

Voorzitter: prof.dr.ir. B.C.J. Zoeteman

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

Uw kenmerk
C/BE/96/01

Uw brief van
27 februari 2004

Kenmerk
CGM/040402-01

Datum
2 april 2004

Onderwerp
Advies marktdossier C/BE/96/01 'Herbicidentolerant koolzaad met gecontroleerd
bestuivingsmechanisme'

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van het dossier C/BE/96/01, 'A new hybridisation system in oilseed rape (*Brassica napus*) (MS8/Rf3)' voor het in de handel brengen van genetisch gemodificeerd koolzaad door Bayer CropScience en het voorblad dat door het Bureau GGO is opgesteld, heeft de COGEM het volgende advies met bijbehorende signalering opgesteld.

Samenvatting advies

Onderhavige koolzaadlijnen (Ms8, Rf3 en Ms8 x Rf3) zijn door de inbouw en de expressie van het *bar* gen minder gevoelig voor herbiciden met de werkzame stof glufosinaat-ammonium. Daarnaast is door het inbrengen van het *barnase* gen een mannelijk steriele lijn (Ms8) gecreëerd waardoor zelfbestuiving in deze plant wordt voorkomen. Op deze manier wordt een gecontroleerd bestuivingsmechanisme verkregen. Het *barstar* gen in de Rf3 lijn zorgt door remming van het Barnase eiwit, na kruising met de Ms8 lijn, voor een volledig vruchtbaar kruisingsproduct (Ms8 x Rf3).

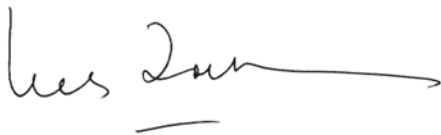
De COGEM acht de uitkruisingsrisico's voor mens en milieu, bij de import, verwerking en teelt van onderhavige genetisch gemodificeerde koolzaadlijnen verwaarloosbaar klein. Koolzaad kan in lage percentages uitkruisen met enkele wilde verwanten. Alleen het kruisingsproduct tussen koolzaad en rapenzaad kan zich vestigen. Herbicidentolerante koolzaadplanten bezitten echter geen grotere verspreidingscapaciteit noch een hogere persistentie in het milieu dan niet-gemodificeerde planten. Het ingebrachte herbicidentolerantie gen geeft de plant alleen een selectief voordeel indien ze bespoten wordt met het herbicide glufosinaat. Dit zal behoudens onder landbouwkundige omstandigheden, slechts bij uitzondering in de natuur voorkomen. De ingebrachte *barnase* en *barstar* genen geven de plant geen verhoogde fitness aangezien mannelijke steriliteit en 'herstelde vruchtbaarheid' geen selectief voordeel bieden.

Samenvatting signalering

De COGEM signaleert dat de milieubeoordeling van het herbicidentolerante genetisch gemodificeerde koolzaad maatschappelijk niet los gezien kan worden van de combinatie met het herbicidegebruik. De milieukundige toelaatbaarheid van het herbicide glufosinaat-ammonium, en het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen in het algemeen, is evenwel niet ter advisering aan de COGEM maar aan het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen (CTB). Bij de Engelse 'Farm Scale Evaluations' is het gecombineerde effect van het herbicidentolerante genetisch gemodificeerde gewas en het bijbehorend herbicidegebruik op de biodiversiteit van de akker beoordeeld. De COGEM signaleert dat, ondanks dat de mogelijke effecten van de genetische modificatie van het gewas en van het voorziene herbicidegebruik als aanvaardbaar worden beoordeeld, er een geringere biodiversiteit op de akker met het gemodificeerde gewas kan optreden hetgeen een rol in het maatschappelijke debat is gaan spelen. Vanuit maatschappelijk-ethische optiek zal de COGEM dit jaar over de 'Farm Scale Evaluations' een op de Nederlandse situatie toegespitste signalering uitbrengen die mede recht beoogt te doen aan de complexiteit van het vraagstuk.

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

Hoogachtend,



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

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

Titel: Markttoelating C/BE/96/01 'Herbicidentolerant koolzaad met een gecontroleerd bestuivingsmechanisme'

COGEM advies: CGM/040402-01

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de mogelijke risico's voor mens en milieu bij de markttoelating van teelt, import en verwerking van genetisch gemodificeerde koolzaadlijnen.

In 1996 is een aanvraag ingediend door Plant Genetic Systems (nu Bayer Crop-Science) voor teelt, import en industriële verwerking tot producten voor voedings- en voedertoepassingen, van de genetisch gemodificeerde koolzaadlijnen Ms8, Rf3 en Ms8xRf3. De koolzaadlijnen zijn door de inbouw en expressie van het *bar* gen tolerant geworden voor herbiciden met de werkzame stof glufosinaat (glufosinaat-ammonium). Daarnaast is door de insertie van het *barnase* gen een mannelijk steriele koolzaadlijn verkregen. De plant kan geen hierdoor geen levensvatbare pollen produceren waardoor zelfbestuiving wordt voorkomen. Op deze manier is een gecontroleerd bestuivingsmechanisme verkregen. Insertie van het *barnase* gen resulteert in een herstelde vruchtbaarheid als de lijnen Ms8 en Rf3 met elkaar worden gekruist.

De COGEM heeft op 7 juli 1999 (CGM/990707-02) positief geadviseerd over een markttoelating voor teelt, import en verwerking van onderhavige koolzaadlijn. In 1998 heeft de Scientific Committee of Plants (SCP) eveneens een positief advies uitgebracht, waarna de Europese Commissie een stemvoorstel tot toelating heeft voorbereid. Op verzoek van enkele lidstaten is de stemming destijds uitgesteld en tot op heden heeft deze stemming niet plaatsgevonden.

In 2001 heeft de aanvrager aanvullende informatie geleverd om te voldoen aan de vereisten van de Europese 2001/18/EC richtlijn. In 2004 heeft België een nieuwe beoordeling naar de Europese Commissie gestuurd. In deze nieuwe beoordeling wordt de teelt van de genetisch gemodificeerde koolzaadlijnen afgewezen omdat er niet voldaan wordt aan bepaalde voorwaarden. Ten eerste is België als competente autoriteit van mening dat de door de aanvrager voorgestelde maatregelen, om de verspreiding van pollen en zaden en de gevolgen daarvan te beperken, niet goed uitvoerbaar en controleerbaar zijn. Ten tweede is zij van mening dat de aanvrager onvoldoende maatregelen treft om het verlies aan biodiversiteit zoals dat is aangetoond in de 'Farm Scale Evaluations' (16) te compenseren. Ten derde wijst zij op het feit dat uitkruising zal plaatsvinden tussen onderhavige koolzaadlijnen en

(wilde) verwanten in een tijd waarin een coëxistentieregelgeving nog niet verwezenlijkt is.

Aspecten van het gewas

Koolzaad (*Brassica Napus*) behoort tot het genus *Brassica* waartoe onder andere kool (*Brassica oleracea*), raapzaad (*Brassica rapa*) en zwarte mosterd (*Brassica nigra*) behoren. Ze maken deel uit van de familie van de *Cruciferae* (*Brassicaceae*).

Koolzaad is vermoedelijk ontstaan als een gevolg van natuurlijke hybridisatie tussen *Brassica oleracea* en *Brassica rapa* (1). Er wordt onderscheid gemaakt tussen twee verschillende soorten *B. napus* te weten koolraap en bladkool enerzijds en koolzaad anderzijds. Koolzaad is weer onder te verdelen in winter- en zomerkoolzaad. Winterkoolzaad geeft een hogere opbrengst maar heeft een milde winter nodig om te kunnen bloeien. Zomerkoolzaad daarentegen geeft een lage opbrengst en is voor haar bloei niet afhankelijk van een milde winter. Vanwege de lage opbrengst wordt zomerkoolzaad in Nederland nauwelijks geteeld (2).

Raapzaad en zwarte mosterd behoren tot de Nederlandse flora. Van koolzaad is het onduidelijk of deze plant in Nederland volledig is ingeburgerd of dat de planten telkens opslaan uit gemorst zaad (1). In Nederland wordt koolzaad aangetroffen als cultuurplant op en rond akkers en als wilde plant op ruderaal terreinen.

Koolzaad kent de volgende structuren voor verspreiding en overleving: pollen, zaden en voor enkele varianten een bladrozet met een verdikte wortel.

Onder veldomstandigheden is koolzaad hoofdzakelijk een zelfbestuivend gewas, hoewel er uitkruisingspercentages zijn waargenomen van 5 tot 30% (3). De pollen van koolzaad zijn relatief groot en zwaar. De vitaliteit van de pollenkorrels neemt na vier tot vijf dagen sterk af (11). Bestuiving vindt plaats door zowel contact met naburige planten als insecten en wind (3). De hoeveelheid pollen neemt sterk af als de afstand tot het veld waar het koolzaad verbouwd wordt, toeneemt. Bestuiving over lange afstanden vindt voornamelijk plaats door hommels en bijen (4).

De zaden van de koolzaadplant zijn klein en worden in grote hoeveelheden geproduceerd. Afhankelijk van de koolzaadcultivar kunnen de zaden onder normale teeltomstandigheden vier jaar in de bodem overleven. Als de bodem niet wordt bewerkt is een overlevingsduur van elf jaar geconstateerd (9). Hierbij dient opgemerkt te worden dat de overlevingsduur van het zaad sterk afhankelijk is van de cultivar.

Uitkruising van koolzaad met wilde verwanten is mogelijk. De uitkruising treedt echter niet altijd spontaan op. Voor spontane uitkruising van *B. napus* met wilde verwanten is onder meer een deels overlappende bloeiperiode een voorwaarde. Van koolzaad is bekend dat ze onder veldcondities, in lage percentages, spontaan kan

uitkruisen met vier wilde verwanten: *B. rapa* (raapzaad), *Brassica juncea* (bruine mosterd), *Hirschfeldia incana* (grijze mosterd) en *Raphanus raphanistrum* (knophorik), (11,18). Van de kruising tussen *B. napus* en *B. rapa* is aangetoond dat deze hybride zich blijvend kan vestigen (10, 11). Van andere hybriden is dit niet aangetoond.

Moleculair-biologische aspecten

Beschrijving van de geïntroduceerde genen

De genetisch gemodificeerde koolzaadlijn Ms8 is gegenereerd met behulp van de bacterie *Agrobacterium tumefaciens*. Hierbij is gebruik gemaakt van de vector pTHW107. Deze vector bevat tussen de linker en de rechter 'border' de volgende elementen:

- *barnase* gen, een gen dat codeert voor een ribonuclease, afkomstig van *Bacillus amyloliquefaciens*. Het wordt gereguleerd door de tapetum-specifieke PTA29 promotor afkomstig van *Nicotiana tabacum* en de terminator van het *nopaline synthase* gen afkomstig van *A. tumefaciens*.
- *bar* gen, codeert voor fosfinotricine-acetyltransferase, afkomstig van *Streptomyces hygroscopicus*. Het gen wordt gereguleerd door de PssuAra promotor van *Arabidopsis thaliana* en de Tg7 terminator afkomstig van *A. tumefaciens*.

De genetisch gemodificeerde koolzaadlijn Rf3 is tevens gegenereerd door middel van een agrobacterium transformatie. Hierbij is gebruik gemaakt van de vector pTHW118. Deze vector bevat tussen de linker en rechter 'border' de volgende elementen:

- *barstar* gen, een gen afkomstig van *B. amyloliquefaciens*. Het codeert voor een remmer van het Barnase eiwit. Het gen wordt gereguleerd door de tapetum-specifieke PTA29 promotor afkomstig van *N. tabacum* en de terminator van het *nopaline synthase* gen afkomstig van *A. tumefaciens*.
- *bar* gen, codeert voor fosfinotricine-acetyltransferase, afkomstig van *S. hygroscopicus*. Het gen wordt gereguleerd door de PssuAra promotor van *A. thaliana* en de Tg7 terminator afkomstig van *A. tumefaciens*.

De koolzaadlijn Ms8xRf3 is door klassieke veredeling verkregen.

In de koolzaadlijnen zijn geen antibioticumresistentiegenen aanwezig.

Eigenschappen van de geïntroduceerde genen

De vrouwelijke Ms8 koolzaadlijn is mannelijk steriel. Deze eigenschap is verkregen door de koolzaadplant genetisch te modificeren met het *barnase* gen. Dit gen codeert voor een ribonuclease dat selectief tot expressie komt in de tapetumcellen gedurende helmknop-ontwikkeling. Hierdoor worden de tapetumcellen vernietigd waardoor de plant geen levensvatbare pollen kan vormen (5).

In de mannelijke Rf3 koolzaadlijn is het *barstar* gen gebracht. Dit gen codeert voor een remmer van het Barnase eiwit. Deze remmer wordt alleen tot expressie gebracht in de tapetumcellen tijdens helmknop-ontwikkeling. Doordat er in de Ms8 lijn geen zelfbestuiving meer kan plaatsvinden zal er kruisbestuiving plaatsvinden tussen deze lijn en de Rf3 lijn. Na kruising van deze twee lijnen leidt expressie van het *barstar* gen tot herstel van de fertiliteit door de vorming van cel-specifieke RNase/RNase remmende complexen (6). De hybriden (Ms8xRf3) die hieruit ontstaan zijn weer volledig vruchtbaar.

Daarnaast bevatten de koolzaadlijnen het *bar* gen dat codeert voor het enzym fosfinotricine-acetyltransferase (PAT). Expressie van dit eiwit resulteert in een tolerantie voor het herbicide glufosinaat.

Toediening van glufosinaat leidt tot een afname van glutamine- en een toename van het ammonium-niveau in plantenweefsels, doordat de activiteit van het enzym glutamine synthetase geremd wordt. Als gevolg hiervan zal de fotosynthese stoppen waardoor de plant binnen enkele dagen zal afsterven (7). De genetisch gemodificeerde koolzaadplant is door het ingebrachte *bar* gen echter tolerant geworden voor het herbicide waardoor de plant niet zal afsterven.

Insertie van genen in het A of C genoom van koolzaad

De plaats waar het transgen in het genoom van koolzaad geïnserteerd is, speelt een belangrijke rol bij vestigingskansen van de gevormde hybride. Bij het ontstaan van koolzaad zijn twee sets chromosomen van twee verschillende diploïde soorten gecombineerd. De kruising tussen *B. oleracea* (CC) en *B. rapa* (AA) geeft namelijk *B. nap*a (AACC). De *bar*, *barstar* en *barnase* genen kunnen geïnserteerd worden in het A of het C genoom van koolzaad. Onderzoek heeft aangetoond dat de insertie van de gewenste genen in het C genoom van koolzaad, in vergelijking met insertie in het A genoom, zal leiden tot een geringere kans op terugkruising in de populatie. Hierdoor neemt de kans dat het transgen zich blijvend in de populatie zal vestigen af (17). Van onderhavige koolzaadlijnen is niet bekend in welk genoom de genen zijn geïnserteerd.

Overwegingen

Gevolgen van mogelijke uitkruising naar wilde verwanten

Milieueffecten door uitkruising van het genetisch gemodificeerde koolzaad met een wilde verwant zullen pas optreden als er een hybride gevormd wordt die nakomelingen kan produceren. De mate van uitkruising onder natuurlijke omstandigheden hangt van een aantal factoren af. Ten eerste moeten er zich kruisbare verwanten in de nabije omgeving van het genetisch gemodificeerde koolzaad bevinden. Ten tweede is een gedeeltelijk overlappende bloeiperiode vereist. Als de

kruisbestuiving door insecten plaatsvindt moeten beide verwanten door hetzelfde insect bestoven worden. Naast deze vereisten spelen factoren zoals het klimaat, en topografische ligging een rol (11). Van koolzaad is bekend dat ze in zeer lage percentages spontaan kan uitkruisen met enkele verwanten. Hierbij dient opgemerkt te worden dat het overlevingspercentage van deze hybriden doorgaans laag is (11). Hiernaast hebben onderzoeken in Denemarken, met behulp van de AFLP-marker techniek, aangetoond dat de hybride van *B. napa* en *B. rapa* zich onder natuurlijke omstandigheden kan vestigen (10,11). Van andere koolzaadhybriden is dit niet aangetoond (11).

Een hybride met het *bar* gen zal alleen een selectief voordeel verkrijgen indien bespuiting met het herbicide glufosinaat plaatsvindt. Toepassing van glufosinaat vindt doorgaans alleen plaats in een agronomische omgeving.

Verschillende langlopende onderzoeken in Groot-Brittannië hebben tevens aangetoond dat de herbicidentolerante koolzaadplanten geen grotere verspreidingscapaciteit bezitten of een hogere persistentie verwerven dan niet-getransformeerde planten (11,12).

Door uitkruising van de koolzaadlijnen met wilde verwanten kunnen ook de *barstar* en *barnase* genen in deze verwanten geïntroduceerd worden. De COGEM verwacht geen verhoogde fitness voor deze planten aangezien mannelijke steriliteit (*barnase* gen) en 'herstelde vruchtbaarheid' (*barstar* gen) geen selectief voordeel aan de plant bieden.

Gevolgen van opslag

Zaden van de koolzaadplant kunnen lang in de bodem overleven. Hierdoor is het mogelijk dat opslagplanten zullen groeien tussen andere gewassen. Als op deze akker in een later stadium conventioneel koolzaad wordt verbouwd kunnen op deze manier rasonzuiverheden ontstaan. De opslag van koolzaad kan goed bestreden worden door toepassing van een herbicide met een andere werkzame stof dan glufosinaat. In de biologische landbouw waar geen herbiciden toegepast worden kan een teeltwisseling van gg-koolzaad naar niet gg-koolzaad leiden tot onzuiverheden in het biologisch geteelde gewas. Onderzoek heeft aangetoond de zaden van koolzaad onder normale teeltomstandigheden tot vier jaar in de bodem kunnen overleven en daar kiemkrachtig zijn (9). In het kader van de coëxistentie is dit een aandachtspunt.

Conclusies en advies

Koolzaad kan in lage percentages uitkruisen met enkele wilde verwanten. Van het kruisingsproduct tussen *B. napa* en *B. rapa* is bekend dat het kan zich vestigen. Van andere hybriden is dit niet aangetoond. Verschillende onderzoeken hebben aangetoond dat herbicidentolerante koolzaadplanten geen grotere verspreidingscapaciteit bezitten of een hogere persistentie verwerven dan niet-gemodificeerde planten. Het ingebrachte *bar* gen coderend voor glufosinaat-tolerantie geeft de plant alleen een selectief voordeel indien ze bespoten wordt met het herbicide glufosinaat. Dit zal slechts het geval zijn onder agronomische omstandigheden. De COGEM acht daarmee de kans dat een kruisingsproduct zich ontwikkelt tot een onkruid, een criterium waarop bij een marktaanvraag wordt getoetst, verwaarloosbaar klein. Tevens kunnen glufosinaat-tolerante planten zonodig goed bestreden worden met een herbicide met een andere werkzame stof dan glufosinaat.

De ingebrachte *barnase* en *barstar* genen geven de plant geen verhoogde fitness aangezien mannelijke steriliteit en 'herstelde vruchtbaarheid' geen selectief voordeel bieden aan de plant waardoor uitkruising van onderhavige koolzaadlijnen met wilde verwanten geen effect op de ecologie van deze verwanten zal sorteren.

Op basis van bovenstaande argumenten acht de COGEM de risico's voor mens en milieu, bij de import, verwerking en teelt van de genetisch gemodificeerde koolzaadlijnen Ms8, Rf3 en Ms8xRf3, verwaarloosbaar klein

Signalering

Coëxistentie

De COGEM signaleert dat uitkruising en opslag van genetisch gemodificeerd koolzaad geen milieuveiligheidsprobleem is maar dat het wel een rol van betekenis speelt in het kader van de coëxistentieproblematiek. Genetisch gemodificeerd koolzaad kan uitkruisen met conventioneel koolzaad. Ook kunnen de zaden van de koolzaadplant lang persisteren in de grond. Als deze zaden uitlopen kunnen ze uitkruisen met niet genetisch gemodificeerd koolzaad wanneer dat op de akker verbouwd wordt. Op deze wijze kunnen er onzuiverheden in niet-gemodificeerde koolzaadvelden ontstaan.

Onderhavige aanvraag maakt deel uit van de gecentraliseerde Europese procedure voor de markttoelating van genetisch gemodificeerde gewassen. De COGEM wijst op het feit dat er in Nederland een beperkt areaal angewend wordt voor de verbouwing van koolzaad (2). Tevens wordt er in de nabije toekomst geen teelt van genetisch gemodificeerde koolzaad in Nederland verwacht (13). Problemen met coëxistentie bij het verbouwen van koolzaad worden daarom op korte termijn nog niet in Nederland verwacht. In de toekomst kunnen mogelijk wel problemen ontstaan. Betrokken partijen dienen daarom onderling afspraken te maken over het in acht nemen van isolatieafstanden. Tevens zijn, met in achtneming van de door de EU vastgestelde waarden, afspraken over drempelwaarden voor de toegestane vermenging met ggo's bij gewas, productbewerking en zaden noodzakelijk. Deze afspraken dienen mede om wederzijdse aansprakelijkheidsstelling te voorkomen.

Effecten op de biodiversiteit door de combinatie van herbicidegebruik en het genetisch gemodificeerde koolzaad

België is, als competente autoriteit, van mening dat de teelt van onderhavige koolzaadlijnen niet verantwoord is. Deze mening heeft zij mede gebaseerd op de uitkomsten van de 'Farm Scale Evaluations' (FSE's) die in oktober 2003 door de Royal Society in Londen gepubliceerd zijn (16). De onderzoekers van de FSE's constateren een verlies in biodiversiteit als zij de teelt van conventioneel koolzaad vergelijken met de teelt van herbicidentolerant koolzaad. België is van mening dat de aanvrager onvoldoende maatregelen treft om dit verlies in biodiversiteit te compenseren.

De COGEM heeft in november 2003 een technisch-wetenschappelijke signalering uitgebracht (CGM/031128-01) betreffende de FSE's. Hierin stelt zij dat de afname in biodiversiteit zoals die gevonden is wanneer de teelt van conventioneel koolzaad vergeleken wordt met de teelt van herbicidentolerant koolzaad, niet het directe gevolg is van het genetisch gemodificeerde gewas op zich. Het is het directe gevolg van het verschil in herbicidegebruik tussen de twee teelten. Toelating en beoordeling van de milieueffecten van herbiciden zijn geen taken van de COGEM maar van het College

voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen (CTB). Dit college heeft de milieu-effecten van het voorziene gebruik van glufosinaat ammonium als aanvaardbaar beoordeeld. De COGEM signaleert dat, ondanks dat de mogelijke effecten van de genetische modificatie van het gewas en van het voorziene herbicidengebruik als aanvaardbaar worden beoordeeld, er een geringere biodiversiteit op de akker met het gemodificeerde gewas kan optreden hetgeen een rol in het maatschappelijke debat is gaan spelen. Het debat dat naar aanleiding van de FSE is opgelaaid komt voort uit een polarisatie tussen de op efficiëntie in de landbouw gerichte belangen en die welke de biodiversiteit willen behouden. Daarbij spelen de gevolgen voor de gehele keten tot aan de consument een rol. De COGEM is voornemens in 2004 een signalering uit te brengen waarin deze complexiteit van de maatschappelijke implicaties van de FSE's zal worden belicht.

De COGEM merkt overigens op dat het soort gewas (koolzaad, maïs etc.) dat wordt geteeld van grotere invloed is op de biodiversiteit in de akker dan de aard van het gewas (gg of niet-gg) (15). Zo is de biodiversiteit in een akker waar gg-koolzaad verbouwd wordt aanzienlijk groter dan in een akker waar niet-gg-maïs wordt verbouwd.

Gene Stacking

De COGEM signaleert verder dat in Canada op enige schaal 'gene stacking' is aangetroffen. Het betrof hier opslagplanten met een meervoudige herbicidentolerantie (14). Hierdoor wordt de bestrijding van koolzaad bemoeilijkt. Momenteel is dit probleem in Canada nog beheersbaar omdat nu voor deze planten nog andere bruikbare herbiciden beschikbaar zijn.

Indien genetisch gemodificeerd koolzaad in Nederland geteeld gaat worden is het van belang om voorzichtigheid te betrachten met het telen van genetisch gemodificeerde koolzaadcultivars met verschillende herbicidentoleranties.

Referenties

- (1) Van der Meijden, R (1996). Heukels' flora van Nederland, 22^e druk, Wolters-Noordhof, Groningen
- (2) Kempenaar, C., Van der Brink, L., Bus, C.B., Groten, J.A.M., De Visser, C.L.M., Lotz, L.A.P. (2003). Gangbare landbouwkundige praktijk en recente ontwikkelingen voor vier akkerbouwgewassen in Nederland. Plant Research International, Wageningen UR
- (3) Consensus Document on the Biology of *Brassica napus* L. (Oilseed rape) 1997 No. 7
- (4) Ramsay G, Thompson C, Squire G (2002) Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape. Final report of DEFRA project RG0216
- (5) Mariani, C., De Breuckeleer, M., Truettner, J., Leemans, J., Goldberg, RB. (1990). Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene. *Nature* **347**: 737-741
- (6) Mariani, C., Gossele, V., De Breuckeleer, M., De Block, M., Goldberg, RB. De Greef, W., Leemans, J., (1992). A chimaeric ribonuclease-inhibitor gene restores fertility to male sterile plants. *Nature* **357**: 384-387
- (7) OECD Consensus document: Module II: Herbicide Biochemistry, Herbicide Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin)-Tolerant Transgenic Plants. No. 25, 2002
- (8) Hin, C.J.A. (2001). Rapport "Landbouwkundige risico's van uitkruising van GGO-gewassen". Centrum voor Landbouw en Milieu (CLM), Utrecht
- (9) Lutman PJW, Freeman SE, Pekrun C (2003). The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *The journal of agricultural science* **141**: 231-240
- (10) Hansen LB, Siegmund HR, Jørgensen RB (2001). Introgression between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its weedy relative *B. rapa* L. in natural population. *Genetic resources and crop evolution* **48**: 621-627
- (11) Eastham K, Sweet J (2002). Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer. Environmental issue report No 28. European Environment Agency, Copenhagen
- (12) Crawley MJ, Brown, SL, Hails RS, Kohn DD, Rees M (2001). Transgenic crops in natural habitats. *Nature* **409**: 682-683
- (13) Duijzer DD (2003). Brief aan LNV inzake coëxistentie en non-GGO. <http://www.lto.nl/themas/Biotechnologie/brieven/briefcoexistentieeggo.htm> (bezocht 29 maart 2004)
- (14) Orson J (2002). Gene stacking in herbicide tolerant oilseedrape: lessons from the North American experience. English nature research reports No 443. Morley Research Centre, Norfolk
- (15) Hawes C, Haughton AJ, Osborne JL, Roy DB, Clark SJ, Perry JN, Rothery P, Bohan, DA, Brooks DR, Champion GT, Dewar AM, Heard MS, Woiwod IP, Daniels RE, Young MW, Parish AM, Scott RJ, Firbank LG, and Squire GR (2003). Responses of

- plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **358**, blz. 1899-913
- (16) GM crops, effects on farmland wildlife (2003). Department for Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA, Groot-Brittannië):
<http://www.defra.gov.uk/environment/gm/fse/results/fse-summary.pdf> (31 maart 2004)
- (17) Metz PLJ (1997). To be or not to be biosafe: an evaluation of transgenic phosphinothricin-tolerant oilseed rape (*Brassica napus* L.), Wageningen
- (18) Senior J, Dale PJ (2002). Herbicide-tolerant crops in Agriculture: oilseed rape as a case study. *Plant Breeding* **121**: 97-107