

# Voorstel van informatieverstrekking aan het publiek

PAU SEMENCES S.A.

**Veldproef met hybride maïs waarbij één van de ouderlijnen een transgene lijn is die een chimeer gen bevat dat codeert voor een superoxide dismutase.**

Europees Notificatienummer  
**B/BE/00/V11**

Na advies van de Bioveiligheidsraad en de Dienst Bioveiligheid en Biotechnologie van het Wetenschappelijk Instituut voor Volksgezondheid - Louis Pasteur, heeft het Belgische Ministerie van Landbouw aan Pau Semences S.A. de toestemming verleend om in 2000 de proefnemingen uit te voeren, zoals beschreven in de aanvraag **B/BE/00/V11**.

Dit programma zal uitgevoerd worden op twee proeflocaties gelegen in de gemeente Avelgem en zal de normale teeltperiode van maïs volgen die loopt van april tot november.

Verantwoordelijke te contacteren voor bijkomende informatie betreffende de proefnemingen:

JP Sampoux  
Pau Semences (Groep Pau Euralis)  
117, avenue de Vendôme  
41000 Blois  
Frankrijk

## 1. Beschrijving van de GGHP:

Het betreft transgene maïs planten welke getransformeerd zijn met twee plasmiden waarop respectievelijk een FeSOD (IJzer-superoxide dismutase) gen van *Arabidopsis thaliana* en het *bar* gen.

Het FeSOD gen (afkomstig van *Arabidopsis thaliana*, zandraket) codeert voor een superoxide dismutase. Superoxide dismutase zet superoxide radicalen om in waterstof peroxide en zuurstof. Overproductie van deze enzymen in de chloroplasten induceert een verhoogde resistentie tegen verschillende stressfactoren. Dit werd reeds aangetoond in dicotyle planten (tabak), alsook in monocotylen (maïs) (Van Breusegem et al., 1999). De gebruikte promotor (CaMV35S) is constitutief actief en induceert expressie van het transgen in de ganse plant.

Het merkgene (*bar*) veroorzaakt resistentie tegen fosfinotricine. Fosfinotricine inhibeert glutamine synthetase. Dit enzym is verantwoordelijk voor de incorporatie van NH<sub>2</sub>-groepen in glutamine. De inhibitie van glutamine synthetase veroorzaakt cellulaire necrose en de dood van de plant, één week na behandeling met Liberty (actieve component: fosfinotricine). De transgene planten bevatten het

bar gen. Dit gen codeert voor fosfinotricine acetyl transferase (PAT). In deze planten wordt fosfinotricine geïnactiveerd door acetylatie van de NH<sub>2</sub> groep. Het gen werd geïsoleerd uit *Streptomyces hygroscopicus*. Dit organisme gebruikt ook PAT om fosfinotricine te detoxificeren welke gevormd wordt als een secundaire metaboliet.

## 2. Doel van de introductie:

Het doel van de introductie is te testen of de resistentie tegen oxidatieve stress (veroorzaakt door lage temperaturen) in maïs kan verhoogd worden door de overproductie van anti-oxidant enzymen. Maïs is een plant van tropische oorsprong en is hierdoor zeer gevoelig aan koude stress. De hypothese van dit onderzoeksprogramma is dat transgene maïs planten welke een efficiënter anti-oxidans systeem bezitten in de chloroplasten toleranter zullen zijn t.o.v. koude stress. Transgene maïs planten werden gemaakt welke het enzym superoxide dismutase tot overproductie brengen in de chloroplast. Experimenten in groeikamers toonden aan dat de transgene planten een verhoogde tolerantie hebben t.o.v. methylviologen en dat ze verhoogde groeicapaciteiten hebben. Met deze veldproeven willen we deze observaties extrapoleren in natuurlijke groeiomstandigheden.

De eerste agronomische resultaten werden bekomen in Frankrijk in 1998. Transgene planten hadden een betere performantie. Dit was het meest uitgesproken in twee locaties in het Noorden van Frankrijk, waar de planten koudere condities ervaarden.

Met de veldproeven in 2000 hopen we om de resultaten bekomen in 1998 te consolideren. In België zal de kans op koude groeiomstandigheden bovendien hoger zijn dan in Frankrijk.

## 3. Ligging van het introductiegebied:

Anzegem (Gijzelbrechtegem)  
Avelgem (Waarmaarde)

**Ten gevolge van de gewijzigde wisselbouw rond de geplande locaties vor het jaar 2000 is de firma verplicht geweest haar locaties voor 2000 aan te passen om te kunnen voldoen aan de opgeëiste isolatiecondities. De 2 nieuwe percelen zijn steeds gelegen in de gemeente van Avelgem. En het type ecosysteem van de 2 nieuwe locaties is identiek met de voorgaande. Daarenboven zijn de voorgestelde technische protocols identiek.**

**Kadastrale coördinaten van de 2 nieuwe percelen:**

**\* Perceel 1:**

- **Gemeente: Avelgem**

**\* Perceel 2:**

- **Gemeente: Avelgem**

## **4. Voorziene experimenten:**

### **4.1. Type experimenten:**

- een experiment waarin de totale biomassa van het bovengrondse deel van de planten wordt bepaald op het moment van oogsten (silage)
- een experiment bij een latere oogst (in het stadium van rijpe granen): meten van de graanopbrengst.

### **4.2. Experimentele protocols:**

#### ***Totale biomassa bovengrondse delen***

Op iedere plaats worden drie identieke experimenten voorzien. In ieder experiment wordt elk te testen genotype gezaaid op een micro-perceel in twee rijen van 5 meter (50 planten per rij van 5 meter). Alle micro-percelen worden gegroepeerd in een vierkant blok, welke in totaal 4500 planten bevat, waarvan 2700 transgene.

#### ***Meten van de graan opbrengst***

Op iedere plaats worden drie identieke experimenten voorzien. In ieder experiment wordt elk te testen genotype gezaaid op een micro-perceel in twee rijen van 5 meter (50 planten per rij van 5 meter). Alle micro-percelen worden gegroepeerd in een vierkant blok, welke in totaal 4500 planten bevat, waarvan 2700 transgene.

#### ***Opmerking***

Op beide plaatsen wordt dus zowel een experiment opgezet voor het meten van de biomassa en voor de graanopbrengst. Op beide plaatsen gebeuren deze experimenten naast elkaar. Op iedere plaats staan dus in totaal 9000 planten, waarvan 5400 transgene.

### **4.3. Zaaiwijze:**

Op iedere plaats wordt er gezaaid met een pneumatische zaaimachine, onder controle van een gespecialiseerd technicus.

### **4.4. Land bewerking:**

Voor het zaaien, worden de zaden behandeld tegen insecten en Fusarium (Thirame).

Voor alle proefvelden, de grondbewerking is zoals gewoonlijk voor de kweek van maïs: indien nodig herbicide behandeling na het zaaien, behandeling met minerale meststoffen, insecticide behandeling en irrigatie.

### **4.5. Maatregelen om het verspreiden van transgene pollen te voorkomen:**

De gebruikte percelen zijn geïsoleerd: binnen een straal van 300m wordt geen maïs of andere seksueel compatibele gewassen geteeld.

Bovendien wordt ieder perceel met transgene planten omringd door 4 rijen niettransgene maïs, welke een fysieke barrière vormt tegen de diffusie van transgene pollen.

#### **4.6. Maatregelen om het verspreiden van zaden te voorkomen:**

##### ***Voor het zaaien:***

Zaden worden in gesloten zakken aangevoerd vanuit "Pau Semences" in Frankrijk.

Deze zakken zullen enkel geopend worden op de percelen. Dit gebeurt door een getraind technicus. De zaden worden onmiddellijk uitgezaaid.

##### ***Tijdens de oogst:***

Graan of de hele plant worden verzameld in containers nadat ze gewogen zijn. Al het geoogste materiaal wordt vernietigd.

##### ***Na de oogst:***

Delen van de stengel en bladeren zullen achterblijven op het veld na de oogst. Deze worden mechanisch omgewoeld en bedekt met aarde. Gedurende de jaren na de veldproeven blijft het veld braak of zullen enkel andere gewassen dan maïs gezaaid worden. Mogelijke nagroei zal vernietigd worden voor de bloei.

#### **4.7. Observatieplannen:**

Iedere persoon die de percelen betreedt zal worden ingelicht over de aard van de planten en over de maatregelen welke in acht dienen genomen te worden om de verspreiding van transgeen materiaal te voorkomen.

##### ***De percelen worden regelmatig bezocht***

- minstens twee maal per week gedurende een periode van 15 dagen gedurende de periode van bloei der mannelijke aren.
- minstens een maal per week buiten deze periode.
- iedere abnormaliteit zal onmiddellijk gesignaleerd worden en de noodzakelijke maatregelen zullen getroffen worden.

#### **4.8. Noodplan:**

Indien nodig kan op elk moment overgegaan worden tot een totale vernietiging van de experimentele percelen (transgene planten en niet-transgene planten) door gebruik te maken van een niet-selectief herbicide. De planten worden vervolgens vermalen en begraven in de grond.

## 5. Evaluatie van voorziene effecten (toxische effecten en mogelijke verstoringen van het leefmilieu):

### 5.1. Beschrijving van de eigenschappen die zijn geïntroduceerd, met inbegrip van de merkergenen:

Het *FeSOD* gen (afkomstig van *Arabidopsis thaliana*, zandraket) codeert voor een superoxide dismutase. Superoxide dismutase zet superoxide radicalen om in waterstof peroxide en zuurstof. Overproductie van deze enzymen in de chloroplasten induceert een verhoogde resistentie tegen verschillende stressfactoren. Dit werd reeds aangetoond in dicotyle planten (tabak), alsook in monocotylen (maïs) (Van Breusegem et al., 1999). De gebruikte promotor (CaMV35S) is constitutief actief en induceert expressie van het transgen in de ganse plant.

De verwachte verhoogde resistentie tegen oxidatieve stress veroorzaakt door koude stress zou kunnen leiden tot verhoogde groeicapaciteiten en een vertraagde senescentie op het einde van de groeicyclus. Gezien de geplande voorzorgsmaatregelen (vernietigen van alle nagroei) kan hierdoor echter geen onvrijwillige introductie van de transgene organismen in het milieu gebeuren.

We verwachten geen invloed op de wijze van voortplanting, generatietijd of seksuele compatibiliteit met andere species.

Mogelijke interacties met andere organismen. Risico evaluatie moet overwogen worden voor potentiële maïs predatoren: micro organismen, vogels en wild. Horizontale gen transfer tussen maïs en bodem micro-organismen en bacteriën is vrijwel onbestaande. Inname van transgene zaden door vogels of wild is daarom ook zonder gevaar. Bovendien zal het transgene eiwit vlug verteerd worden in de maag. Daarenboven activeert dit eiwit geen processen welke maïs vreemde stoffen aanmaken.

#### **Merkergen:**

Het merkergen (bar) veroorzaakt resistentie tegen fosfinotricine. Fosfinotricine inhibeert glutamine synthetase. Dit enzym is verantwoordelijk voor de incorporatie van NH<sub>2</sub>-groepen in glutamine. De inhibitie van glutamine synthetase veroorzaakt cellulaire necrose en de dood van de plant, één week na behandeling met Liberty (actieve component: fosfinotricine). De transgene planten bevatten het bar gen. Dit gen codeert voor fosfinotricine acetyl transferase (PAT). In deze planten wordt fosfinotricine geïnactiverd door acetylatie van de NH<sub>2</sub> groep. Het gen werd geïsoleerd uit *Streptomyces hygroscopicus*. Dit organisme gebruikt ook PAT om fosfinotricine te detoxificeren welke gevormd wordt als een secundaire metaboliet.

Resistentie tegen het herbicide Basta veroorzaakt geen selectief voordeel, behalve in die situaties waarin men doelbewust sproeit met Basta.

## **5.2. Informatie over mogelijke toxische effecten of neveneffecten van de genetische modificatie op de volksgezondheid en het leefmilieu:**

Het werd aangetoond dat het PAT enzym welke gecodeerd is door het bar gen onmiddellijk (enkele seconden) wordt afgebroken door menselijke en dierlijke darmsappen. Het is dus onwaarschijnlijk dat dit eiwit een allergische respons zou veroorzaken. Het FeSOD eiwit zal waarschijnlijk op een zelfde vlugge wijze afgebroken worden na inname.

## **5.3. Eventuele gevolgen van een gen transfer voor seksueel compatibele planten:**

In België komen geen plantensoorten voor welke seksueel compatibel zijn met maïs. Enkel *Zea mays* subspecies *mexicana* (teosinte) is in staat om vruchtbare hybriden te maken met maïs. Maar deze soort komt enkel voor in Centraal-Amerika.

## **5.4. Mogelijke gen transfer naar andere niet-verwante organismen:**

Tot nu toe werden nog geen gen transfers aangetoond vanuit eukaryoten naar prokaryoten in natuurlijke omstandigheden. Een gen transfer gebeurt vanuit de transgene maïs naar andere organismen is dus zeer onwaarschijnlijk.