

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Dhr. J.J. Atsma
POSTBUS 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 2 februari 2011
KENMERK CGM/110202-01
ONDERWERP Advies kleinschalige veldproef met *Phytophthora*-resistente aardappelen

Geachte heer Atsma,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de ontwerpbeschikking IM 10-006 en de vergunningaanvraag, getiteld 'Phytophthora beheersingsstrategieën en monitoring van virulentie', van Stichting DLO, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een kleinschalige (categorie 1) veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een verhoogde resistentie tegen *Phytophthora infestans*, de veroorzaker van de aardappelziekte. Het doel van de voorgenomen werkzaamheden is het onderzoeken van *Phytophthora* beheersingsstrategieën en monitoring van virulentie voor de gebruikte resistentiegenen.

Voor zijn verspreiding en overleving maakt de aardappel gebruik van zaden en knollen. De aardappel kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten. De aardappel kan wel uitkruisen naar andere cultuurrassen, maar slechts in beperkte mate en alleen over korte afstanden. Uit praktijkervaring blijkt dat een isolatieafstand van 3 meter voldoende is om kruisbestuiving te voorkomen. De knollen zijn vorstgevoelig en zullen de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. In de noodzaak om eventuele aardappelopslag uit zaad of achtergebleven knollen te verwijderen wordt in het kader van de verplichte bestrijding van *P. infestans* voorzien.

De zaden die eventueel worden gevormd door cultuuraardappelen spelen alleen een rol bij het veredelingsproces. In Nederland vindt aardappelveredeling hoofdzakelijk in kassen of tunnelkassen plaats. Echter, de COGEM kan niet uitsluiten dat hobbykwekers, die in de aardappelveredeling actief zijn, mogelijk kruisingen op het veld uitvoeren. De COGEM adviseert, indien er op naastgelegen velden hobbykwekers actief zijn die kruisingen op het veld uitvoeren, een isolatieafstand van 40 meter in acht te nemen.

Concluderend heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, waarbij een isolatieafstand van 3 meter wordt aangehouden, geen bezwaar. Echter, de COGEM adviseert in gevallen waarbij op naastgelegen velden aardappelveredeling door hobbykwekers plaatsvindt, een isolatieafstand van 40 meter in acht te nemen. Onder deze voorwaarden acht de COGEM 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,



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

c.c.

Drs. H.P. de Wijs

Dr. I. van der Leij

Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten die verminderd vatbaar zijn voor *Phytophthora infestans*

COGEM advies CGM/110202-01

Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een categorie 1 veldproef met genetisch gemodificeerde (gg-)aardappelen (*Solanum tuberosum*) met een verhoogde ziekteresistentie tegen de ziekteverwekker *Phytophthora infestans*. Het doel van het onderzoek is het onderzoeken van *Phytophthora* beheersingsstrategieën en monitoring van virulentie voor de gebruikte resistentiegenen.

De onderhavige vergunningaanvraag heeft betrekking op kleinschalige werkzaamheden met gg-aardappelplanten in de gemeenten Wageningen, Borger-Odoorn, Lelystad, Binnenmaas en Venray. Deze vergunningaanvraag betreft aardappelplanten, waarin genen zijn ingebracht afkomstig uit de aardappelsoorten *S. bulbocastanum*, *S. demissum*, *S. stoloniferum*, *S. venturii* en *S. chacoense*. De genen zijn betrokken bij de resistentie tegen *P. infestans*, een pathogene oömyceet, die de aardappelziekte veroorzaakt. Aardappelziekte is een veel voorkomende ziekte, die grote schade toebrengt aan de aardappelteelt. Aardappeltelers spuiten grote hoeveelheden fungiciden om een *Phytophthora*-infectie te voorkomen. In de Europese Unie bedragen de jaarlijkse kosten van deze ziekte meer dan 1 miljard euro.¹

Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft eerder een aantal keren positief geadviseerd over veldproeven met aardappelen die door genetische modificatie een verhoogde resistentie tegen *P. infestans* hadden verkregen.^{2,3} In 2005 en 2007 betrof het een kleinschalige veldproef van BASF Plant Science met gg-aardappelen waarin twee resistentiegenen tegen *P. infestans* uit wilde aardappel waren gebracht. In 2007 en in 2010 heeft de COGEM positief geadviseerd over een aanvraag van Wageningen Universiteit betreffende een kleinschalige veldproef met gg-aardappelen die zowel enkelvoudige als gestapelde resistentiegenen bevatten.^{4,5} Bij deze experimenten werden dezelfde vijf resistentiegenen tegen *P. infestans* gebruikt als in de voorliggende proef aan de orde zijn.

Milieurisicoanalyse

Bij de risicobeoordeling van de 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 de introductie in het milieu wordt door de COGEM de staande landbouw en de klassieke veredeling als “baseline” voor genetische gemodificeerde gewassen gebruikt.⁶

De uitgangspunten en de methodiek van de milieurisicobeoordeling is in de EU richtlijn 2001/18/EG en de bijbehorende bijlagen beschreven. 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 risicomanagement maatregelen; en de bepaling van het algehele risico van het ggo.

Bij de huidige aanvraag kijkt de COGEM naar de risico's voor mens en milieu die verbonden zijn aan de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde ziekteresistentie tegen *P. infestans*. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij zijn de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van aardappelplanten met wilde verwanten of andere 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, vraat en daarbij mogelijk optredende toxische of allergene effecten op mens en dier zijn onderwerp van de risicoanalyse. Bovendien worden eventuele effecten op niet-doelwitorganismen meegenomen. Effecten op niet-doelwitorganismen zouden kunnen leiden tot verstoring van voedselketens of ecosystemen. Een eiwit kan mogelijk intact blijven in insecten, waarna het door insecten verspreid kan worden vanuit het proefveld. Mogelijke effecten op de bodemmicroflora zouden een verstoring in de nutriëntenkringloop in de bodem als gevolg kunnen hebben.

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.⁷ Teneinde mogelijke milieurisico's te voorkomen, worden in deze richtlijnen criteria beschreven voor een categorie-indeling van veldproeven. Wanneer weinig kennis beschikbaar is, worden alleen kleinschalige werkzaamheden toegelaten waarbij eventuele nadelige effecten verregaand ingeperkt moeten worden. Voor grootschalige veldproeven met minder inperkende voorschriften is meer kennis van het ggo vereist. Deze kennis kan bijvoorbeeld verkregen worden uit eerdere kleinschalige veldproeven of uit andere bronnen.

De huidige aanvraag betreft een categorie 1 veldproef. Eventuele schadelijke effecten moeten bij een veldproef van deze categorie beperkt blijven tot het proefobject. Bij een categorie 1 veldproef mogen werkzaamheden jaarlijks op maximaal vijf locaties worden uitgevoerd waarbij elke locatie niet groter mag zijn dan één hectare. De huidige aanvraag voldoet aan deze criteria.

Eigenschappen van het gewas

De aardappelplant (*S. tuberosum*) behoort tot de familie van de *Solanaceae* waartoe onder meer tomaat, aubergine, tabak, paprika en Spaanse peper behoren en is als landbouwgewas afkomstig uit Zuid-Amerika.⁸ *Solanum tuberosum* is onderverdeeld in twee ondersoorten: *tuberosum* en *andigena*. De ondersoort *tuberosum* wordt in Europa geteeld. De aardappel komt in de Nederlandse flora niet voor, wel heeft zij wilde verwanten: de zwarte nachtschade, (*S. nigrum* subsp. *nigrum*), de beklierde nachtschade (*S. nigrum* subsp. *schultesii*), bitterzoet (*S. dulcamara*), glansbes nachtschade (*S. physalifolium*) en driebloemige nachtschade (*S. triflorum*).^{8,6} Uitkruising met in Nederland voorkomende wilde verwanten van de aardappel is niet mogelijk.¹⁰ In Europa zijn geen levensvatbare hybriden gevonden in natuurlijke systemen.¹¹ In Nederland vormt aardappel een belangrijk akkerbouwgewas, waarbij de geteelde variëteiten zijn onder te verdelen in consumptieaardappels en zetmeelaardappels.

Aardappel kent de volgende structuren voor verspreiding en overleving: pollen, zaden en knollen. In haar natuurlijke ecosysteem en in de meeste ecosystemen waarin de aardappel als cultuurgewas wordt toegepast, vindt vrijwel altijd knolvorming en in de meeste gevallen ook bloei plaats. In Nederland wordt aardappel vegetatief vermeerderd. Aardappelknollen zijn koude-gevoelig en overleven de winter in Nederland gewoonlijk niet. Alleen tijdens zachte winters of bij het gedurende langere periode aanwezig zijn van een isolerend sneeuwdek zijn de aardappelknollen in staat te overleven en het volgende jaar uit te lopen.¹⁰

De pollenkorrels van aardappel zijn relatief zwaar en worden verspreid via wind en insecten. Zowel kruis- als zelfbevruchting komt voor bij aardappel, al vindt er hoofdzakelijk zelfbestuiving plaats (80-100%).¹² Uitkruising naar andere gecultiveerde aardappelrassen is in beperkte mate mogelijk en neemt sterk af naarmate de afstand toeneemt. Verschillende buitenlandse onderzoeken hebben uitgewezen dat uitkruising na een afstand van tien meter niet tot nauwelijks

optreedt.^{13,14,15} Het zetmeelconcern AVEBE vond bij veldproeven onder Nederlandse omstandigheden dat op 0 meter 7,3%, op 1,5 meter 0,7% en op 5 meter 0% uitkruising optreedt.¹⁶

Het loof van de aardappelen, inclusief de bloeiwijzen met eventuele zaden, wordt gewoonlijk voor de oogst afgedood en niet verder benut. Er is aangetoond dat op een perceel zaden kunnen achterblijven die levensvatbaar zijn.¹⁷ Op basis van de ervaringen in de gangbare praktijk wordt verwacht dat een klein deel van deze zaden in staat is om de winter te overleven en te kiemen. Opslag uit zaad heeft in de normale landbouwkundige praktijk een lage concurrentiekracht ten opzichte van andere gewassen.¹⁹ De gevormde plantjes zijn klein en zwak en over het algemeen niet in staat zich in een opvolgend gewas te handhaven en knollen te vormen. Deze plantjes worden ofwel gedood bij de standaard onkruidbestrijding in gewassen, ofwel worden zij vernietigd in het kader van de verplichte opslagbestrijding in verband met de bestrijding van aardappelziekte. De zaden die eventueel worden gevormd door cultuuraardappelen zijn normaal gesproken niet van agronomische betekenis, omdat bij de vermeerdering pootaardappelen worden gebruikt in plaats van zaden. Deze zaden spelen alleen een rol bij het veredelingsproces.

Eigenschappen van de ingebrachte genen

De aanvrager is voornemens veldproeven uit te voeren met gg-aardappelen waarin resistentiegenen zijn ingebouwd afkomstig uit wilde aardappelsoorten. Deze resistentiegenen, ook wel *Rpi* genoemd, coderen voor eiwitten behorend tot de “nucleotide binding site (NBS)-leucine rich repeat (LRR)” klasse. Dit zijn receptoreiwitten, die zich in het cytoplasma van de cel bevinden en specifieke elicitoreiwitten van *P. infestans* kunnen herkennen. De herkenning van de elicitor door de receptor leidt via een signaleringsnetwerk tot een afweerreactie van de plant. De afweer vindt lokaal plaats, door middel van plaatselijke celdood wanneer het pathogeen een cel is binnengedrongen. Door deze reactie wordt de verdere ontwikkeling van het pathogeen geblokkeerd. Daarnaast vindt er ook een afweerreactie in de gehele plant plaats, door middel van het inschakelen van de expressie van genen die betrokken zijn bij de verdediging van de plant.

De aardappelplanten zijn genetisch gemodificeerd met behulp van *Agrobacterium tumefaciens*, waarbij gebruik is gemaakt van vier vectoren: pBINPLUS, pBINAW2, pRIAB1.2 en pRIAB1.2MF. De gebruikte vectoren bevatten verschillende combinaties van *Rpi* genen die samen tot een verhoogde Phytophthoraresistentie moeten leiden. Deze *Rpi* genen worden ingebracht met eigen promotor en terminator. Per construct zullen maximaal drie *Rpi* genen gecombineerd worden. Enkele voorbeelden van de te gebruiken *Rpi*-genen zijn onder andere *Rpi-1* en *Rpi-3a* afkomstig uit *S. demissum*, *Rpi-blb3* uit *S. bulbocastanum*, *Rpi-sto1* uit *S. stoloniferum*, *Rpi-vnt1.1* uit *S. venturii* en *Rpi-chc1* uit *S. chacoense*.

De vectoren pBINPLUS en pRIAB1.2 bevatten het antibioticaresistentiegen *nptII*, coderend voor kanamycineresistie, voor de selectie van getransformeerde planten. Daarnaast zijn bij een aantal constructen de antibioticumresistentiegenen *nptIII* en *tetA* aanwezig op de vectorbackbone. Naast de aanwezigheid van het *nptII* gen, kan niet geheel uitgesloten worden dat (delen van) deze antibioticaresistentiegenen in sommige gg-planten onbedoeld aanwezig zijn. In 2007 heeft de COGEM een signalering uitgebracht waarin zij ingaat op het gebruik van antibioticaresistentiegenen in gewassen. De COGEM kwam tot de conclusie dat de mogelijke aanwezigheid van de genen *tetA* en *nptIII* in planten die voor veldproeven worden gebruikt vanuit technisch-wetenschappelijk oogpunt geen onaanvaardbaar milieurisico veroorzaakt. De kans op horizontale overdracht (tussen gg-plant en bacterie) van de betreffende antibioticumresistentiegenen acht de COGEM zeer gering, omdat deze alleen onder bijzondere laboratoriumomstandigheden, maar nog nooit in de praktijk is waargenomen.^{22,23} Daarnaast komen deze genen veelvuldig in het milieu voor. De zeer geringe (theoretische) kans op een eventuele genoverdracht van plant op bacterie zal daarom niet leiden tot extra milieurisico.¹⁸

Advies

Het huidige advies heeft betrekking op een vergunningaanvraag voor een categorie 1 veldproef met gg-aardappelen met verminderde vatbaarheid voor *P. infestans*. De COGEM is van mening dat de voorgenomen werkzaamheden voldoen aan de criteria voor een categorie 1 veldproef. De werkzaamheden worden jaarlijks op maximaal vijf locaties uitgevoerd en de locaties zijn niet groter dan één hectare. Daarnaast zijn zowel de afkorting, herkomst en verwachte functies van de ingebrachte genen bekend. Bij een categorie 1 veldproef moeten eventuele schadelijke effecten beperkt blijven tot het proefobject. Gezien de kenmerken van de *Rpi* genen verwacht de COGEM geen effecten op niet-doelwitorganismen. Het gaat om zeer specifieke receptoren die leiden tot een inductie van verdediging tegen *P. infestans*.

Er zijn geen redenen bekend, noch is het te verwachten dat, een verhoging van de resistentie tegen *P. infestans* in aardappelen zal leiden tot verwildering. De overwegingen hiervoor zijn dat knollen vorstgevoelig zijn en de Nederlandse winter gewoonlijk niet zullen overleven. Alleen tijdens zachte winters of bij het gedurende langere periode aanwezig zijn van een isolerend sneeuwdek zijn de aardappelknollen in staat te overleven en het volgende jaar uit te lopen. De gg-aardappel kan in Nederland bovendien niet uitkruisen naar wilde verwanten. De aardappel kan in zeer beperkte mate en alleen over korte afstanden uitkruisen naar andere cultuurrassen. De COGEM wijst erop dat uitkruising geen milieurisico vormt wanneer eventuele aardappelopslag wordt verwijderd. Routinematige opslagbestrijding is verplicht zoals vastgelegd in de "Verordening productschap Akkerbouw bestrijding *Phytophthora infestans* bij aardappelen 2008". In de praktijk blijkt dat aardappelopslag daarmee effectief bestreden wordt, ook omdat daarmee grote agronomische belangen zijn gemoeid.

Zaden die eventueel worden gevormd door cultuuraardappelen zijn in principe niet van agronomische betekenis, omdat bij de vermeerdering poot aardappelen worden gebruikt in plaats van zaden. In de veredeling worden de zaden, als resultaat van kruisingsexperimenten, echter wel gebruikt. In Nederland vindt aardappelveredeling hoofdzakelijk in kassen of tunnelkassen plaats. De COGEM kan echter niet uitsluiten dat kruisingen ook op het veld uitgevoerd worden. In Nederland is een beperkt aantal hobbykwekers in de aardappelveredeling actief waarvan een enkeling mogelijk kruisingen op het veld uitvoert. Uit praktijkervaring blijkt dat een isolatieafstand van 3 meter voldoende is om kruisbestuiving te voorkomen. In de internationale literatuur is gerapporteerd dat deze afstand onder bijzondere omstandigheden kan oplopen tot twintig meter. In dit geval was er sprake van zeer fertiele stuifmeeldonoren en mannelijk steriele stuifmeelontvangers.²⁰

Uitkruising vanuit deze categorie 1 veldproef naar het veredelingsproces zou onwenselijk zijn. Hoewel de COGEM de kans klein acht dat kruisingen op het open veld plaatsvinden, is dit niet uitgesloten. Daarbij kan onder bijzondere omstandigheden de afstand waarop kruisbestuiving plaatsvindt, oplopen. De COGEM adviseert, indien er op naastgelegen velden hobbykwekers actief zijn die kruisingen op het veld uitvoeren, om een isolatieafstand van 40 meter in acht te nemen. Het instellen van een isolatieafstand van 40 meter is niet nodig indien de naastgelegen velden gebruikt worden voor de vermeerdering of teelt van aardappels, omdat het hierbij vegetatieve vermeerdering betreft. De COGEM laat in 2011 een onderzoek uitvoeren naar het aantal hobbykwekers in Nederland en de wijze waarop zij veredelen.

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

Referenties

1. Haverkort AJ, *et al.* (2008). Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. *Potato Research* 51:47–57
2. COGEM (2005). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde ziekteresistentie tegen de ziekteverwekker *Phytophthora infestans* (CGM051206-01)
3. COGEM (2007). Advies herindiening veldproef aardappel met verhoogde phytophthora resistentie. (CGM/071101-04)
4. COGEM (2007). Kleinschalige veldproef met genetisch gemodificeerde aardappelplanten met een verhoogde phytophthora resistentie. (CGM/071115-01)
5. CGM/10012602
6. COGEM (2002). Staande landbouw en klassieke veredeling als referentiekader (CGM/021017-06)
7. COGEM (2008). Aanpassing van advies over de indeling van veldwerkzaamheden met genetisch gemodificeerde planten (CGM/081125-02)

8. Van der Meijden R. (2005). Heukels' flora van Nederland, 23^e druk, Wolters-Noordhoff, Groningen
9. Plaisted RL. (1980). Potato. In: Fehr WR & Hadley HH (Eds). Hybridization of crop plants. Am. Soc. Agr. Wisconsin. USA
10. De Vries FT, *et al.* (1992) Gorteria, Botanical Files. A study of the real chances for spontaneous gene flow from cultivated plants to the wild flora of the Netherlands. Supplement 1
11. Lawson HM. (1983). True potato seeds as arable weeds. Potato Research 26: 237-246
12. OECD. (1997). Consensus Document on the Biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (Potato) No. 8
13. Tynan JL, *et al.* (1990). Low frequency of pollen dispersal from a field trial of transgenic potatoes. Journal of Genetics and Breeding 44: 303-305
14. McPartlan H and Dale P. (1994). An assessment of gene transfer by pollen from field-grown transgenic potatoes to non-transgenic potatoes and related species. Transgenic research 3: 216-225
15. Conner AJ, and Dale PJ. (1996). Reconsideration of pollen dispersal data from field trials of transgenic potatoes. Theoretical and Applied Genetics 92: 505-508
16. Uitkruising beperkt (2004). AVEBE GGO monitor
17. Love S and Pavsek J. (1994). Ecological Risk of growing transgenic potatoes in the United States and Canada: potential for vegetative escape or gene introgression into indigenous species. American Potato Journal 71: 647-658
18. COGEM (2007). Advies gebruik van antibioticumresistentiegenen in gewassen voor veldproeven (CGM/ 070703-01)
19. Van de Wiel C and Lotz B. (2004) Inventarisatie van de wetenschappelijke kennis over uitkruising in maïs, koolzaad, aardappel en suikerbiet voor het coëxistentieoverleg 2004. Plant Research International Nota 322, Wageningen
20. Petti C, Meade C, Downes M and Mullins E. (2007). Facilitating co-existence by tracking gene dispersal in conventional potato systems with microsatellite markers. Environmental Biosafety Research 6: 223-235
21. Lawson HM (1983) true potato seeds as arable weeds. Potato red. 26:237-246
22. Faber F, Elsas van JD (2005). Transfer of DNA from genetically modified plants to bacteria (CGM 2005-02)
23. COGEM (2005). Signalerende brief horizontale genoverdracht (CGM/050415-01)