

Aan de minister van  
Volkshuisvesting, Ruimtelijke  
Ordening en Milieubeheer  
Mevrouw dr. J.M. Cramer  
Postbus 30945  
2500 GX Den Haag

DATUM 20 september 2007  
KENMERK CGM/070920-01  
ONDERWERP Advies ontwerpbeschikking DGM/SAS IM 07-004

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van de adviesvraag over de ontwerpbeschikking DGM/SAS IM 07-004, getiteld 'Beproeving en vermeerdering van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte', aangevraagd door AVEBE U.A. adviseert de COGEM als volgt.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de milieurisico's van een categorie 2 veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte. Het doel van de voorgenomen werkzaamheden is het selecteren en vermeerderen van de genetisch gemodificeerde aardappelplanten.

Aardappel kan niet kruisen met in Nederland voorkomende wilde verwanten, maar wel met andere aardappellrassen. Echter, de kans dat dit gebeurt is klein omdat bevruchting bij aardappelplanten meestal plaatsvindt door zelfbestuiving. Aardappelknollen zijn vorstgevoelig, maar kunnen in Nederland zachte winters overleven. Uit eerdere experimenten is gebleken dat een verlaagd amylosegehalte geen effect heeft op de vorstgevoeligheid van aardappelen. Opslagplanten die eventueel kunnen ontstaan uit zaden of levensvatbare knollen worden routinematig verwijderd in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans*. In de praktijk blijkt dat aardappelopslag effectief bestreden wordt.

De COGEM is van mening dat aan alle voor een categorie 2 veldproef gestelde criteria wordt voldaan. De COGEM heeft derhalve tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

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

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized loop followed by a horizontal line that ends in a small hook.

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

Voorzitter COGEM

c.c. Dr. D.C.M. Glandorf

Dr. I. van der Leij

# Veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte

COGEM advies CGM/070920-01

## 1 Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een categorie 2 veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten (*Solanum tuberosum*) met een verlaagd amylosegehalte. De genetisch gemodificeerde aardappelplanten zijn vrij van antibioticumresistentiegenen. De vergunningaanvrager, AVEBE U.A., wil door middel van veldproeven de agronomische eigenschappen van aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte evalueren. Daarnaast zal vermeerdering van de genetisch gemodificeerde aardappelplanten plaatsvinden. De vergunningaanvraag (IM 07-004) betreft werkzaamheden met genetisch gemodificeerde aardappelplanten in de gemeenten Aa en Hunze, Borger-Odoorn, Coevorden, Eemsmond, Emmen, de Marne, Pekela en Veendam.

De vergunningaanvraag betreft genetisch gemodificeerde aardappelplanten, waarin de expressie van het in de aardappelplant aanwezige *kgz* gen onderdrukt wordt. Het *kgz* gen codeert voor het enzym korrelgebonden zetmeelsynthase (KGZ) en is betrokken bij de synthese van amylose. Amylose is een van de twee bestanddelen van zetmeel. Daarnaast bestaat zetmeel uit amylopectine. Amylopectine heeft, in tegenstelling tot amylose, een sterk vertakte structuur. Doordat bij de genetisch gemodificeerde aardappelplanten de synthese van amylose onderdrukt wordt, heeft het zetmeel van deze planten een verlaagd amylosegehalte en een verhoogd amylopectinegehalte. Zuiver amylopectine wordt gebruikt bij specifieke technisch hoogwaardige toepassingen in onder andere de textiel- en papierindustrie. De aanvrager verwacht dat dankzij het amylosevrije zetmeel bij de verwerking voor hoogwaardige toepassingen minder energie en chemische hulpstoffen nodig zijn.

### ***Eerdere COGEM adviezen***

De COGEM heeft in het verleden diverse keren positief geadviseerd over soortgelijke vergunningaanvragen betreffende aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte verkregen door een insertie van *kgz* cDNA in een *inverted repeat* (1-4). In 2004 is positief geadviseerd over een vergunningaanvraag voor genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte waarbij gebruikt is gemaakt van twee vectoren (pKGBA50mf-IR1.1 en pIRMASmf) (3). In de huidige aanvraag wordt naast deze twee vectoren gebruik gemaakt van een derde vector (pBINAW4), die verschilt van

de vector pIRMASmf doordat de sequentie die de transcriptie van de *inverted repeat* beëindigt, afkomstig is van het *kgz* gen uit aardappel.

## 2 Milieurisicoanalyse

Bij de risicobeoordeling van introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen (ggo's), zoals die door de COGEM wordt uitgevoerd, wordt gekeken naar de effecten die het ggo kan hebben op mens en milieu (waarbij de mens als integraal onderdeel van het milieu wordt beschouwd).

Onder risico wordt verstaan de combinatie van de gevolgen van een gevaar en de kans dat deze gevolgen zich kunnen voordoen. De mogelijke schadelijke effecten van (toepassing van) een ggo worden vergeleken met die van het ongemodificeerde organisme (de zogenaamde 'baseline') waaruit het ggo is afgeleid. Bij introductie in het milieu wordt door de COGEM de staande landbouw en de klassieke veredeling als 'baseline' voor genetische gemodificeerde gewassen gebruikt (5).

De uitgangspunten en de methodiek van de milieurisicobeoordeling zijn beschreven in de EU richtlijn 2001/18/EG en de bijbehorende bijlagen. Hierin is vastgelegd dat bij de milieurisicobeoordeling zowel gekeken wordt naar mogelijke directe als naar indirecte schadelijke effecten van het ggo. Om tot een risico-inschatting te komen worden de volgende stappen doorlopen: de identificatie van kenmerken die schadelijke effecten kunnen hebben; de evaluatie van mogelijke gevolgen van het mogelijk optreden van schadelijke effecten; de evaluatie van de kans op het optreden van mogelijke schadelijke effecten; een schatting van het risico dat aan elk bepaald kenmerk van het ggo is verbonden; de bepaling van risicomangement maatregelen; en de bepaling van het algeheel risico van het ggo.

Bij de huidige aanvraag kijkt de COGEM naar risico's voor mens en milieu die verbonden zijn aan de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij zijn de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van aardappel met (wilde) verwanten, mogelijke veranderingen in persistentie en invasiviteit van de plant en verwildering van belang. Daarnaast wordt gekeken naar eventuele nadelige effecten indien de ingebrachte genen zich in het milieu zouden verspreiden. Ook incidentele consumptie of vraat en mogelijke toxische of allergene effecten op mens en dier zijn onderwerp van de risicoanalyse. Bovendien worden eventuele effecten op niet-doelwit organismen bestudeerd. Effecten op niet-doelwit organismen zouden kunnen leiden tot verstoring van voedselketens of ecosystemen. Teneinde de bovenstaande aspecten te kunnen beoordelen wordt een aantal

factoren in ogenschouw genomen: de eigenschappen van het gastheerorganisme waarin de transgenen zijn ingebracht, de kenmerken van de ingebrachte transgenen, de mogelijke effecten van deze genen, de kenmerken van het ggo en de mogelijke interactie met het milieu waarin het ggo geïntroduceerd wordt.

De COGEM heeft eerder richtlijnen opgesteld voor de beoordeling van veldproefaanvragen met genetisch gemodificeerde planten (6). In deze richtlijnen worden criteria beschreven voor een klassenindeling van veldproeven teneinde mogelijke milieurisico's te voorkomen. Wanneer er weinig kennis beschikbaar is, worden alleen kleinschalige werkzaamheden toegelaten waarbij eventuele nadelige effecten verregaand ingeperkt moeten worden. Voor grootschalige veldproeven is meer kennis van het ggo vereist. Deze kennis kan eventueel verkregen worden uit eerdere kleinschalige veldproeven, of uit andere bronnen.

De huidige aanvraag betreft een categorie 2 veldproef. Bij een categorie 2 veldproef moeten gegevens aantonen dat eventuele schadelijke effecten voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. Inperkende maatregelen zijn om die reden niet noodzakelijk. De jaarlijkse maximale oppervlakte van een categorie 2 veldproef is tien hectare. In de aanvraag wordt verzocht om de werkzaamheden te mogen uitvoeren op zeventien locaties met een maximale oppervlakte van 1,5 hectare per locatie. De aanvrager geeft aan dat de gezamenlijke oppervlakte van de locaties maximaal tien hectare per jaar zal bedragen.

## **2.1 Eigenschappen van het gewas**

Aardappel (*Solanum tuberosum*) behoort tot de familie van de *Solanaceae* waartoe ook tomaat, aubergine, paprika, spaanse peper en tabak behoren (7). *Solanum tuberosum* wordt onderverdeeld in twee ondersoorten: subsp. *andigena* en subsp. *tuberosum* (7). Alleen de ondersoort *tuberosum* wordt in Europa geteeld (7). In Nederland is aardappel een belangrijk akkerbouwgewas, waarbij de geteelde variëteiten zijn onder te verdelen in consumptieaardappels en zetmeelaardappels.

In Nederland komen verschillende wilde verwanten van aardappel voor zoals zwarte nachtschade (*Solanum nigrum* subsp. *nigrum*), beklierde nachtschade (*S. nigrum* subsp. *schultesii*), bitterzoet (*Solanum dulcamara*), glansbes nachtschade (*Solanum physalifolium*) en driebloemige nachtschade (*Solanum triflorum*) (8). Aardappel kan niet kruisen met in Nederland voorkomende wilde verwanten. Binnen het geslacht *Solanum* bestaan verschillende kruisingsbarrières. Kruisingen van aardappel met verschillende in Nederland voorkomende wilde verwanten leverden geen levensvatbare nakomelingen op (7). Aardappel kan echter wel kruisen met andere aardappelrassen (7). De pollenkorrels van aardappel kunnen worden verspreid door insecten, waarna kruisbestuiving kan optreden. Windbestuiving speelt geen rol van betekenis (7). De verspreiding van pollen

lijkt beperkt tot 5 à 10 meter van de grens van het veld (9). Bovendien vindt bevruchting meestal plaats door zelfbestuiving (80-100%). Hierdoor is de kans op het optreden van kruisbestuiving klein. Eventueel door kruisbestuiving ontstane levensvatbare zaden kunnen achterblijven op een perceel waarop aardappelen zijn geteeld (10). Op basis van de ervaring in de gangbare praktijk wordt verwacht dat een deel van deze zaden in staat is om de winter te overleven en te kiemen. De zaden worden niet door vogels verspreid, maar kunnen wel door kleine zoogdieren verspreid worden (7). Echter, zaailingen van aardappel zijn niet in staat om buiten het veld te overleven (7) en eventueel uit zaad ontstane opslagplanten worden routinematig verwijderd in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans*.

Aardappelplanten vormen knollen. Op het veld achtergebleven knollen zijn gevoelig voor vorst, maar kunnen in Nederland zachte winters overleven. In Nederland worden opslagplanten ontstaan uit levensvatbare knollen routinematig verwijderd in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans*.

## 2.2 Eigenschappen van de ingebrachte genen

De aardappelplanten zijn genetisch gemodificeerd met behulp van *Agrobacterium tumefaciens*, waarbij gebruik is gemaakt van drie vectoren: pKGBA50mf-IR1.1, pIRMASmf en pBINAW4. Deze vectoren zijn afgeleid van pBIN19 en bevatten daardoor het *nptIII* gen. Het *nptIII* gen is gelegen op de vector 'backbone' en zal niet in het genoom van de aardappelplanten ingebouwd worden. Tevens bevat de 'backbone' van de vectoren enkele regulatoire sequenties die dienen als startplaats voor replicatie in prokaryoten. De expressie van deze sequenties wordt gereguleerd door prokaryote promotors en zullen in planten dus niet tot expressie komen. Alleen genen die onder controle staan van een eukaryote promotor komen in planten tot expressie. Bovendien zijn deze startplaatsen voor replicatie, de zogenaamde 'ori's', in planten niet functioneel. Veldproeven zullen alleen uitgevoerd worden met planten waarvan door middel van PCR testen en Southern hybridisaties aangetoond is dat er geen 'backbone' sequenties in de plant aanwezig zijn.

In de vectoren is ook een T-DNA gedeelte aanwezig dat bij transformatie door *Agrobacterium tumefaciens* overgedragen wordt naar de plant. Het T-DNA gedeelte van de vectoren bevat cDNA van het uit aardappel afkomstige *kgz* gen in een *inverted repeat* configuratie. Het *kgz* gen codeert voor het enzym korrelgebonden zetmeelsynthase (KGZ) dat betrokken is bij de synthese van amylose. De *inverted repeat* staat onder controle van een aardappelknol-specifieke promotor, die afkomstig is van het *kgz* gen van aardappel. In de *inverted repeat* zijn delen van het *kgz* cDNA aanwezig in zowel een 'sense' als in een 'antisense' oriëntatie. Het RNA afkomstig van de *inverted repeat* zal zich vormen tot een *hairpin*, die vervolgens gefragmenteerd wordt tot kleine RNA fragmenten. Het RNA

zal dus niet vertaald kunnen worden in een eiwit. Bovendien leidt de aanwezigheid van de *inverted repeat* tot RNA interferentie waardoor het *kgz* mRNA wordt afgebroken en er dus geen KGZ eiwit ontstaat.

De *inverted repeat* in vector pKGBA50mf-IR1.1 bestaat uit 1.1 kb van het 5' gedeelte van het *kgz* cDNA in een sense oriëntatie en uit het volledige *kgz* cDNA in een antisense oriëntatie. De vectoren pIRMASmf en pBINAW4 bevatten een *inverted repeat* die bestaat uit 617 baseparen (bp 1070-1687) van het *kgz* cDNA in een antisense oriëntatie en uit 716 baseparen (bp 926-1687) van het *kgz* cDNA in een sense oriëntatie. De gebruikte transcriptie terminator is voor de vectoren KGBA50mf-IR1.1 en pIRMASmf afkomstig van het nopaline synthase gen (*nos*) van *Agrobacterium tumefaciens*. Vector pBINAW4 bevat een transcriptie terminator afkomstig van het *kgz* gen van aardappel.

### 3 Overwegingen en advies

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

Aardappel kan in Nederland niet uitkruisen met wilde verwanten, maar wel met andere aardappelrassen (7). De kans dat dit gebeurt is echter klein omdat bevruchting bij aardappel meestal plaatsvindt door zelfbestuiving (7). Eventuele door kruisbestuiving ontstane zaden kunnen uitgroeien tot zaailingen. Echter, deze zaailingen kunnen buiten het veld niet overleven omdat ze de competitie met andere planten niet doorstaan (7). Aardappelknollen zijn gevoelig voor vorst, maar kunnen een zachte winter overleven. Eerdere experimenten hebben uitgewezen dat een verlaagd amylosegehalte niet van invloed is op de vorstgevoeligheid van aardappelknollen. De COGEM heeft in 1995 naar aanleiding van deze resultaten een advies afgegeven waarin gesteld wordt dat de conclusie zich uitstrekt tot alle genetisch gemodificeerde aardappelen met een verlaagd amylosegehalte, ongeacht het uitgangsras waar de genetisch gemodificeerde aardappelen van afgeleid zijn (11).

Opslagplanten kunnen ontstaan uit zaden of uit levensvatbare knollen die zijn achtergebleven op het perceel of in de directe omgeving. Opslagplanten kunnen worden aangetroffen na een zachte winter, maar eventuele aardappelopslag wordt routinematig verwijderd in het kader van de verplichte bestrijding van de aardappelziekte.

De bestrijding van de door *Phytophthora infestans* veroorzaakte aardappelziekte is vastgelegd in de "Verordening Hoofdproductschap Akkerbouw bestrijding *Phytophthora infestans* bij aardappelen 2003". Controle op het bestrijden van aardappelopslag wordt uitgevoerd door NAK AGRO. In de praktijk blijkt dat aardappelopslag doelmatig bestreden wordt. Aardappel kan zich in Nederland buiten het veld niet handhaven.

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

De COGEM heeft al diverse malen advies uitgebracht over genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een *inverted repeat* bestaande uit cDNA van het *kgz* gen in een 'sense' en 'antisense' oriëntatie (1-4). Uit een lange historie van veilig gebruik van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een *inverted repeat* bestaande uit cDNA van het *kgz* gen in een 'sense' en 'antisense' oriëntatie blijkt dat de aanwezigheid hiervan niet leidt tot de vorming van nieuwe expressieproducten die tot effecten kunnen leiden bij mensen of in het milieu.

Overigens is er bij de voorgestelde werkzaamheden geen sprake van vervoeding of humane consumptie waardoor eventuele gezondheidsrisico's nihil zijn.

### 3.3 Advies

Het onderhavige advies heeft betrekking op een vergunningaanvraag voor veldproeven met genetisch gemodificeerde aardappelen met een verlaagd amylosegehalte. Er zijn geen redenen om aan te nemen dat verlaging van het amylosegehalte zal leiden tot een verhoogde kans op verwildering. Aardappelknollen zijn vorstgevoelig, maar kunnen een zachte winter overleven. Uit eerdere experimenten is gebleken dat een verlaagd amylosegehalte geen effect heeft op de vorstgevoeligheid van aardappelen. Aardappel kan niet kruisen met in Nederland aanwezige wilde verwanten. Binnen het geslacht *Solanum* bestaan verschillende kruisingsbarrières. Kruisingen van aardappel met verschillende in Nederland voorkomende wilde verwanten leverden geen levensvatbare nakomelingen op. Alhoewel aardappel kan kruisen met andere aardappelrassen is de kans hierop klein omdat bevruchting bij aardappel meestal plaatsvindt door zelfbestuiving. Eventuele opslag uit zaad of achtergebleven knollen wordt bestreden in het kader van de verplichte bestrijding van *Phytophthora infestans*. In de praktijk blijkt dat aardappelopslag effectief bestreden wordt.

De drie vectoren die gebruikt zijn voor genetische modificatie van aardappelplanten zijn voor een categorie 2 veldproef voldoende gekarakteriseerd. Er zijn kaarten van de constructen aangeleverd waaruit blijkt welke combinaties van tot expressie te brengen sequenties, regulatie sequenties en overige selectie elementen zijn gebruikt voor de modificatie.

Dit alles overwegende heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht zij de risico's van deze veldproef voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.



## Referenties

1. COGEM (2001). Beproeving en vermeerdering van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte (CGM/011029-01)
2. COGEM (2003). Veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte (CGM/030909-01)
3. COGEM (2004). Testen en vermeerderen van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte (CGM/041221-01)
4. COGEM (2005). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verlaagd amylosegehalte (CGM/051206-03)
5. COGEM (2002). Staande landbouw en klassieke veredeling als referentiekader (CGM/021017-06)
6. COGEM (2005). Indeling veldwerkzaamheden met genetisch gemodificeerde planten (CGM/050929-03)
7. OECD (1997). Consensus Document on the biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (Potato) No. 8
8. Van der Meijden R (2005). Heukel's flora van Nederland, 23<sup>e</sup> druk, Wolters-Noordhoff, Groningen/Houten
9. Conner AJ en Dale PJ (1996). Reconsideration of pollen dispersal data from field trials of transgenic potatoes. *Theoretical and applied genetics* 92, 505-508
10. Lawson HM (1983) True potato seeds as arable weeds. *Potato research* 26, 237-246
11. COGEM (1995). Vorstgevoeligheid amylose-vrije aardappelen (CGM/950203-07)