

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Waterstaat  
Mr. drs. A.W.H. Bertram  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 26 mei 2026  
**KENMERK** CGM/260526-01  
**ONDERWERP** Advies Inschaling werkzaamheden met gg-axolotls (*Ambystoma mexicanum*)

Geachte mevrouw Bertram,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier IG 260015\_001 getiteld 'Activities with genetically modified Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) at D-I/ML-I', ingediend door de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-)axolotls (*Ambystoma mexicanum*), embryo's en cellen afkomstig van deze gg-axolotls. De aanvrager wil de axolotls genetisch modificeren door embryo's te injecteren met een mix van eiwit, DNA, en RNA, waardoor een nieuw gen wordt geïntroduceerd of bestaande genen worden uitgeschakeld. De aanvrager verzoekt om de werkzaamheden met gg-axolotls uit te mogen voeren op inperkingsniveau D-I, waarbij extra maatregelen zullen worden gehanteerd. Daarnaast wordt verzocht om de werkzaamheden met de embryo's en cellen afkomstig van de gg-axolotls op inperkingsniveau ML-I uit te mogen voeren.

De axolotl is een strik aquatische salamandersoort die zijn larvale kenmerken behoudt in zijn volwassen stadium. Axolotls komen van nature voor in het Xochimilco-meergebied in Mexico, maar worden ernstig met uitsterven bedreigd. Axolotls zijn gevoelig voor predatie en leven bij een optimumtemperatuur van ongeveer 18 °C, bij lagere temperaturen vertraagt het metabolisme van de axolotl. In Nederland wordt de axolotl gehouden als huisdier en in dierentuinen. Er is in Nederland één melding van axolotls die in de natuur zijn aangetroffen. Wereldwijd zijn axolotls niet verwilderd aangetroffen buiten hun natuurlijke habitat in Mexico. De COGEM kan instemmen met de voorgestelde werkzaamheden op inperkingsniveau I (D-I/ML-I) met inachtnaam van de voorgestelde aanvullende veiligheidsmaatregelen voor werkzaamheden op D-I. 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

# Advies Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde axolotls (*Ambystoma mexicanum*) op ML-I en D-I

COGEM-advies CGM/260526-01

## 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-)axolotls (*Ambystoma mexicanum*). Het verzoek (IG 260015) is ingediend door de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW, Hubrecht Instituut). De aanvrager verzoekt om werkzaamheden met gg-axolotls en cellen en embryo's afkomstig van deze axolotls op inperkingsniveau I (D-I/ML-I) uit te mogen voeren. De COGEM is gevraagd of zij hiermee kan instemmen.

## 2. Achtergrondinformatie over axolotls

De axolotl (*A. mexicanum*) is een salamandersoort die behoort tot de familie *Ambystomatidae* (molsalamanders). De soort komt endemisch slechts op één plek voor, namelijk in het Xochimilco-merengebied in Mexico-Stad. Axolotls zijn in het wild ernstig met uitsterven bedreigd. Naar schatting leven er momenteel nog slechts 50 tot 1000 axolotls in hun natuurlijke habitat.<sup>1</sup> In het kader van soortbehoud zijn er in Mexico programma's om axolotls vanuit gevangenschap te herintroduceren in hun natuurlijke habitat, al wordt dit bemoeilijkt door predatie van onder andere vissen en watervogels.<sup>2,3</sup> Ook wordt gepoogd om de waterkwaliteit te verbeteren en invasieve soorten te bestrijden om populaties te herstellen.<sup>2,3</sup> Wereldwijd worden axolotls in gevangenschap gehouden, onder andere in dierentuinen, als huisdier en voor wetenschappelijk onderzoek. Axolotls worden met name onderzocht vanwege hun regeneratieve eigenschappen.<sup>4</sup>

### 2.1 De biologie van axolotls

De meeste salamanders brengen hun larvale stadium door in het water en ondergaan vervolgens een metamorfose waarbij onder invloed van hormonen veranderingen optreden in biologische processen en anatomie, waardoor zij op het land kunnen leven.<sup>5</sup> Axolotls ondergaan echter geen metamorfose. Zij blijven ook in het volwassen, reproductieve stadium, hun larvale kenmerken behouden: externe kieuwen en staartvinnen. Hierdoor wordt de axolotl als een strikt aquatische soort beschouwd. Metamorfose kan wel geïnduceerd worden door het toedienen van schildklierhormonen, wat in de meeste gevallen leidt tot een verkorte levensduur.<sup>6,7,8</sup>

Axolotls houden van relatief koud water en leven bij watertemperaturen tussen de 16 en 23 °C met een optimum van ongeveer 18 °C, en bij een pH van 7,0 tot 9,2.<sup>9</sup> Lagere temperaturen vertragen het metabolisme en de bewegingen van de axolotl, maar het dier kan hier nog enige tijd onder overleven.<sup>10,11</sup> Axolotls worden over het algemeen 10-15 jaar oud en zijn geslachtsrijp na ongeveer een jaar.<sup>12</sup> Volwassen dieren worden gemiddeld 20-25 cm lang, grote exemplaren kunnen tot wel 30 cm lang worden. In het wild zijn axolotls doorgaans donkergrijs tot bruin van kleur, maar tegenwoordig worden er ook verschillende andere kleuren axolotls gefokt.

Vrouwtjes kunnen per keer 100 tot 1000 eieren leggen, die in klompjes worden afgezet op waterplanten, stenen of andere objecten in het water.<sup>9,13,14</sup> De embryo's zijn 2 tot 3 mm groot en zijn omgeven door een geleachtige laag.<sup>14,15</sup> Embryo's van axolotls kunnen temperaturen tolereren van tussen de 5 en 25 °C.<sup>9</sup> De embryonale periode, de tijd tussen bevruchting en uitkomen, bedraagt circa 20 dagen afhankelijk van de omgevingsomstandigheden.<sup>16</sup>

Axolotls eten voornamelijk kleine vissen, slakken, rivierkreeftjes en verschillende ongewervelde soorten, maar kunnen ook soortgenoten eten. De belangrijkste natuurlijke vijanden van axolotls zijn (grotere) vissen en soortgenoten.<sup>9</sup> Daarnaast kunnen ook vogels, zoals reigers, en slangen een bedreiging vormen voor axolotls.<sup>14</sup> In hun natuurlijke leefgebied zijn axolotls extra kwetsbaar door de introductie van uitheemse vissoorten, zoals karpers en tilapia's, die zowel eieren als jonge axolotls eten.<sup>17,18</sup> Verder vormt waterverontreiniging in het Xochimilco-merengebied een bedreiging voor het voortbestaan van de axolotl.<sup>2,3</sup>

## **2.2 Voorkomen in Nederland**

Axolotls worden in Nederland gehouden als huisdier en zijn gemakkelijk te verkrijgen via dierenwinkels en particulieren. Wereldwijd is er, voor zover bekend, slechts één melding van axolotls die buiten hun natuurlijke habitat in het wild zijn aangetroffen.<sup>9</sup> Dit betreft een melding van drie levende axolotls die zijn ontdekt in Franeker in Nederland in 2013. De axolotls zijn aangetroffen in een met ijs bedekte sloot in een woonwijk. Twee dieren zijn uit het water verwijderd; het derde dier wist te ontsnappen. Er zijn geen verdere waarnemingen van axolotls in de Nederlandse natuur gerapporteerd.<sup>19</sup>

Naar aanleiding van deze waarneming heeft het team invasieve exoten van de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit een risicobeoordeling laten uitvoeren door Natuurbalans Limes-Divergens BV en het Nederlands Expertise Centrum Exoten (NEC-E).<sup>9</sup> Hieruit kwam naar voren dat het waarschijnlijk is dat axolotls door opzettelijke vrijlating in het milieu in Nederland terecht zouden kunnen komen. In dit rapport wordt ook aangegeven dat de soort in de Nederlandse natuur zou kunnen overleven en zich hier mogelijk zou kunnen voortplanten. Desondanks is wereldwijd slechts één waarneming buiten de natuurlijke habitat bekend, terwijl de soort als huisdier wordt gehouden. Bovendien zijn axolotls gevoelig voor predatie in de Nederlandse natuur en kunnen zij zich als strikt aquatische soort niet via land verder verspreiden naar andere wateren.

## **3. Beschrijving van de voorgenomen werkzaamheden**

De aanvrager is voornemens om werkzaamheden uit voeren met gg-axolotls. Deze voorgenomen werkzaamheden omvatten het vervaardigen van gg-axolotls, handelingen met gg-axolotls en handelingen met embryo's en cellen afkomstig van deze gg-axolotls. De aanvrager verzoekt om experimenten met en huisvesting van gg-axolotls uit te voeren op inperkingsniveau D-I. Voor de experimenten met cellen en embryo's van gg-axolotls wordt verzocht deze op inperkingsniveau ML-I uit te mogen voeren. Daarnaast is de aanvrager ook voornemens om microscopie met gg-axolotls en cellen van de gg-axolotls uit te voeren op AP-I niveau (apparatuurruimte niveau I). De werkzaamheden worden in de onderstaande paragrafen in meer detail beschreven.

### **3.1 Vervaardigen van gg-axolotls**

De gg-axolotls worden verkregen door embryo's te injecteren met een mix van eiwit, DNA, en RNA, waardoor een gen wordt geïntroduceerd of knockouts worden verkregen. De aanvrager geeft aan de volgende methoden toe te passen voor genetische modificatie van axolotl-embryo's:

- Injectie van een Cas9-eiwit met een gide RNA en een plasmide dat het transgen-construct bevat;
- Injectie met een transposase-eiwit en een plasmide dat transposon-elementen bevat;
- Injectie met een restrictie-enzym en een plasmide met restrictie-elementen.

De aanvrager geeft aan dat geen van de gebruikte DNA- of RNA-sequenties zal leiden tot een 'gene drive' en dat, behalve de in de aanvraag genoemde tags met korte virale sequenties, geen virale sequenties worden toegepast. Daarnaast coderen de donorsequenties niet voor schadelijke genproducten.

### **3.2 Huisvesting en experimentele ruimtes**

De aanvrager verzoekt om de huisvesting van de gg-axolotls in een ruimte op D-I niveau te laten plaatsvinden. De axolotls zullen worden gehuisvest in aquaria die aangesloten kunnen zijn op een recirculerend watersysteem. Embryo's en jonge larven worden in groepen gehuisvest, jonge en volwassen axolotls worden individueel gehuisvest in een aquarium vanwege hun kannibalistische eigenschappen.

Ook wordt verzocht om experimenten en tijdelijke huisvesting uit te voeren in een andere ruimte die voldoet aan zowel de voorwaarden voor inperkingsniveau D-I als ML-I. De ML-I/D-I ruimte zal voornamelijk gebruikt worden voor het uitvoeren van experimenten, maar ook als tijdelijke huisvestingruimte in het kader van een dierexperiment of als quarantaineruimte bijvoorbeeld wanneer met chemicaliën wordt gewerkt die de reguliere axolotl-populatie of de rest van de dierfaciliteit niet mogen contamineren. Indien deze ML-I/D-I ruimte gebruikt wordt voor tijdelijke huisvesting (D-I) zullen ML-I activiteiten plaatsvinden in een andere ML-I ruimte.

De aanvrager geeft aan aanvullende maatregelen toe te zullen passen en stelt voor om de volgende aanvullende maatregelen uit de Regeling ggo te hanteren die gelden voor activiteiten met genetisch gemodificeerde *Danio rerio* (zebravis), eveneens een aquatische diersoort:

- De dieren zijn gehuisvest in een als D-I verblijf ingerichte aquariumruimte;
- De dieren worden gehouden in aquaria met afsluitbaar deksel;
- Alle afvoerbuizen en afvoerputjes (doorstroomsysteem naar biologisch filter, rioolbuis) zijn voorzien van filters of gelijkwaardige voorzieningen, die zodanig zijn geconstrueerd dat de verspreiding van dieren langs deze weg wordt tegengegaan;
- Het afvalwater uit de aquaria wordt gefilterd met een gevalideerde methode, waarbij eventuele eitjes dan wel embryo's worden afgevangen, alvorens het wordt afgevoerd.

De aanvrager geeft daarnaast aan dat mannetjes en vrouwtjes apart worden gehuisvest en reproductie uitsluitend plaatsvindt via kunstmatige bevruchting.

### **3.3 Experimenten met gg-axolotls**

De aanvrager zal onder andere experimenten uitvoeren met levende gg-axolotls. Tijdens deze experimenten worden de dieren vanuit het reguliere D-I dierverblijf overgebracht naar de D-I experimentenruimte. Axolotls worden voor deze werkzaamheden onder anesthesie gebracht en blijven gedurende de experimenten onder anesthesie wanneer zij hun afgesloten aquaria verlaten, om ontsnapping te voorkomen. De experimenten omvatten onder andere microscopie, injecties, het verzamelen van organen en weefsels en het aanbrengen van verwondingen zoals amputatie van een ledemaat via operaties. De experimenten met gg-axolotls vinden plaats op D-I met uitzondering van de microscopie wat als kleinschalige handeling op AP-I niveau plaatsvindt (in gesloten eenheden of onder anesthesie). Na afloop van de experimenten worden de axolotls gedood of in leven gehouden voor verdere experimenten. In het laatste geval wordt het dier, wanneer het is ontwaakt, teruggeplaatst in het reguliere dierverblijf. Na injecties worden axolotls gehuisvest in de tijdelijke D-I ruimte, alvorens terug te keren naar het reguliere D-I verblijf, om contaminatie van het water in het reguliere dierverblijf te voorkomen.

### **3.4 Kunstmatige bevruchting van axolotls**

Tijdens de experimenten vindt reproductie uitsluitend kunstmatig plaats. Axolotls worden voor deze handelingen onder anesthesie gebracht. Sperma wordt uit het mannetje verzameld en vervolgens in de cloaca van het vrouwtje ingebracht. Het vrouwtje wordt daarna teruggeplaatst in een aquariumtank, waarna de bevruchte eieren worden verzameld. Na de procedure verblijven de vrouwtjes gedurende de nacht in de D-I experimentenruimte, zodat alle eieren kunnen worden verzameld voordat de vrouwtjes worden teruggeplaatst in het recirculerende watersysteem van de reguliere dierfaciliteit. Daarnaast kan kunstmatige bevruchting plaatsvinden door onbevruchte eieren te mengen met sperma en deze zo in vitro te fertiliseren.

### **3.5 Experimenten met axolotl-eieren en axolotl-larven**

Micro-injecties van axolotl-eieren om genen te introduceren of uit te schakelen, vinden plaats in afgesloten schaaltes op ML-I in de ML-I/D-I experimentenruimte. Geïnjecteerde axolotl-eieren worden na injectie met een mix van eiwit, DNA, en RNA overnacht gehuisvest in deze tijdelijke D-I huisvestingsruimte, de volgende ochtend keren ze terug naar het reguliere D-I verblijf.

Daarnaast zullen axolotl-eieren en -larven (in het stadium vóór het uitgroeien van de ledematen) worden geïnjecteerd met 4-OHT, een analoog van tamoxifen. Axolotls in het larvale-stadium zullen niet onder anesthesie zijn, maar zijn niet in staat zich op land te bewegen. Om contaminatie van 4-OHT met andere axolotls te voorkomen, verblijven de eieren en larven na injectie twee weken in quarantaine in de tijdelijke D-I ruimte, alvorens terug te keren naar het reguliere dierverblijf.

## **4. Eerder COGEM-advies**

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over axolotls of over andere soorten salamanders of amfibieën. De COGEM heeft wel eerder geadviseerd over de huisvesting van gg-zebravissen (*Danio rerio*), die net als axolotls in aquaria worden gehouden.<sup>20</sup>

## **5. Overweging en advies**

De aanvrager is voornemens om gg-axolotls te vervaardigen en werkzaamheden uit te voeren met gg-axolotls, alsmede met cellen en embryo's afkomstig van deze gg-axolotls. De aanvrager verzoekt om

de huisvesting en experimenten met gg-axolotls uit te voeren op D-I niveau met inachtnaam van een aantal aanvullende maatregelen voor zebravissen, die ook in aquaria gehouden worden. Tevens verzoekt de aanvrager om experimenten met cellen en embryo's van gg-axolotls uit te mogen voeren op ML-I inperkingsniveau.

Axolotls zijn strikt aquatische dieren die ook in het volwassen stadium hun larvale kenmerken behouden. Metamorfose naar een terrestrisch stadium treedt slechts op na kunstmatige inductie, en gaat doorgaans gepaard met een verkorte levensduur.<sup>6,7,8</sup> Axolotls zijn een ernstig bedreigde diersoort die endemisch in het Xochimilco-meergebied in Mexico-Stad leven. Daarnaast worden axolotls wereldwijd in gevangenschap gehouden als huisdier, in dierentuinen en in laboratoria, waar ze met name worden onderzocht vanwege hun regeneratieve vermogen.

Gezien het Nederlandse klimaat zouden axolotls in theorie enige tijd kunnen overleven in Nederland en zich mogelijk voortplanten, hoewel ze slechts beperkt bestand zijn tegen langdurige temperaturen van lager dan 16 °C.<sup>9,10,11</sup> Er is één geval van introductie van drie axolotls bekend in de Nederlandse natuur. Van het exemplaar dat niet werd gevangen zijn nadien geen waarnemingen meer gedaan en langdurige overleving wordt onwaarschijnlijk geacht.<sup>9</sup> Wereldwijd zijn axolotls nog nooit verwilderd aangetroffen buiten hun natuurlijke habitat, terwijl de soort vaak als aquariumhuisdier wordt gehouden. Axolotls zijn gevoelig voor waterverontreiniging en predatie en kunnen zich, als strikt aquatische soort, niet via land verspreiden naar andere wateren.<sup>9,13,17,18</sup> Het is dan ook onwaarschijnlijk dat de soort langdurig in het Nederlandse milieu zal overleven of zich hier zou kunnen handhaven.

Tijdens de voorgenomen experimenten met de gg-axolotls op inperkingsniveau D-I zullen aanvullende maatregelen genomen worden om verspreiding naar het milieu te voorkomen (zie §3.2). Zo zullen de dieren gehouden worden in aquaria met afsluitbaar deksel en afvoer van water zal worden voorzien van filters of gelijkwaardige voorzieningen waardoor de axolotls of eieren/embryo's daarvan niet verder kunnen verspreiden naar het milieu. De COGEM is van oordeel dat met deze maatregelen verspreiding van gg-axolotls naar het milieu tijdens de voorgenomen werkzaamheden wordt voorkomen.

Alles in overweging nemende, kan de COGEM instemmen met de voorgestelde werkzaamheden met gg-axolotls op inperkingsniveau D-I met inachtnaam van de voorgestelde aanvullende veiligheidsmaatregelen. Daarnaast kan de COGEM instemmen met de beschreven experimenten met cellen en embryo's afkomstig van gg-axolotls op inperkingsniveau ML-I. De COGEM is van oordeel dat de risico's voor mens en milieu op deze inperkingsniveaus en in combinatie met de aanvullende maatregelen, verwaarloosbaar klein zijn.

## Referenties

1. Conservation International. Axolotl conservation. <https://www.conservation.org/learning/axolotl-conservation> (bezoekt op: 13-05-26)
2. Zambrano L et al. (2010). Food web overlap among native axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and two exotic fishes: carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Xochimilco, Mexico City. *Biol. Invasions* 12: 3061-3069
3. Ramos AG et al. (2025). Movement ecology of captive-bred axolotls in restored and artificial wetlands: Conservation insights for amphibian reintroductions and translocations. *PLoS One* 20: e0314257
4. Bölük A et al. (2022). Axolotl: A resourceful vertebrate model for regeneration and beyond. *Dev. Dyn.* 251: 1914-1933
5. Brown DD & Cai L (2007). Amphibian metamorphosis. *Dev. Biol.* 306: 20-33

6. Coots PS & Seifert AW (2015). Thyroxine-induced metamorphosis in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Methods Mol. Biol.* 1290: 141-145
7. Monaghan JR et al. (2014). Experimentally induced metamorphosis in axolotls reduces regenerative rate and fidelity. *Regeneration* 1: 2-14
8. Vieira WA et al. (2020). Advancements to the Axolotl Model for Regeneration and Aging. *Gerontology* 66: 212-222
9. Van de Koppel S. & Vos JH (2013). Risk analysis of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*) in the Netherlands. *Natuurbalans - Limes Divergens BV / NEC-E, Nijmegen*
10. Gresens J (2004). An introduction to the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Lab Anim.* 33: 41-47
11. Axolotls. Requirements & Water Conditions. <https://www.axolotl.org/requirements.htm> (bezoekt op: 19-05-26)
12. Natural History Museum. Axolotls: Meet the amphibians that never grow up. <https://www.nhm.ac.uk/discover/axolotls-amphibians-that-never-grow-up.html> (bezoekt op: 13-05-26)
13. Farkas, J. E., & Monaghan, J. R. (2015). Housing and maintenance of *Ambystoma mexicanum*, the Mexican axolotl. In *Salamanders in regeneration research: methods and protocols* (pp. 27-46). New York, NY: Springer New York.
14. San Diego Zoo Wildlife Alliance Library (2026). Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) Fact Sheet: Summary. <https://ielc.libguides.com/sdzg/factsheets/axolotl/summary> (bezoekt op: 13-05-26)
15. García-González F et al. (2025) Embryo development in Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*): a stage morphological study. *Front. Amphib. Reptile Sci.* 3: 1535817
16. Voss SR et al. (2009). *Ambystoma mexicanum*, the axolotl: a versatile amphibian model for regeneration, development, and evolution studies. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2009: pdb-emo128
17. Zambrano L et al. (2007). A population matrix model and population viability analysis to predict the fate of endangered species in highly managed water systems. *Anim. Conserv.* 10: 297-303
18. Zambrano L et al. (2010). Food web overlap among native axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and two exotic fishes: carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Xochimilco, Mexico City. *Biol. Invasions* 12: 3061-3069
19. Waarneming.nl <https://waarneming.nl/> (bezoekt op: 20-05-26)
20. COGEM (2022). Gezamenlijke huisvesting van mannelijke en vrouwelijke genetisch gemodificeerde zebravissen. COGEM-advies CGM/220422-01