkleding het verblijf verlaat wordt deze, gedurende 10 uur, in een in het verblijf aanwezige diepvriezer (-20 °C) geplaatst om eventueel aanwezige insecten te doden;
- In het verblijf mogen uitsluitend niet-genetisch gemodificeerde insecten aanwezig zijn indien zij deel uitmaken van het experiment;
- Voorafgaand aan het openen van de insectenkooien worden de insecten geïmmobiliseerd met een gevalideerde methode. Tijdens de werkzaamheden worden de insecten met een gevalideerde methode immobiel gehouden. Na afloop van de handelingen worden de insecten overgezet in een container die gesloten is, voordat de insecten mobiel worden;
- Besmet materiaal en afval wordt ontsmet door minimaal 10 uur te bevriezen bij -20 °C. Hetzelfde gebeurt aan het eind van het experiment met de insecten;
- In de werkruimte en de sluis zijn voor wespen geschikte vallen, zoals een elektrische val, vangplaten, een voedselval of feromoonval, aangebracht.

4. Eerder COGEM-advies

De COGEM heeft in 2011 geadviseerd over werkzaamheden met *gg-N. vitripennis* onder ingeperkt gebruik.³³ Hierbij werden *gg-N. vitripennis* in een D-I ruimte vervaardigd en opgekweekt. Ook vonden op dit inperkingsniveau gedragsanalyses plaats. De COGEM stemde hiermee in, met als aanvullende voorwaarden dat bij eventuele incidenten speciale aandacht noodzakelijk is om te voorkomen dat *gg-wespen* met de medewerker meeliften, bijvoorbeeld door in de sluis de werkkleding direct te bevriezen en te autoclaveren en de medewerker daar visueel te laten controleren op de aanwezigheid van *gg-wespen*.

De aanvrager van de vergunning waarop dit advies betrekking heeft, is voornemens bij de voorgenomen werkzaamheden in de D-I-ruimte de aanvullende voorschriften uit de Regeling ggo voor *gg-D. melanogaster* toe te passen. De COGEM heeft meerdere malen geadviseerd over werkzaamheden met *gg-D. melanogaster*.^{34,35} In 2013 heeft de COGEM – naar aanleiding van een onderzoeksrapport – een advies uitgebracht met een basispakket aan inperkingsmaatregelen voor *gg-geleedpotigen*,³⁶ dat

afhankelijk van de soort kan worden aangepast. De Regeling ggo is daarna in werking getreden, waarin maatregelen zijn opgenomen voor *D. melanogaster* die niet volledig overeenkomen met de door de COGEM voorgestelde maatregelen. De COGEM heeft dit verschil sindsdien enkele malen onder de aandacht gebracht.^{37,38,39,40} Zij heeft geadviseerd om in aanvulling op de maatregelen die zijn voorgeschreven in de Regeling ggo, de onderstaande maatregelen te hanteren voor werkzaamheden met gg-*D. melanogaster*:

- Het verblijf heeft een sluis met twee deuren, die niet tegelijkertijd geopend mogen worden. De deuren zijn aan de onderzijde voorzien van veegborstels en aan de zij- en bovenkant zijn tochtstrippen in de sponning aangebracht. De binnendeur mag een gaasdeur zijn met voor *D. melanogaster* geschikt gaas; (vervangt artikel 9.1.4.1.2.3.2.a.)
- Een diepvriezer (-20°C) is in het verblijf aanwezig indien de diepvriezer onderdeel uitmaakt van de methode voor het ontsmetten van besmet materiaal, het afdoden van afval of het afdoden van *D. melanogaster*; (vervangt artikel 9.1.4.1.2.3.2.g.)
- Een autoclaaf is in de ruimte aanwezig indien de autoclaaf onderdeel uitmaakt van de methode voor het ontsmetten van besmet materiaal, het afdoden van afval of het afdoden van *D. melanogaster*;
- Besmet materiaal en afval wordt ontsmet door minimaal 10 uur te bevriezen bij -20 °C of door te autoclaveren. Hetzelfde gebeurt aan het eind van het experiment met de insecten; (vervangt artikel 9.1.4.1.2.3.2.k.)
- Een wastafel en een dispenser voorzien van zeep of een andere voorziening voor het ontsmetten van de handen is aanwezig in de werkruimte;
- Werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- Bij het verlaten van het verblijf worden de handen gewassen met zeep of ontsmet met desinfectans;
- Medewerkers zijn getraind in het werken met gg-*D. melanogaster* en hebben kennis over *D. melanogaster*, met name over de eigenschappen die voor de inperking van belang zijn (zoals gedrag).

5. Overweging

De aanvrager is voornemens om op inperkingsniveau ML-I gg-parasitaire wespen te ontwikkelen met behulp van micro-injecties van de wespenpoppen en volwassen wespen. Na de injectie zullen de gg-wespen op inperkingsniveau D-I verder gehouden en gekweekt worden. De aanvrager beschikt reeds over een vergunning voor werkzaamheden met *N. vitripennis*, en met de huidige aanvraag wordt verzocht ook handelingen met andere parasitaire wespen uit te mogen voeren. De COGEM is gevraagd of zij hiermee kan instemmen. Tevens is de COGEM gevraagd of zij, naast de inschaling van werkzaamheden van individuele bronswespsoorten, ook kan instemmen met de inschaling van werkzaamheden met het genus *Muscidifurax*.

5.1 Eigenschappen van de individuele soorten en genus *Muscidifurax*

De aanvrager is voornemens om gg-wespen te ontwikkelen van de volgende soorten: *N. giraulti*, *N. oneida*, *N. longicornis*, *T. sarcophagae*, *U. rufipes*, *P. vindemmiae*, *M. raptorellus*, *M. uniraptor*, *M. raptor*. Daarnaast is verzocht om inschaling van het gehele *Muscidifurax*-genus, waarvan – naast de eerder genoemde *M. raptorellus*, *M. uniraptor*, *M. raptor* – nog zes andere soorten zijn beschreven. De aanvrager

stelt dat de nieuw toe te voegen soorten morfologisch en fysiologisch vergelijkbaar zijn met *N. vitripennis*, en dat de aanvullende maatregelen die in de Regeling ggo zijn voorgeschreven voor activiteiten met het fruitvliegje *D. melanogaster* afdoende inperking zullen bieden voor deze individuele soorten en soorten die tot het genus *Muscidifurax* behoren.

De soorten waarmee de aanvrager wil werken verschillen onderling slechts gering in grootte: ze variëren van 1 tot 4,8 mm in lengte. De soorten zijn allen parasieten van poppen van diverse vliegensoorten, en in sommige gevallen ook van poppen van bepaalde motten. *M. raptor* en *P. vindemmiae* zijn inheemse soorten; van *U. rufipes* wordt aangenomen dat deze eveneens in Nederland kan overleven. De overige soorten (*N. giraulti*, *N. oneida*, *N. longicornis*, *T. sarcophagae*, en de overige beschreven *Muscidifurax*-soorten *M. raptorellus*, *M. uniraptor*, *M. adanacus*, *M. neoraptorellus*, *M. raptoroides*, *M. similadanacus*, *M. sinesensilla*, en *M. zaraptor*) zijn niet inheems. Vanwege hun gelijkenis met in Nederland voorkomende bronswespen, en het feit dat het generalisten zijn die meerdere vliegensoorten kunnen parasiteren, kan niet worden uitgesloten dat ook de niet-inheemse soorten enige tijd in Nederland kunnen overleven. De COGEM acht het onwaarschijnlijk dat deze wespen als volwassen individu de Nederlandse winters kunnen doorstaan. Mochten ontsnapte exemplaren in de zomer een geschikte gastheer (vliegenpop) aantreffen, dan is het echter mogelijk dat ze in het ei-, larve- of popstadium weten te overleven. Dit hangt mede af van het vermogen van de soort om in diapauze te gaan. Indien soorten zich bovendien ongepaard kunnen voortplanten, vergroot dat de kans op vestiging.

5.2 Vervaardiging van gg-parasitaire wespen op ML-I

De ontwikkeling van de gg-wespen vindt plaats via micro-injecties met CRISPR/Cas-complexen en lineaire DNA-fragmenten om verschillende typen genetische modificaties in het genoom van de wespen aan te brengen, voornamelijk in genen die betrokken zijn bij de reparatie van DNA, de productie van seks-feromonen, vleugelontwikkeling of pigmentatie. Volgens de aanvrager zullen de beoogde modificaties niet leiden tot gg-wespen met schadelijkere eigenschappen dan de oorspronkelijke wespen.

De COGEM is van oordeel dat het risico dat de voorgenomen modificaties resulteren in gg-wespen die schadelijker zijn dan de niet-gemodificeerde wespen, verwaarloosbaar klein is. De COGEM is daarnaast van oordeel dat de kans verwaarloosbaar klein is dat de voorgenomen mutaties kunnen resulteren in de vorming van een gene drive^a, onder andere doordat Cas als eiwit wordt ingebracht en het gRNA niet integreert in het genoom van de wespen.

De micro-injecties bij de wespen zullen worden uitgevoerd op poppen die zijn vastgeplakt op een microscoopglasje, of op volwassen parasitaire wespen die tijdens de procedure op een CO₂-pad verblijven. Voorafgaand aan de behandeling worden de insecten verdoofd met CO₂ in een afgesloten buisje, waarna zij voor het ontwaken weer hierin worden teruggeplaatst. Het gebruik van CO₂ als verdovingsmethode bij insecten is algemeen geaccepteerd en effectief. Tijdens deze procedure kunnen de parasitaire wespen niet wegvliegen, ongeacht hun grootte en vliegcapaciteit.

De COGEM is van oordeel dat het risico voor mens en milieu van het uitvoeren van de beschreven micro-injecties onder ML-I-condities verwaarloosbaar klein is.

a) Een gene-drive is een gen dat in opeenvolgende generaties steeds vaker wordt aangetroffen in de populatie.

5.3 Inperkingsmaatregelen in de D-I-ruimte

De aanvrager verzoekt om de eerder vergunde werkzaamheden met *Nasonia vitripennis* uit te breiden naar andere soorten parasitaire wespen. Volgens de aanvrager zijn de voor de milieurisicobeoordeling relevante eigenschappen van deze parasitaire wespen vergelijkbaar met die van *N. vitripennis*. De aanvrager is voornemens de aanvullende maatregelen te hanteren die zijn voorgeschreven voor werkzaamheden met gg-*D. melanogaster* op D-I.

De COGEM is van oordeel dat de aanvullende maatregelen die gelden voor *D. melanogaster* ook voor de hier beschreven parasitaire wespen afdoende zijn, maar geeft hierbij twee kanttekeningen. Ten eerste wijst de COGEM erop dat zij eerder aanvullingen heeft geadviseerd op de huidige geldende voorschriften voor *D. melanogaster*.³⁹ Deze aanvullingen acht zij eveneens van toepassing op werkzaamheden met de beschreven parasitaire wespen. Ten tweede merkt de COGEM op dat de nieuw toe te voegen parasitaire wespen weliswaar veel gelijkenissen vertonen met *N. vitripennis*, maar dat sommige soorten kleiner (of groter) kunnen zijn dan *N. vitripennis* en *D. melanogaster*. De COGEM adviseert daarom om enkel insectengaas te gebruiken met een dusdanige maaswijdte dat dit ook voor de kleinste wespensoor – in dit geval *M. raptor* – geschikt is.

Daarnaast bevat de aanvraag een breder verzoek om het gehele *Muscidifurax*-genus aan de vergunning toe te voegen. Wanneer hieraan gehoor wordt gegeven, zouden – naast de nu beschreven soorten binnen het genus – ook toekomstige, nog niet-beschreven soorten onder de vergunning vallen. De COGEM acht aannemelijk dat in de toekomst nieuwe *Muscidifurax*-soorten zullen worden beschreven. Hoewel het onwaarschijnlijk is dat deze nieuwe soorten sterk afwijkende eigenschappen zullen hebben, acht de COGEM het wenselijk om eerst de beschikbare informatie over een nieuwe soort in te winnen, om vast te kunnen stellen of de inperkingsmaatregelen ook voor de nieuw ontdekte soort toereikend zijn. De COGEM adviseert daarom om alleen de huidige negen beschreven *Muscidifurax*-soorten in de vergunning op te nemen, en niet het gehele *Muscidifurax*-genus.

6. Conclusie

De COGEM is van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij het uitvoeren van de voorgenomen werkzaamheden met de vijftien in dit advies beschreven parasitaire wespensorten verwaarloosbaar klein zijn, mits deze worden uitgevoerd op inperkingsniveaus ML-I, en op D-I met inachtneming van de aanvullende voorschriften die de COGEM eerder heeft geadviseerd voor *D. melanogaster*. Daarbij moet de maaswijdte van het te gebruiken insectengaas geschikt zijn voor de inperking van de kleinste wespensoor (*M. raptor*).

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2025-07-01> (bezoekt: 19 november 2025)
2. Huber JT (2017). Biodiversity of Hymenoptera. In: Foottit RG, Adler PH. (Eds) Insect Biodiversity: Science and Society (2nd edn.). Wiley Blackwell, Oxford. 419–461
3. Heraty JM et al. (2013). A phylogenetic analysis of the megadiverse Chalcidoidea (Hymenoptera). Cladistics 29: 466–542
4. Gijswit T (2003). Naamlijst van de Nederlandse bronswespen (Hymenoptera: Chalcidoidea). Nederlandse faunistische mededelingen 18: 17–80
5. Darling DC & Werren JH (1990). Biosystematics of *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae): two new species reared from birds' nests in North America. Ann. Entomol. Soc. Am. 83: 352–370
6. Raychoudhury R et al. (2010). Behavioral and genetic characteristics of a new species of *Nasonia*. Heredity 104: 278–288

7. Nederlands soortenregister. https://www.nederlandsesoorten.nl/linnaeus_ng/app/views/species/nsr_taxon.php?id=148968 (bezocht: 14 november 2025)
8. Huijbregts H (2002). Nederlandse bromvliegen (Diptera: Calliphoridae). Entomologische Berichten. 62: 82-89
9. Werren Lab – Department of Biology – Univeristy of Rochester (2011). *Nasonia* research. www.rochester.edu/College/BIO/labs/WerrenLab/WerrenLab-NasoniaResearch.html (bezocht: 14 november 2025)
10. Verhulst EC (2011). Genetic basis of sex determination in the haploidiploid wasp *Nasonia vitripennis*. PhD thesis. Rijksuniversiteit Groningen
11. Lynch JA (2015). The expanding genetic toolbox of the wasp *Nasonia vitripennis* and its relatives. Genetics 199: 897-904
12. Werren JH & Loehlin DW (2009). The parasitoid wasp *Nasonia*: an emerging model system with haploid male genetics. Cold Spring Harb. Protoc. pdb.emo134
13. Nederlands soortenregister. *Nasonia* [https://www.nederlandsesoorten.nl/linnaeus_ng/app/views/species/nsr_taxon.php?id=159883&cat=CTAB PRESENC E STATUS](https://www.nederlandsesoorten.nl/linnaeus_ng/app/views/species/nsr_taxon.php?id=159883&cat=CTAB_PRESENC E STATUS) (bezocht: 14 november 2025)
14. Dittmer J et al. (2016). disentangling a holobiont – recent advances and perspectives in *Nasonia* wasps. Front. Microbiol. 7: 1478
15. Floate KD & Skovgård H (2004). Winter survival of nuisance fly parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) in Canada and Denmark. Bull. Entomol. Res. 94: 331-340
16. Gibson GAP & Floate KD (2001). Species of *Trichomalopsis* (Hymenoptera: Pteromalidae) associated with filth flies (Diptera: Muscidae) in North America. Can. Entomol. 133: 49-85
17. Lysyk TJ (1998). Relationships between temperature and life history parameters of *Trichomalopsis sarcophagae* (Hymenoptera: Pteromalidae). Environ. Entomol. 27: 488-498
18. Gibson G (2000). Differentiation of the species of *Urolepis* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae), potential biocontrol agents of filth flies (Diptera: Muscidae). Can. Entomol. 132: 391-410
19. Stenseng L et al. (2003). Life table studies of the pupal parasitoid *Urolepis rufipes* (Hymenoptera: Pteromalidae) on the house fly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in Denmark. Environ. Entomol. 32: 717-725
20. Rueda LM & Axtell RC (1985). Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. North Carolina Agricultural Research Service Technical Bulletin 278: 55-88
21. Smith L & Rutz DA (1987). Reproduction, adult survival and intrinsic rate of growth of *Urolepis rufipes* [Hymenoptera: Pteromalidae], a pupal parasitoid of house flies, *Musca domestica*. Entomophaga 32: 315-327
22. Nederlands Soortenregister – *Pachycrepoideus vindemmiae* https://www.nederlandsesoorten.nl/linnaeus_ng/app/views/species/nsr_taxon.php?id=159760 (bezocht: 17 november 2025)
23. Bezerra Da Silva CS et al. (2019). Factors affecting the biology of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*). PLoS ONE 14: e0218301
24. Nadel H & Luck RF (1985). Span of female emergence and male sperm depletion in the female-biased, quasigregarious parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 78: 410-414
25. Li J et al. (2022). Effect of maternal age on primary and secondary sex ratios in the ectoparasitoid wasp *Pachycrepoideus vindemmiae*. Entomol. Exp. Appl. 170: 468-476
26. Doğanlar M (2007). A new species of *Muscidifurax* Girault & Sanders, 1910 (Hymenoptera: Pteromalidae) from Adana province, Turkey. Ti.Irk. Entomol. Derg. 31: 243-252
27. Xiao H et al. (2018). A taxonomic study of *Muscidifurax* Girault & Sanders from China (Hymenoptera, Chalcidoidea, Pteromalidae). ZooKeys 776: 91-103
28. Legner EF & Greathead DJ (1969). Parasitism of pupae in East African populations of *Musca domestica* and *Stomoxys calcitrans*. Ann. Ent. Soc. Anz. 62: 128-133
29. Kogan M & Legner EF (1970). A biosystematic revision of the genus *Muscidifurax* (Hymenoptera: Pteromalidae) with descriptions of four new species. Can. Entomol. 102:1268-1290
30. Biopesticides DataBase (2025). *Muscidifurax raptor*. <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/bpddb/Reports/2310.htm> (bezocht: 14 november 2025)
31. Nederlands Soortenregister – *Muscidifurax raptor* https://www.nederlandsesoorten.nl/linnaeus_ng/app/views/species/nsr_taxon.php?id=159739 (bezocht: 14 november 2025)
32. Gottlieb Y & Zchori-Fein E (2001). Irreversible thelytokous reproduction in *Muscidifurax uniraptor*. Entomol. Exp. Appl. 100: 271-278
33. COGEM (2011). Ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde sluipwespen (*Nasonia vitripennis*). COGEM-advies CGM/110829-01

34. COGEM (2001). Transgene landbouwinsecten. COGEM-advies CGM/010424-01
35. COGEM (2005). Afdoding van genetisch gemodificeerde insecten. COGEM-advies CGM/050215-04
36. COGEM (2013). Advies Inperkingsmaatregelen voor werkzaamheden met gg-geleedpotigen onder 'ingeperkt gebruik'. COGEM-advies CGM/130416-01
37. COGEM (2014). Advies Ontwerpregeling ggo onder de loep. COGEM-advies CGM/140131-01
38. COGEM (2014). Inperking van werkzaamheden met gg-*Drosophila melanogaster*. COGEM-advies CGM/140528-01
39. COGEM (2024). Inperking van werkzaamheden met gg-*Drosophila melanogaster*. COGEM-advies CGM/241031-01
40. COGEM (2022). Inschaling van werkzaamheden met gg-*Drosophila suzukii* fruitvliegen waarin een zogenaamde split gene drive is aangebracht. COGEM-advies CGM/220425-01