



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

TEL.: 030 274 2777

FAX: 030 274 4476

INFO@COGEM.NET

WWW.COGEM.NET

DATUM 15 februari 2008
KENMERK CGM/080215-02
ONDERWERP Advies categorie 2 veldproef met herbicidentolerante maïs NK603

Geachte mevrouw Cramer,

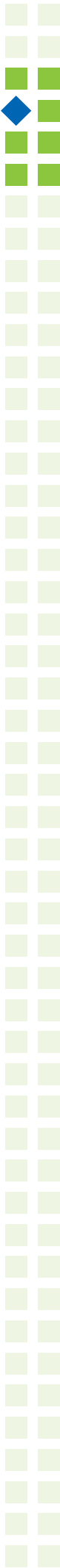
Naar aanleiding van een adviesvraag over de ontwerpbeschikking DGM/SAS IM 07-008 en de vergunningaanvraag voor een categorie 2 veldproef met betrekking tot de genetisch gemodificeerde herbicidentolerante maïslijn NK603 deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een kleinschalige veldproef (categorie 2) met de genetisch gemodificeerde maïslijn NK603. Maïslijn NK603 brengt de *cp4 epsps* en *cp4 epsps L214P* genen tot expressie en is hierdoor tolerant voor glyfosaat-bevattende herbiciden. Het doel van de voorgenomen werkzaamheden is het uitvoeren van herbiciden- en rassenregistratieproeven.

Maïslijn NK603 is sinds 2004 in Europa toegelaten voor import, industriële verwerking en voedsel. De COGEM heeft in het kader van marktaanvragen eerder positief geadviseerd over teelt, import en verwerking van NK603. Daarnaast hebben andere instanties de voedselveiligheid van NK603 positief beoordeeld.

Maïs is vorstgevoelig en zal de Nederlandse winter gewoonlijk niet overleven. Opslag van maïs wordt in Nederland zelden tot nooit waargenomen. Verwilderde maïspopulaties zijn in Nederland nog nooit aangetroffen. De ingebrachte genen bieden onder natuurlijke omstandigheden geen selectief voordeel en er zijn geen redenen op aan te nemen dat de modificatie zal leiden tot een verhoogde kans op verwildering. De genetisch gemodificeerde maïslijn kan in Nederland niet uitkruisen naar wilde verwanten, maar wel naar andere cultuurrassen van maïs. Indien uitkruising optreedt, is de COGEM van mening dat de kans op schadelijke effecten verwaarloosbaar klein is. De mate van uitkruising is verminderd door het hanteren van een isolatieafstand van minstens 25 meter met conventioneel geteelde maïs en een isolatieafstand van tenminste 250 meter met biologisch geteelde maïs. De COGEM is verder van mening dat aan alle voor een categorie 2 veldproef gestelde criteria wordt voldaan. Gezien het bovenstaande heeft de COGEM tegen de in de aanvraag beschreven werkzaamheden, onder de voorgestelde voorwaarden, geen bezwaar en acht zij 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. Dr. D.C.M. Glandorf

Dr. I. van der Leij

Kleinschalige veldproef met de genetisch gemodificeerde herbicidentolerante maïslijn NK603

COGEM advies CGM/080215-02

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de milieurisico's van een categorie 2 veldproef met de genetisch gemodificeerde herbicidentolerante maïslijn NK603. De vergunningaanvrager, Monsanto Europe S.A. wil met maïslijn NK603 proeven uitvoeren voor het verkrijgen van rassen- en herbicidenregistratie. De vergunningaanvraag (IM 07-008) betreft werkzaamheden met genetisch gemodificeerde maïs in de gemeenten Borger-Odoorn, Gemert-Bakel, Gilze en Rijen, Lelystad en Raalte.

Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft in het kader van marktaanvragen al eerder geadviseerd over maïslijn NK603. In 2003 werd positief geadviseerd over import en verwerking (1) en in 2006 werd positief geadviseerd over teelt van maïslijn NK603 (2). In deze adviezen was de COGEM van mening dat bij import, verwerking en teelt van deze maïslijn de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. Ook heeft de COGEM diverse keren positief geadviseerd over import en verwerking van kruisingen met NK603 (3-8) en over teelt van kruisingen met NK603 (9, 10).

2. 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 (11).

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 risicomanagementmaatregelen; 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 maïs tolerant voor glyfosaat-bevattende herbiciden. Zowel directe als indirecte effecten worden beoordeeld. Hierbij is de kans op verspreiding door pollen of zaden, het eventueel uitkruisen van maïs 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 mogelijke toxische of allergene effecten op mens en dier zijn onderwerp van de risicoanalyse. Bovendien worden eventuele effecten op niet-doelwitorganismen bestudeerd. 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. Hoewel de COGEM beschikt over de exacte locatie van deze veldproef, is zij uitgegaan van een 'worst case scenario' (2). Dit betekent dat de COGEM er bij het beoordelen van de risico's vanuit is gegaan dat alle relevante geografische, klimatologische en ecologische omstandigheden, die zich in Nederland kunnen voordoen, daadwerkelijk in de directe omgeving van de veldproef zullen voorkomen.

De COGEM heeft eerder richtlijnen opgesteld voor de beoordeling van veldproefaanvragen met genetisch gemodificeerde planten (13). Teneinde mogelijke milieurisico's te voorkomen, worden in deze richtlijnen criteria beschreven voor een klassenindeling 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 eventueel verkregen

worden uit eerdere kleinschalige veldproeven of andere bronnen.

De huidige aanvraag betreft een categorie 2 veldproef. Bij een categorie 2 veldproef moet op basis van gegevens aannemelijk gemaakt worden 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 uit te mogen voeren op maximaal vijf locaties per jaar met een maximale omvang per locatie van twee hectare. De aanvrager heeft aangegeven dat er een minimale isolatieafstand van 25 meter gehanteerd zal worden met commercieel geteelde maïs en een minimale isolatieafstand van 250 meter met biologisch commercieel geteelde maïs.

2.1 Eigenschappen van het gewas

Maïs (*Zea mays*) behoort tot de familie van de *Poaceae* en wordt wereldwijd geteeld (14). Bij maïs vindt bevruchting voornamelijk plaats door middel van kruisbestuiving, hoewel ook zelfbestuiving in lage percentages (5%) voorkomt. In Europa zijn geen wilde verwanten van maïs aanwezig, waardoor uitkruising met wilde verwanten niet kan optreden (14). Uitkruising met andere cultuurrassen van maïs kan optreden, maar de eventueel door kruisbestuiving ontstane korrels zitten in de maïskolf 'opgesloten' en kunnen zich alleen verspreiden door tussenkomst van de mens (14). Maïskorrels bezitten geen kiemrust waardoor ze snel zullen kiemen. Gekiemde maïskorrels zijn erg gevoelig voor kou (19) en schimmelinfecties. Opslag van maïsplanten wordt in Nederland dan ook zelden tot nooit waargenomen. Maïs is gevoelig voor competitie van onkruiden en voor vorst (19) en overleeft de Nederlandse winter gewoonlijk niet. Maïs heeft zijn vermogen om te verwilderen verloren (14). In Nederland zijn nog nooit verwilderde maïspopulaties aangetroffen.

Het pollen van maïs wordt voornamelijk door de wind verspreid. Insectbestuiving kan plaatsvinden, maar speelt een ondergeschikte rol. De pollenkorrels van maïs zijn relatief groot (90-125 µm) en zwaar (0,25 µg) waardoor de afstand waarover ze verspreid worden gering is (15, 16). Aangevoerd is dat 90% van het pollen binnen vijf meter en 98% van het pollen binnen 25 meter neerkomt (17, 18). De windrichting heeft een sterke invloed op het verspreidingspatroon en ook de grootte en vorm van het veld lijken de verspreiding te beïnvloeden. Het hanteren van een isolatieafstand vermindert de mate van uitkruising sterk. Uit experimenten blijkt dat op een afstand van 500 meter het uitkruisingspercentage ca. 0,20% bedraagt (22). Daarnaast blijkt dat het uitkruisingspercentage het hoogst is in de eerste rijen van een veld (22, 23). In Nederland is een studie uitgevoerd met een één hectare groot perceel met gg-maïs dat omgeven werd door vier velden van elk één hectare met niet-gg maïs. Uit de voorlopige resultaten van deze studie blijkt dat het gemiddelde uitkruisingspercentage van een perceel op 25 meter

afstand 0,084% was. Het uitkruisingspercentage van een perceel op 250 meter afstand bedroeg slechts 0,005% (24).

2.2 Eigenschappen van de ingebrachte genen

In maïslijn NK603 zijn door middel van ‘particle bombardement’ twee expressie-cassettes ingebouwd. De expressiecassettes bevatten de volgende sequenties:

Expressiecassette 1:

- constitutieve *act1* promoter en *act1* intron, afkomstig van het actin 1 gen van rijst
- chloroplast ‘transit peptide’ *ctp2*, afkomstig van het 5-enolpyruvylshikimate-3-fosfaatsynthase (*epsps*) gen van *Arabidopsis thaliana*
- *cp4 epsps* gen, afkomstig van *Agrobacterium tumefaciens* stam CP4 en coderend voor 5-enolpyruvylshikimate-3-fosfaatsynthase (EPSPS)
- NOS 3’ terminator, afkomstig van het nopaline synthase gen van *A. tumefaciens*

Expressiecassette 2:

- e35S constitutieve enhanced promoter, afkomstig van het *Cauliflower mosaic virus*
- *zmhsp70* intron, afkomstig van het *hsp70* (heat shock protein) gen van maïs
- chloroplast ‘transit peptide’ *ctp2*, afkomstig van het *epsps* gen van *A. thaliana*
- *cp4 epsps L214P*, afkomstig van *A. tumefaciens* stam CP4 en coderend voor EPSPS
- NOS 3’ terminator, afkomstig van het nopaline synthase gen van *A. tumefaciens*

Flankerend aan de promoter van de eerste expressiecassette zijn 305 baseparen aanwezig die homoloog zijn aan chloroplast DNA. De aanwezigheid van het chloroplast DNA is waarschijnlijk een gevolg van de modificatie. De aanvrager heeft de aanwezigheid van mogelijke chimere ORFs op de grens van genomisch planten DNA en het chloroplast DNA bestudeerd. De aanvrager heeft met behulp van BLAST analyse bepaald dat eventueel door chimere ORFs gecodeerde eiwitten niet coderen voor toxische of allergene eiwitten.

De COGEM heeft in eerdere adviezen met betrekking tot marktaanvragen voor import, verwerking en teelt van maïslijn NK603 geconcludeerd dat de moleculaire karakterisatie van deze maïslijn voldoende was (1, 2).

Epsps genen coderen voor het enzym 5-enolpyruvylshikimate-3-fosfaatsynthase (EPSPS), dat in chloroplasten actief is. Dit enzym is betrokken bij de synthese van

aromatische aminozuren. Glyfosaat bindt aan het EPSPS eiwit waardoor de vouwing van het enzym verandert en de vorming van aromatische aminozuren wordt geremd. Wanneer deze aminozuren niet meer beschikbaar zijn sterft de plant. De *cp4 epsps* genen die NK603 tot expressie brengt, coderen voor een EPSPS eiwit waarin een aminozuur is veranderd. Hierdoor krijgt het enzym een andere vouwing (20) en is het enzym minder gevoelig voor de aanwezigheid van glyfosaat. Dit heeft als gevolg dat de productie van aromatische aminozuren doorgaat, ook wanneer er met glyfosaat wordt gespoten.

3. Overwegingen en advies

Het huidige advies heeft betrekking op een vergunningaanvraag voor een kleinschalige veldproef (categorie 2) met de genetisch gemodificeerde maïslijn NK603. Deze maïslijn is tolerant voor glyfosaat-bevattende herbiciden. Sinds 2004 is maïslijn NK603 in Europa toegelaten voor import, industriële verwerking en voedsel. De COGEM heeft in het kader van marktaanvragen eerder positief geadviseerd over teelt, import en verwerking van NK603. Aan een marktaanvraag worden hogere eisen gesteld dan aan een veldproef. In het kader van de marktaanvragen is door andere instanties de voedselveiligheid van deze maïslijn positief beoordeeld. Deze beoordeling is gebaseerd op gegevens over onder andere de voedingswaarde, de veiligheid van de transgene eiwitten en voedingsstudies.

Maïs heeft zijn vermogen om te verwilderen verloren en overleeft de Nederlandse winter gewoonlijk niet. In Nederland zijn nog nooit verwilderde maïspopulaties aangetroffen. Er zijn geen redenen om te veronderstellen dat de aanwezigheid van de *cp4 epsps* en *cp4 epsps L214P* genen in maïslijn NK603 de kans op verwildering vergroot. Deze maïslijn zal alleen selectief voordeel ondervinden wanneer er met glyfosaat-bevattende herbiciden gespoten wordt. Gewoonlijk gebeurt dit alleen op akkers. Hierdoor zijn er geen redenen om aan te nemen dat NK603 onder natuurlijke omstandigheden selectief voordeel ondervindt.

Opslag van maïsplanten wordt in Nederland zelden tot nooit waargenomen. Eventuele opslagplanten zullen het jaar volgend op de teelt van NK603 verwijderd worden. Dit betekent dat maïslijn NK603 na één teeltseizoen, mits niet opnieuw ingezaaid, niet meer in de natuur aanwezig is.

In Europa zijn geen wilde verwanten van maïs aanwezig, waardoor uitkruising met wilde verwanten niet mogelijk is. Uitkruising met andere cultuurrassen van maïs kan optreden, maar de eventueel door kruisbestuiving ontstane korrels bezitten geen kiemrust waardoor ze direct zullen kiemen. Gekiemde korrels zijn erg gevoelig voor kou en schimmelinfecties waardoor deze gewoonlijk niet tot zaailingen zullen uitgroeien. Verwildering van maïs is in Europa nog nooit waargenomen.

De COGEM heeft geen redenen om aan te nemen dat een kleinschalige veldproef met maïslijn NK603 schadelijke effecten op de bodemmicroflora of op niet-doelwitorganismen zal veroorzaken.

Maïslijn NK603 is in Europa toegelaten voor import, industriële verwerking en voedsel. Daarnaast heeft de COGEM in het kader van een marktaanvraag positief geoordeeld over teelt van deze maïslijn. Gezien het bovenstaande is de COGEM van mening dat het eventueel optreden van kruisbestuiving geen risico's voor mens en milieu met zich meebrengt.

In de ontwerpbeschikking van deze veldproef zijn isolatieafstanden opgenomen om uitkruising tegen te gaan. De gehanteerde isolatieafstanden van minimaal 25 meter met commercieel geteelde maïs en van tenminste 250 meter met biologisch commercieel geteelde maïs zijn conform het eindrapport van de commissie co-existentie primaire sector (21). De COGEM heeft eerder beredeneerd dat bij een isolatieafstand van 25 meter en een velddiepte van 100 meter een gemiddeld vermengingspercentage te verwachten valt van 0,35%. Hierdoor is te verwachten dat bij een isolatieafstand van 25 meter het vermengingspercentage minder zal zijn dan 0,9%.

De COGEM is verder van mening dat aan alle voor een categorie 2 veldproef gestelde criteria wordt voldaan. 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 (2003). Marktdossier C/ES/00/01 'NK603 maïze tolerant to glyphosate' (CGM/030319-08)
2. COGEM (2006). Cultivation of herbicide tolerant maïze line NK603 (CGM/060704-01)
3. COGEM (2004). Marktdossier C/GB/02/M3/3 "Insectenresistente en herbicidentolerante maïs NK603 x MON810" (CGM/040421-01)
4. COGEM (2005). Import and processing of insect resistant and herbicide tolerant maïze MON863 x MON810 x NK603 (CGM/050228-02)
5. COGEM (2005). Import and processing of insect resistant and herbicide tolerant maïze MON863 x NK603 (CGM/050228-03)
6. COGEM (2005). Import and processing of insect resistant and herbicide tolerant maïze 1507 x NK603 (CGM/050526-01)
7. COGEM (2007). Import of genetically modified maïze 59122 x NK603 (CGM/070817-02)
8. COGEM (2007). Import of genetically modified maïze 59122 x 1507 x NK603 (CGM/070817-01)
9. COGEM (2006). Cultivation of insect resistant and herbicide tolerant maïze 1507 x NK603 (CGM/060510-01)

10. COGEM (2007). Cultivation of genetically modified maize line NK603 x MON810 (CGM/070308-02)
11. COGEM (2002). Staande landbouw en klassieke veredeling als referentiekader (CGM/021017-06)
12. COGEM (2007). Benodigde locatie milieurisicobeoordeling (CGM/080122-02)
13. COGEM (2005). Indeling veldwerkzaamheden met genetisch gemodificeerde planten (CGM/050929-03)
14. OECD (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize)
15. Smith EG (1990). Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Blewstone Press, Texas
16. Miller PD (1985). Maize pollen: collection and enzymology, pp 279-282. In: Sheridan WF (ed.). Maize for biological research. A special publication of the plant molecular biology association, USA
17. Eastham K and Sweet J (2002). Genetically modified organisms (GMO's). The significance of gene flow through pollen transfer. European environment agency, Environmental issue report, 28
18. Sears MK and Stanley-Horn D (2000). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations. In: Fairbairn C, Scoles G and McHughen A. (Eds.) Proceedings of the 6th international symposium on the biosafety of genetically modified organisms. University extension Press, Canada
19. Crop Protection Compendium (2004). *Zea mays* (maize). CD-ROM edition, ©Cab International 2004, Nosworthy way, Wallingford, UK
20. Funke T. *et al.* (2006). Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. Proceedings of the National Academy of Science **103**: 13010-13015
21. Commissie van Dijk (2004). Coëxistentie Primaire Sector
22. Jones MD and Brooks JS (1950). Effectiveness of distance and border rows in preventing outcrossing in corn. Oklahoma Agricultural Experimental Station, Technical Bulletin No T-38
23. COGEM (2004). Co-existentie in de landbouw. Vermenging, uitkruising en isolatieafstanden (CGM/041013-01)
24. Van de Wiel C, Dolstra O, Groeneveld R *et al.* (2006). Toetsing van afspraken over co-existentie van genetisch gemodificeerde (gg) en niet-gg maïsproductie in Nederland. Voorlopige resultaten van uitkruisingsmetingen onder praktijkomstandigheden in 2006