



Bijlage 9

Inventarisatie van de wetenschappelijke kennis over uitkruising in maïs, koolzaad, aardappel en suikerbiet voor het coëxistentieoverleg 2004

Clemens van de Wiel & Bert Lotz

© 2004 Wageningen, Plant Research International B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Research International B.V.

Plant Research International B.V.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 - 47 70 00
Fax : 0317 - 41 80 94
E-mail : post.plant@wur.nl
Internet : <http://www.plant.wur.nl>

Inhoudsopgave

| | Pagina |
|---------------------------------|--------|
| Voorwoord | 1 |
| Samenvatting | 3 |
| 1. Inleiding | 7 |
| 2. Uitkruising | 9 |
| 3. Mais | 13 |
| 3.1 Uitkruisingsproeven | 13 |
| 3.2 Discussie mais | 14 |
| 3.3 Conclusies maïs | 16 |
| 4. Koolzaad | 17 |
| 4.1 Uitkruising | 17 |
| 4.1.1 Mannelijke steriliteit | 18 |
| 4.1.2 Opslag | 18 |
| 4.1.3 Opslag en kruisbestuiving | 18 |
| 4.1.4 Opslag buiten de akker | 19 |
| 4.1.5 Wilde verwanten | 19 |
| 4.2 Discussie koolzaad | 19 |
| 4.3 Conclusies koolzaad | 21 |
| 5. Aardappel | 23 |
| 5.1 Uitkruising | 23 |
| 5.2 Discussie aardappel | 23 |
| 5.3 Conclusies aardappel | 24 |
| 6. Suikerbiet | 25 |
| 6.1 Uitkruising | 25 |
| 6.2 Discussie suikerbiet | 25 |
| 6.3 Conclusies suikerbiet | 26 |
| 7. Additionele maatregelen | 27 |
| 7.1 Bloeitijddifferentiatie | 27 |
| 7.2 Barrières | 27 |
| 8. Referenties | 29 |
| Bijlage I. Tabellen | 10 pp. |

Voorwoord

Dit rapport vormt de neerslag van een literatuurstudie naar de meest recente gegevens over uitkruising in de gewassen maïs, koolzaad, aardappel en biet ten behoeve van het coëxistentieoverleg 2004 onder leiding van de heer J. van Dijk. Dit rapport is totstandgekomen in opdracht van het ministerie van LNV. Hoewel dit rapport uiteindelijk zoveel mogelijk op zichzelf staand geschreven is, wordt de lezer voor achtergronden nadrukkelijk verwezen naar het voorgaande CLM (Centrum voor Landbouw en Milieu) rapport van Hin (2001): 'Landbouwkundige risico's van uitkruising van GGO-gewassen'.

In het navolgende willen we graag de personen noemen aan wie dank verschuldigd is wegens hun relevante bijdragen aan de totstandkoming van het rapport. Gezien de korte periode waarin dit rapport tot stand moest komen is er geen begeleidingscommissie ingesteld. Ir. Aad van Winden heeft echter als contactpersoon van opdrachtgever LNV zorggedragen voor een bijzonder degelijke begeleiding van het hele project. Ir. Kees-Jaap Hin van CLM en Dr. Edith Lammerts van Bueren van het Louis Bolk Instituut hebben het conceptrapport van kritisch commentaar voorzien en daarmee bijgedragen aan de aanscherping en leesbaarheid ervan.

Als externe deskundigen zijn geraadpleegd: Ir. Esther Kok van RIKILT Instituut voor Voedselveiligheid en Dr. Marc de Loose en Dr. Nina Papazova van het Departement van Plantenveredeling, Gent, België, over PCR kwantificering van uitkruising, Dr. Peter Bruinenberg (AVEBE) en Dr. Arjan Veerman (AGV) over aardappel, Ir. Jan Wevers (IRS) en Dr. Detlef Bartsch (Robert Koch Institut, Berlijn, Duitsland) over suikerbiet, Dr. Hans den Nijs (IBED, UvA) over uitkruising in het algemeen, Dr. Rikke Jørgensen (RisøLaboratorium, Roskilde, Denemarken) over coëxistentie aldaar, en Dr. Emilio Rodriguez Cerezo over activiteiten van IPTS-JRC.

Binnen PRI hebben de volgende personen ons met advies terzijde gestaan: Ir. Henk Bonthuis (WOT-CGN), Dr. Leontine Colon, Dr. Oene Dolstra, Dr. Steven Groot, Dr. Anton Haverkort, Dr. Ton den Nijs, Dr. Olga Scholten, Dr. Henk Schouten, Dr. René Smulders, Prof. Evert Jacobsen en Prof. Martin Kropff.

We would also like to acknowledge our colleague Adriana Alvarez MSc for her assistance in translating a Spanish presentation of maize outcrossing field trials.

Samenvatting

Doel van dit rapport is een actualisering van wetenschappelijke gegevens op het gebied van uitkruising in de gewassen maïs, koolzaad, aardappel en suikerbiet. Het ministerie van LNV heeft hierom verzocht ten behoeve van het coëxistentieoverleg onder leiding van de heer J. van Dijk. In dit coëxistentieoverleg zijn de voornaamste belanghebbenden uit de primaire landbouwproductie verenigd om in gezamenlijk overleg tot maatregelen te komen die het samengaan van GG landbouw en niet-GG landbouw in Nederland veiligstellen.

Concreet houdt uitkruising in dat een gewas op een niet-GG perceel vermengd kan raken met een GG gewas van dezelfde soort doordat uit een GG perceel binnenkomend pollen tot bestuiving en zaadzetting in het niet-GG perceel leidt. Voor maïs als windbestuiver of koolzaad met een combinatie van wind- en insectenbestuiving is het algemene patroon van uitkruising dat het leeuwendeel plaatsvindt dicht bij de bron, waarna met toenemende afstand een snelle afname optreedt. Een heel laag niveau van uitkruising is vervolgens over langere afstanden mogelijk. Koolzaad is een relatief gecompliceerd geval doordat in dit gewas niet alleen uitkruising in strikte zin speelt. Bij koolzaad kunnen ook uit zaden die bij de oogst zijn achtergebleven, in opvolgende teeltseizoenen GG planten opslaan en is uitkruising met wilde populaties in de omgeving van de akker mogelijk. Voor aardappel en suikerbiet is er slechts een indirect belang van uitkruising, omdat in deze gewassen zaden geen onderdeel van het geoogste product uitmaken. Dit rapport behandelt niet de andere mogelijkheden van vermenging, zoals het gebruikte zaaizaad, of die tijdens transport en verwerking verderop in de keten kunnen voorkomen.

Als drempelwaarde waarboven een product als GG gelabeld dient te worden hanteert de EU momenteel 0.9%. Er vindt nog discussie plaats of dezelfde drempel kan toegepast worden voor producten uit de biologische landbouw of dat daar een lagere drempel gehanteerd dient te worden. In de meest strikte variant zou dat de praktische detectiegrens van 0.1% zijn. Vermenging zal in het geoogste product gemeten worden als de hoeveelheid van het transgen DNA (aantal copieën) t.o.v. de totale hoeveelheid DNA dat van het gewas afkomstig is (aantal haploïde genomen). Deze verhouding varieert afhankelijk van het GG gewas, en van het onderdeel van het gewas. De meetmethode wordt dan ook gecalibreerd aan de hand van een zoveel mogelijk overeenkomstige standaard van het gewas met een bekende hoeveelheid GG vermenging erin. Hieraan vindt nog onderzoek en ontwikkeling plaats, en zodoende is de uiteindelijke manier waarop het percentage vermenging aan de hand van een standaard omgerekend gaat worden nog onderwerp van discussie. Tot op heden werkten veldproeven naar uitkruising meestal met het percentage zaden dat het gevolg is van kruisbestuiving. Zonder calibratie zijn deze percentages niet exact om te rekenen naar de waarden die met DNA kwantificering gevonden worden. In de meeste gevallen zal de waarde die met DNA kwantificering gevonden wordt echter lager liggen dan de waarde die met andere methodes, zoals kleurmerkers of herbicidetolerantie, gevonden wordt. Zo is in zaad dat gevormd is aan een niet-GG plant via bestuiving door transgeen pollen het aantal haploïde genomen met het transgen relevant minder dan de helft (ongeveer 1 op 2). Een deel van de weefsels in het zaad is namelijk ofwel van moederlijke (niet-transgene) herkomst ofwel bevat twee maal zoveel haploïde genomen afkomstig van de moederplant als van de (transgene) vaderplant. Voor het uiteindelijke resultaat hangt het ervan af in hoeverre de definitieve richtlijnen voorzien in een terugrekening van de DNA kwantificeringsresultaten naar bijvoorbeeld een percentage vermengde zaden.

In de Britse Farm Scale Evaluations (FSE) en recente Spaanse veldproeven aan maïs is al gebruik gemaakt van een PCR DNA kwantificeringsmethode zoals die in de praktijk op het geoogste product zal worden toegepast. Op grond van de jongste gegevens uit de FSE kan voor maïs aangegeven worden dat gemiddeld op een afstand van 25 m inkruising vanuit een aangrenzend perceel onder de drempelwaarde van 0.9% komt. Dit geldt voor individuele planten in een situatie waarin bron en ontvangend perceel direct naast elkaar liggen. Bij toepassing van isolatieafstanden zal er zich tussen percelen een open ruimte bevinden. Aangezien pollen daarin niet weggevangen wordt door maïsplanten mag op grond van oudere gegevens verondersteld worden dat pollen daar verder zal reiken. Het merendeel reikt echter niet verder dan 25-50 m. Een beperkt deel van recente proeven in Spanje en Frankrijk laat zien dat ook een open ruimte van 25 m leidt tot inkruising onder 0.9% in de buitenste 6 rijen (5 m) van een naburig perceel. Deze resultaten zijn echter nog niet onder wetenschappelijke toetsing gepubliceerd en daarnaast hoeven deze gegevens niet representatief te zijn voor de klimatologische omstandigheden in Nederland. Het andere deel

van de Spaanse en Franse proeven dat conform de FSE methode direct naast of om elkaar heen gelegen percelen betreft, laat namelijk kortere afstanden zien (10-20 m) waaronder de 0.9% bereikt wordt dan de FSE. De Franse proeven maakten geen gebruik van een PCR DNA kwantificeringsmethode, maar kwamen na omrekening van de percentages ingekruiste korrels wel in dezelfde ordes van grootte uit als de Spaanse proeven. Mede vanwege de mogelijkheid van uitschieters onder bijzondere veldomstandigheden zou een ruimere afstand dan 25 m moeten worden aangehouden. Hiervoor zijn geen specifieke gegevens beschikbaar. Een veiligheidsmarge is ook zeker geboden in het geval van relatief kleine ontvangende percelen aangezien deze door een kleinere eigen 'pollenwolk' minder bescherming bieden tegen inkomend pollen vanuit de 'pollenwolken' vanuit grote percelen. Om onder een drempelwaarde van 0.3% te komen leveren de FSE een afstand van 80 m op en om onder 0.1% te komen moet gedacht worden aan een afstand van meer dan 250 m. Het overgrote deel van de Nederlandse productie betreft overigens snijmaïs, waarin de korrel (het potentieel vermengde deel) ten hoogste de helft van het gewicht van het uiteindelijke product uitmaakt. Dit betekent echter niet zonder meer dat met PCR DNA kwantificering twee keer zo weinig vermenging gevonden zal worden. Dit hangt af van de relatieve gehalten aan DNA tussen de verschillende plantonderdelen en de efficiëntie waarmee DNA uit de verschillende onderdelen gewonnen kan worden. Ook hier geldt weer dat calibratie t.o.v. een vergelijkbare productstandaard en de in de definitieve richtlijn gevolgde terugrekeningsmethode de doorslag geven voor het uiteindelijke resultaat. Overigens heeft het niet-lineaire karakter van de pollenverspreidingscurve tot gevolg dat een eventuele uitverdunding van de vermenging in de snijmaïs tot de helft het bereiken van de drempel van 0,9% bijvoorbeeld terug zou brengen van 25 m tot ergens tussen 15 en 20 m in de FSE situatie. Voor het opstellen van richtlijnen is uiteindelijk doorslaggevend welk criterium wordt aangelegd: de inkruising in de korrel of de resulterende relatieve mate van vermenging met transgeen DNA in het totale product.

In het onderzoek aan koolzaad is nog vooral gewerkt met het percentage zaden dat het gevolg is van kruisbestuiving en dus niet met de PCR DNA kwantificeringsmethode zoals op het geoogste product zal worden toegepast. Op grond van een combinatie van meta-analyse en grote veldproeven kan voor koolzaad geconcludeerd worden dat op een gemiddelde afstand van 50 m het inkruisingspercentage van de zaden beneden 0.9% blijft. Het gaat hier om een situatie met open ruimtes tussen percelen. Deze isolatie-afstand van 50 m geldt echter nadrukkelijk voor de eerste keer dat men een GG perceel introduceert in de omgeving van conventionele velden. Op termijn gaat een complex van andere factoren bijdragen aan vermenging, zoals opslag uit op het perceel achterblijvend zaad en uitkruising tussen opslag, andere koolzaadteelten en eventueel zelfs als onkruid aanwezige wilde verwanten van koolzaad. Er zijn wat richtgetallen voor elk van deze mogelijkheden te geven, maar de meest complete benadering op dit moment is modellering zoals het Franse GENESYS. De jongste publicatie op basis van GENESYS (Colbach *et al.*, 2004) geeft dan in een voorbeeld van een intensieve teeltsituatie een isolatie-afstand van 200 m om beneden een drempel van 0.9% te blijven. Dergelijke modellen hebben beperkingen in hun voorspellingskracht, en behoeven dus nog nadere validering. Zeker zolang er nog weinig bekend is over de genoemde factoren in de Nederlandse situatie lijkt het geboden de afstand van 200 m aan te houden. Compensatie is mogelijk door langere rotatie-intervallen, maar dan gaat het om perioden van zeker meer dan 6 jaar. Tot slot zijn zelfs in een situatie van de eerste introductie van een GG perceel in een conventioneel teeltgebied de isolatie-afstanden voor het bereiken van lagere waarden dan 0.9%, fors en, evenals in maïs, sterk afhankelijk van veldgroottes: bijvoorbeeld onder 0.3% bij een 50 m diep perceel pas na 200 m, onder 0.1% bij een 200 m diep perceel bij 100 m. Afhankelijk van de teeltsituatie dient bij een drempelwaarde van 0.1% dus aan afstanden van zeker meer dan 200 m gedacht te worden.

Bij aardappel ligt de situatie anders dan voor maïs en koolzaad. Ten eerste komt het zaad niet in het uiteindelijke product, en ten tweede leidt de combinatie van een gemiddeld laag percentage kruisbestuiving en een geringe rol van windbestuiving ertoe dat inkruising al op een afstand van 10 m ruim beneden 0.1% van de zaden ligt. Hoewel hier geen complete cijfers voor gegeven kunnen worden, zal in de normale landbouwkundige praktijk opslag uit dit zaad een lage concurrentiekracht hebben t.o.v. andere gewassen. Daarmee heeft deze opslag uit het zaad een geringe kans tot het vormen van GG knollen die vervolgens tot vermenging in een opvolgende niet-GG teelt zouden kunnen leiden. Deze kans is aanzienlijk lager dan vermenging tussen opeenvolgende aardappelteelten via opslag uit op een perceel achtergebleven knollen. Voor de opslag uit knollen geldt dat deze in de voor Nederland gebruikelijke rotatiepraktijk reeds zorgvuldig bestreden dient te worden om fytosanitaire redenen. Naar verwachting zal deze opslag dus niet tot vermenging boven de drempelwaardes kunnen leiden. De knollen kunnen zich namelijk alleen goed handhaven door jaarlijks herhaalde opslag en nieuwe knolvorming, aangezien de knollen zelf niet veel langer dan een jaar kiemkrachtig blijven door fysiologische veroudering. Er kan gesteld worden dat voor aardappel

uitkruising niet direct maatgevend is en dat volstaan kan worden met de normale afstand die nodig is om oogstvermenging van knollen te voorkomen.

Voor suikerbiet ligt de situatie nog weer anders dan voor aardappel. Behalve dat in suikerbiet het zaad evenmin onderdeel van het geoogste product vormt, komt de plant in het teeltseizoen normaliter niet tot bloei. Uitzonderingen hierop zijn incidentele schieters en éénjarige onkruidbieten. In de huidige praktijk gaat dit doorgaans om lage en verspreide aantallen die op hun beurt slechts tot lage percentages uitkruising en daarop volgende vermenging kunnen leiden. Bij het uitblijven van schieterbestrijding is echter een sterke vermeerdering van onkruidbieten mogelijk. Daarom kan gesteld worden dat voor suikerbiet in eerste instantie niet zo zeer isolatie-afstanden geboden zijn, maar vooral een strikte en uiterst zorgvuldige schieterbestrijding, d.w.z. voordat er bloei en zaadzetting heeft kunnen plaatsvinden. Bij optimale bestrijding van schieters zal er in principe ook geen bedreiging voor kleinschalige zaadteelt van groentevormen van de biet zijn. Alleen in met onkruidbieten besmette percelen is het te ontraden GG-bieten te introduceren.

Bij de sterkst uitkruisende gewassen maïs en koolzaad kan gedacht worden aan aanvullende maatregelen zoals verschillende bloeitijdstippen tussen in elkaars nabijheid gelegen percelen of barrières tussen percelen. Verschillen in bloeitijdstippen zal in de Nederlandse situatie weinig effectief zijn. Koolzaad heeft een bijzonder lange bloeiperiode. Maïs heeft een beperkt groeiseizoen dat weinig speling in inzaaidatum toelaat zonder opbrengstverlies. Barrières, zoals een hennepgewas, zullen alleen een dempend effect op inkruising hebben in het geval van dicht bij elkaar liggende percelen en dan alleen voor het eerste stuk direct achter de barrière. Verderop in een perceel zal het weinig verschil maken of zelfs een hogere inkruising tot gevolg hebben door verstoring van windpatronen (meestal echter in de lage grootte-orde <0.9%). Het is aanzienlijk effectiever om de buitenste rijen van het gewas zelf te verwijderen over hetzelfde oppervlak als de barrière zou innemen.

1. Inleiding

De opkomst van genetisch gemodificeerde (GG) gewassen heeft wereldwijd geleid tot discussie over de inpasbaarheid in een duurzame landbouw. In Europa is de aarzeling ten opzichte van de toepassing van genetisch gemodificeerde organismen (GGO's) het sterkst. In het voorjaar van 2003 heeft de EU besloten dat vormen van landbouw die gebruik maken van GG gewassen moeten kunnen bestaan naast die vormen die zich baseren op het bewust niet toepassen van GG gewassen. De teeltwijzen die zich profileren met het vermijden van GG gewassen kunnen zowel conventioneel als biologisch van aard zijn. Concreet betekent het EU-besluit dat bijvoorbeeld ongewenste vermenging met GGO's in producten van gangbare of biologische landbouw zoveel mogelijk vermeden moet worden. De EU heeft het vaststellen van de maatregelen om dit te bereiken overgelaten aan de individuele lidstaten. De Minister van LNV heeft daarop in het voorjaar van 2004 het coëxistentie-overleg in het leven geroepen onder leiding van de heer J. van Dijk. In het coëxistentie-overleg zijn de meest betrokken partijen uit de primaire productiesector uitgenodigd om te komen tot afspraken over de wijze waarop vorm gegeven kan worden aan coëxistentie.

Eén van de wegen waarlangs vermenging kan optreden is uitkruising tussen in elkaars nabijheid gelegen percelen met hetzelfde gewas. Om het coëxistentie-overleg te faciliteren heeft het ministerie van LNV verzocht om een actueel overzicht van de stand van het wetenschappelijk onderzoek naar uitkruising voor de gewassen maïs, koolzaad, suikerbiet en aardappel. Dit rapport is de weerslag van de literatuurstudie hiernaar.

Uitgangspunt van deze notitie is het CLM (Centrum voor Landbouw en Milieu) rapport over uitkruising van 2001 plus de twee aanvullende notities van 2002 (Hin, 2001, 2002a en b). In de laatste CLM notitie is een vergelijking gemaakt tussen het basisrapport van 2001 en het in 2002 verschenen rapport over uitkruising van de European Environmental Agency (EEA) (Eastham & Sweet, 2002) en de scenariostudie over coëxistentie van JRC-IPTS (Bock *et al.*, 2002). Bock *et al.* (2002) richtten zich alleen op een paar voorbeelden, te weten, de zaadproductie in koolzaad, en de teelt van snijmaïs en consumptieaardappelen. Dit rapport richt zich specifiek op wat er sindsdien aan gegevens is bijgekomen over uitkruising en maatregelen daartegen zoals isolatie-afstanden en barrières, en probeert daarbij zoveel mogelijk kwantitatieve gegevens aan te dragen.

Na 2002 is er een uitgebreide studie bijgekomen over alle relevante gewassen van de Deense 'Working Group on The co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops' (Tolstrup *et al.*, 2003). Op basis hiervan is in juni 2004 in Denemarken wetgeving aangenomen. Deze wetgeving vormt slechts een kader waarbinnen de specifieke invulling per gewas nog moet worden uitgewerkt. De uitwerking zal in principe aan de hand van de aanbevelingen uit het Deense rapport gedaan worden. In deze Deense studie en die van JRC-IPTS wordt vooral van modellering en tot dan toe gepubliceerde gegevens uitgegaan, en worden ook andere aspecten dan uitkruising op het veld meegenomen. Voor de modellering is gewerkt met het model GENESYS voor koolzaad (Colbach *et al.*, 2001a en b) en het model MAPOD voor maïs (Angevin *et al.*, 2001). Verder is in november 2003 de '1st European Conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops' (GMCC-03) gehouden in Denemarken. De Proceedings van deze GMCC-03 bevatten vooral informatie over koolzaad en maïs en in mindere mate suikerbiet (Boelt, 2003).

In mei 2004 is het Europese project SIGMEA (Sustainable Introduction of GM crops into European Agriculture) van start gegaan. Dit is vooral gericht op koolzaad, maïs en suikerbiet en het omvat 45 partners uit vrijwel alle Europese landen, waaronder PRI. Een van de doelen is om zoveel mogelijk uitkruisingsdatasets gevalideerd en gestructureerd in een database onder te brengen en op basis hiervan halverwege volgend jaar een workshop te houden en tot een publieke rapportage te komen.

Er is vrijwel geen wetenschappelijk gepubliceerd onderzoek specifiek voor de Nederlandse situatie voor handen, al is een van de oudst gevonden kleinschalige uitkruisingsstudies aan maïs in Wageningen verricht (Meijers, 1937). Wel is recent uitkruising onderzocht in AVEBE veldproeven met GG amylopectine-aardappelen (AVEBE ggo monitor juni 2004). Ook is er van de besproken gewassen een recent rapport over de huidige landbouwkundige praktijk en ontwikkelingen daarin voor Nederland beschikbaar (Kempenaar *et al.*, 2003). Het navolgende is dus vooral op

onderzoek elders in Europa gebaseerd, en waar relevant wordt ook aan onderzoek in Canada, USA en Australië gerefereerd.

In deze notitie spelen richtwaarden tussen de 0,1 en de 0,9% een prominente rol. De 0,9% is de EU-drempelwaarde voor etikettering. Het is echter niet de bedoeling om producten te leveren nabij de drempelwaarde. Daarom is het van belang om te weten wat de daadwerkelijke kans op vermenging in het veld is in relatie tot eventueel te nemen coëxistentiemaatregelen. De 0,1% wordt aangenomen als het laagste niveau waarop vermenging met GGO's in praktijkanalyses detecteerbaar zijn. Waarden tussen 0,1 en 0,9% zijn tevens onderwerp van discussie in het kader van normering voor de biologische landbouw.

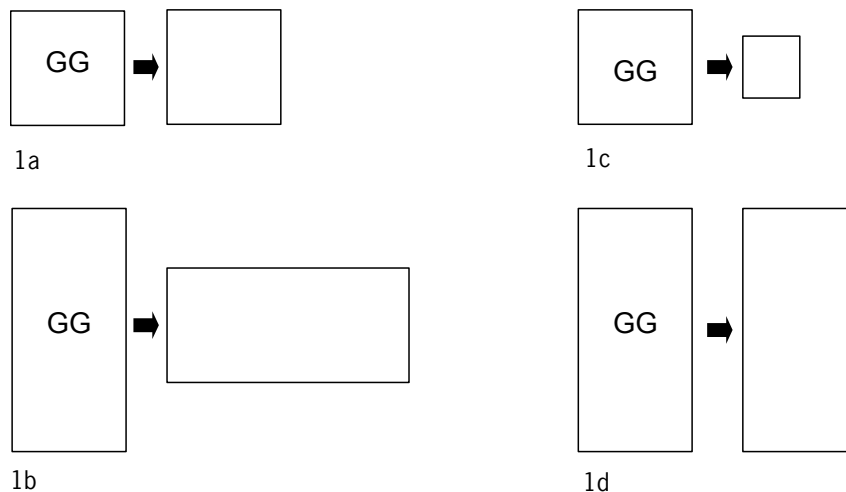
Van de behandelde gewassen is geen zaadproductie van enige omvang in Nederland. Er zijn wel veredelingsbedrijven waar onder strikte isolatienormen productie van basiszaad plaatsvindt. Er is verder alleen op kleine schaal handelszaadteelt, waaronder biologische, van groentengewastypen van de biet, zoals rode biet. Deze groentetypen kunnen uitkruisen met suikerbiet. Van aardappel is er een belangrijke teelt van pootgoed dat echter per definitie geen product van uitkruising is. De zaadteelt wordt hier daarom grotendeels buiten beschouwing gelaten. Ook andere mogelijkheden van vermenging die zich vanaf de oogst in de verwerkingsketen kunnen voordoen vormen geen onderwerp van deze studie.

In het navolgende wordt eerst een korte toelichting op de basisprincipes van uitkruising gegeven. Dan worden per gewas de specifieke karakteristieken besproken die van belang zijn voor uitkruising zoals die uitgebreider zijn beschreven in het CLM rapport. Vervolgens worden per gewas de meest recente resultaten gepresenteerd. In de daarop volgende discussie worden de resultaten vergeleken met oudere gegevens zoals beschreven in het CLM rapport en het Deense coëxistentierapport dat het meest recente adviesstuk over isolatie-afstanden en andere maatregelen tegen vermenging vormt. Tot slot worden conclusies getrokken over wat alle gegevens bij elkaar genomen betekenen voor maatregelen ten behoeve van coëxistentie. Voor een compleet overzicht van de door verschillende organisaties geadviseerde isolatie-afstanden wordt verwezen naar de CLM rapporten.

2. Uitkruising

Het algemene patroon van uitkruising wordt het best weergegeven door de zogenaamde leptokurtische pollenverspreidingscurve. Deze illustreert dat het leeuwendeel van de uitkruising in de onmiddellijke nabijheid van de bron plaatsvindt, vervolgens is er een snelle (exponentiële) afname met de afstand die uitloopt in een staart die op een laag niveau heel lang kan doorlopen. Variatie in de dikte van deze staart is relatief moeilijk te beschrijven door de behoorlijk lage waarden waar het hier om gaat (<0.3%). Voor de praktijk heeft het tot gevolg dat heel lage niveaus van vermenging (in de orde van 0.1%) relatief moeilijk te voorkomen zijn. Verder wordt uitkruising beïnvloed door een groot aantal factoren, waaronder plantenras, compatibiliteit tussen bron en ontvanger, bloeisynchronisatie, beschikbaarheid van pollinatoren (insecten), weersomstandigheden (wind) en de grootte van de velden, zoals uitgebreider beschreven in de bovenstaande rapporten van CLM.

In de landbouwkundige praktijk is de veldgrootte een belangrijke factor. Hierbij gaat het zowel om de absolute grootte als de relatieve grootte van bron en ontvangend perceel ten opzichte van elkaar. Dit heeft voor een belangrijk deel te maken met competitie tussen het inkomende pollen en het pollen dat het perceel zelf produceert. Mogelijke situaties zijn schematisch weergegeven in Figuur 1. Een relatief klein perceel in de onmiddellijke nabijheid van een groot bronperceel zal bij gelijke afstand een aanzienlijk grotere mate van inkruising vertonen dan bij gelijke perceelgroottes (Figuur 1c met de gunstiger situatie in Figuur 1a). Ook de perceelvorm is van belang: een langwerpig perceel dat over de lange zijde naar een nabijgelegen bronperceel gericht is zal eveneens meer inkruising vertonen door de relatief grote contactzone en de geringere hoeveelheid concurrerend eigen pollen vanuit het achterland (vergelijk Figuur 1d met de gunstiger situatie in Figuur 1b). Zodoende moet er rekening mee worden gehouden dat de relatief kleine proefopzetten van veel van de experimenten uit de oudere wetenschappelijke literatuur slechts een beperkte voorspellende waarde hebben voor de landbouwkundige praktijk. Voor het doel van dit rapport zijn dan ook vooral een aantal recente grootschaliger proeven van belang.



Figuur 1. Schematisch overzicht van verschillende mogelijkheden in de vorm, de onderlinge grootteverhoudingen en de oriëntatie ten opzichte van elkaar van pollenbron (GG = genetisch gemodificeerd) en ontvangend perceel. De opties c en d zullen de hoogste GG-inkruising in het ontvangende perceel laten zien.

Vermenging zal in het geoogste product gemeten worden als de hoeveelheid van het transgen DNA (aantal kopiën) t.o.v. de hoeveelheid haploïde genomen van het gewas d.m.v. een zogenaamde real time PCR kwantificeringsmethode (zie kader). Deze verhouding kan variëren afhankelijk van het aantal kopiën van het transgen dat in het GG gewas aanwezig is. In het zaad hangt het onder meer ook af van de verhouding tussen embryo, endosperm en moederlijk weefsel, en in hybride zaad maakt het ook verschil of het transgen afkomstig is van de moederlijke of de

vaderlijke ouderlijn. Concreet betekent dat bijvoorbeeld het volgende. In GG maïs zal het transgen meestal in heterozygote staat aanwezig zijn. Dat heeft tot gevolg dat gemiddeld slechts de helft van het door de GG maïs geproduceerde pollen daadwerkelijk het transgen met zich meedraagt. Zaad dat aan niet-GG planten gevormd is door kruisbestuiving met het transgene pollen, bevat op zijn beurt verschillende onderdelen met elk verschillende ratio's van vaderlijke (transgeen) en moederlijke (niet-transgeen) genomen. Het embryo als product van een gewone bevruchting is heterozygoot en bevat één haploïd genoom met het transgen en één haploïd genoom zonder. Het endosperm als product van een versmelting van twee moederlijke kernen en één kern uit het pollen, bevat één haploïd genoom met het transgen tegenover twee haploïde genomen zonder. Tenslotte bestaat de rest van het zaad uit weefsel, bijvoorbeeld de aleuronlaag, dat afkomstig is van de niet-GG moederplant en dat in dit geval dus per definitie transgeenvrij is. In een dergelijk voorbeeld kan gesteld worden dat aanzienlijk minder dan de helft van de haploïde genomen in het zaad het transgen zal bevatten. Papazova *et al.* (2004) rekenen op basis van hun DNA kwantificeringsproeven aan maïs voor dat de verhouding in de korrel tussen het aantal van het pollen afkomstige genomen en die afkomstig van de moederplant ongeveer 1 op 2 is. Aardappel als tetraploïd gewas neemt hierin een bijzondere positie in. In het geval dat slechts één copie van het transgenconstruct is ingebracht, heeft tetraploidie tot gevolg dat het GG gewas zelf slechts 1 transgen op 4 haploïde genomen bevat en dat elke eerste generatie hybride met een GG-ras dus ook ten hoogste deze ratio zal vertonen.

PCR kwantificering

PCR staat voor Polymerase Chain Reaction ('polymerase ketting reactie'). Met deze methode kunnen specifieke stukken van het genoom in een reageerbuis vermeerderd worden. Op deze manier kan de aanwezigheid van het specifieke stuk DNA in een monster zichtbaar gemaakt worden, bijvoorbeeld door een DNA kleuring op het vermeerderde product in een gel. De specificiteit wordt bereikt door uit te gaan van twee zogenaamde primers die elk de specifieke DNA volgorde aan één van de beide uiteinden van het te vermeerderen stuk DNA herkennen. In 'real time PCR' wordt de DNA vermeerdering tijdens de reactie gevolgd m.b.v. een fluorescerende 'probe'. De toename van het DNA tijdens de reactie wordt dan gekwantificeerd door het meten van de toename van de fluorescentie. Om de hoeveelheid van een bepaald transgen te bepalen wordt uitgegaan van primers die een specifiek stuk van het transgen herkennen. Ook de bron van het transgen, het specifieke GG ras, kan in principe herkend worden. Daarvoor wordt gebruik gemaakt van een combinatie van één primer op het transgenconstruct en één primer die specifiek is voor de plek op het genoom van het gewas waarin het transgen geïnserteerd is. Om het percentage vermenging te kunnen vaststellen moet de in een monster gedetecteerde hoeveelheid van het transgen worden afgezet tegen de totale hoeveelheid van het DNA van het gewas dat in het monster aanwezig is. Daartoe wordt eveneens met 'real time PCR' een stuk van een gen vermeerderd dat in alle vormen van het gewas in één kopie per haploïd genoom voorkomt. Op die manier verkrijgt men als uitkomst dus de verhouding tussen het aantal kopieën van het transgen en het aantal haploïde genomen van het gewas.

Om vanuit de verhouding tussen aantallen transgen en haploïde genomen bijvoorbeeld het oorspronkelijke percentage ingekruiste zaden te bepalen heeft men voor calibratie een standaardmonster met een bekend percentage transgen erin nodig. Dit heeft diverse redenen, waaronder de verschillende verhoudingen tussen haploïde genomen die van het pollen dan wel van de moederplant afkomstig zijn in de verschillende onderdelen van het zaad. Belangrijk is met name ook het praktische punt dat voor een succesvolle PCR reactie DNA van voldoende kwaliteit uit het monster gewonnen moet worden. De effectiviteit van DNA extractie varieert met het product ('matrix') waaruit dit plaatsvindt. Zo is bij vers plantmateriaal DNA extractie uit jong blad effectiever dan uit ouder stengelmateriaal, o.a. doordat in jong blad minder storende stoffen zoals polyfenolen aanwezig zijn. Voor een betrouwbare kwantificering dient het standaardmonster daarom in zoveel mogelijk eigenschappen overeen te komen met het te testen monster.

De relatie tussen de absolute metingen van de PCR kwantificeringsmethode en de daadwerkelijk aanwezige vermen-
ging wordt mede beïnvloed door eigenschappen van het product waarin gemeten wordt. De zogenaamde matrix-
eigenschappen van het product bepalen bijvoorbeeld in welke mate DNA van voldoende kwaliteit geïsoleerd kan
worden om de PCR kwantificatie op uit te voeren. In de praktijk wordt de meetmethode dan ook gecalibreerd aan de
hand van een zoveel mogelijk overeenkomstige standaard van het gewas met een bekende hoeveelheid GG vermen-
ging erin. Hier vindt nog volop onderzoek en ontwikkeling in plaats, en zodoende is de uiteindelijke manier waarop
het percentage vermenging aan de hand van een standaard omgerekend gaat worden nog onderwerp van discussie
(voor achtergronden zie de recente Wageningen UR kennisscan 'GGO-vrije diervoederketens' (Kok *et al.*, 2004), en
Holst-Jensen *et al.*, 2003, Miraglia *et al.*, 2004). Uiteindelijk zullen de definitieve richtlijnen voor de terugrekening
naar een vermengingspercentage aan de hand van de productstandaard bepalend zijn voor het testresultaat en de
daaruit voortvloeiende maatregelen, zoals isolatie-afstanden tussen percelen.

Alleen in de hieronder behandelde recente Farm Scale Evaluations (FSE) en Spaanse veldproeven aan maïs is al
gebruik gemaakt van een PCR kwantificeringsmethode en zullen de gevonden percentages representatief zijn voor
de testpraktijk aan een geoogst product. Andere veldproeven naar uitkruising werkten met het percentage zaden dat
het gevolg is van kruisbestuiving. De kruisbestuiving is dan gedetecteerd met een merker die specifiek is voor de
pollenbron, in de meeste gevallen transgene herbicidetolerantie (trHT), maar ook andere zoals bijv. kenmerkende
kleuren of kwalitatieve moleculair-genetische (DNA) merkers zijn toegepast. In het geval van kleurenmerkers is het
mogelijk dat het gen dat ervoor codeert in homozygote staat in de bronplanten aanwezig is, d.w.z. in elk haploïd
genoom is een copie van het kleurgene aanwezig. Als gevolg hiervan zal al het pollen het merkgene bevatten en elke
inkruising in de testplanten gedetecteerd kunnen worden. Er kan geconcludeerd worden dat in de meeste gevallen
detectiemethodes met merkers, zoals kleuren en herbicidetolerantie, in meerdere of mindere mate een hogere
schatting zullen geven ten opzichte van de DNA kwantificeringsmethode via PCR. Dit zal van gewas tot gewas nader
gepreciseerd moeten worden.

Het hier beschreven patroon van vermenging via uitkruisend pollen is van overwegend belang voor de situatie in
maïs en koolzaad waar het product van uitkruising, het zaad, meegenomen wordt in de oogst en waar bestuiving
ten minste voor een deel door de wind plaatsvindt. Het is van een meer indirect belang voor aardappel en biet omdat
het geoogste product geen zaad bevat. Bij aardappel is verder ook vrijwel geen sprake van windbestuiving. De biet
is een tweejarige soort en komt zodoende in principe in de gewasfase niet tot bloei. Uitzondering daarop zijn de
zogenaamde schietsters. In het vervolg worden de bevindingen per gewas besproken.

3. Maïs

Bij maïs (*Zea mays*) vormt de korrel ten minste deel van het geoogste product. Er is onder Nederlandse omstandigheden geen opslag uit oogstresten en evenmin zijn er wilde verwanten waarmee uitkruising kan plaatsvinden. Daarom is alleen de mate van uitkruising naar niet-GG percelen hier van belang. Maïs is zelf-compatibel, d.w.z. kan in principe zichzelf bestuiven. Vanwege de gescheiden mannelijke en vrouwelijke bloeiwijzen, die verschillen in bloeitijdstip, gedraagt maïs zich echter voor 95% als kruisbestuiver. Bestuiving verloopt voornamelijk via wind, met als bijzonderheid dat maïs voor een grassoort bijzonder zwaar pollen heeft dat dus relatief snel daalt.

3.1 Uitkruisingsproeven

De recente uitkruisingsproeven van maïs zijn samengevat in Tabel 1 van de bijlage. In Groot-Brittannië zijn in 2003 de grootschalige Farm Scale Evaluations (FSE) aan koolzaad, maïs en suikerbiet afgerond. Deze waren vooral op het evalueren van effecten op de biodiversiteit van GG herbicide-tolerante (HT) gewassen gericht, maar in de studie is ook uitkruising meegenomen. De FSE zijn uitgebreid getoetst door een begeleidingscommissie. Voor maïs is over de uitkruising een rapport van DEFRA (UK Department for Environment, Food and Rural Affairs) beschikbaar (Henry *et al.*, 2003). Hierin zijn verspreid over Engeland en gedurende twee jaren, in totaal 55 combinaties bekeken van GG (Herbicide-tolerante, HT) en niet GG velden van ongeveer 3,3 ha direct naast elkaar gelegen. De mate van vermenging vanuit het GG veld werd bepaald in maïskorrels die werden geoogst op verschillende afstanden in het niet-GG veld. Kwantificering van GG-DNA werd uitgevoerd met een PCR methode aan de hand van een maïs-standaard die heterozygoot voor het transgen is.

Gemiddeld daalt de gevonden ratio GG-DNA binnen 20 m vanaf de bron van 6 naar minder dan 0.9%, maximaal werden waarden van 0.14% en 0.42% gevonden op 200 m, in één geval werd 1 positief monster (0.14%) gevonden aan een akkerrand op 650 m; in een geval met 142 m braaklegging tussen bron en niet-GG veld werd 0.1% en 0.026% op 2 m en 0.06% (1 positief monster) op 50 m in het veld gevonden. De uitkruisingratio's werden ook berekend voor situaties waarbij de oogst van een heel perceel als één bulk-product wordt beschouwd. Voor deze vermenging van het gehele niet-GG perceel gold dat 26 van de 55 velden boven 1% uitkwamen, en na verwijdering van de eerste 80 m grenzend aan het GG perceel daalde dit tot 2 van de 55 velden. Er werd weinig variatie tussen jaren gevonden, maar des te meer tussen individuele velden. Dit was vooral gecorreleerd met windomstandigheden, ook de mate van bloeisynchronisatie en vorm van de velden (de lengte van de akkerrand die blootgesteld is aan de bron) speelden een rol. Afname van inkruising met toenemende afstand verliep niet altijd systematisch: soms werden 'hotspots' op 100-150 m aangetroffen, bijv. 0.09% op 150 m waar op 50 en 100 m vrijwel 0% gevonden werd. Landschap speelt hierbij een rol: inkruising werd over een grotere afstand gevonden in aanwezigheid van bosranden achter het niet-GG veld. Niet-lineaire regressie van de data leverde de volgende richtgetallen op: inkruising <0.9% op 24.4 m, <0.3% op 80 m, <0.1% op 257.7 m.

In het voorjaar van 2004 zijn de eerste resultaten uit grootschalige uitkruisingsproeven met Bt-maïs in Spanje aan de buitenwereld gepresenteerd. Deze zijn uitgevoerd door Spaanse onderzoeksinstituten in samenwerking met een aantal maïskweekbedrijven. Op tal van plaatsen zijn samenvattingen verschenen, o.a. European Biotechnology Science & Industry News (2004, 4(3), 8), maar er is nog geen officiële wetenschappelijk rapportage naar buiten gebracht. Spanje is tevens het enige land binnen de EU met een GG maïsteelt van enige omvang (Alcalde, 2003). In Albacete werd op 46 ha met een helft GG en een helft niet-GG: op 1 m een inkruisingspercentage van 6.86% gevonden. Dit was op 12 m tot onder de 0.9% gedaald (0.68%), op 90 m tot onder 0.3% (0.2%), en op 140 m tot onder 0.1% (0.07%). Op 340 m werd nog een waarde van 0.05% gevonden. Wanneer de eerste 70 m direct grenzend aan de bron als bulk samengenomen werd, kwam dit stuk van het niet-GG perceel boven 0.9% inkruising uit, tenzij de 4 eerste rijen weggenomen werden. De eerste 140 m, samen 5 ha vormend, komen op 0.54% inkruising. In Lérida werd uitgegaan van 50x50 m (0.25 ha) grote GG bron in een totaalperceel van 7.5 ha conventionele maïs. Boven de 5 ha samengenomen bleef het conventionele maïsgedeelte van het proefveld beneden een drempelwaarde van 0.9%, onder de 5 ha was dit alleen het geval na verwijdering van de eerste 4 of 8 rijen,

afhankelijk van omstandigheden zoals positie t.o.v. de overheersende windrichting. Verder zijn verspreid over een normaal maïsteeltgebied veertien praktijkcombinaties van GG en niet GG velden in elkaars nabijheid bekeken. In de eerste rij was er gemiddeld 10.03% inkruising, dat vervolgens daalde naar 0.9% in de achtste rij.

Tot slot van de grootschalige Europese proeven zijn er recente gegevens uit de POECB (Programme Operationnel d'Evaluation des Cultures issues des Biotechnologies) door Arvalis en INRA in Frankrijk. Hiervan zijn ook nog slechts een korte rapportage (Bilan des programmes 2002/2003; Benetrix, 2004) en posters (Foueillassar & Fabié, 2003, zie ook Proceedings GMCC-03; Boelt, 2003). In het kader van deze studies werden 12 combinaties van conventionele en 'waxy' maïspcelen geselecteerd op het zich dicht in elkaars nabijheid bevinden (0-25 m) en op zoveel mogelijk synchrone bloei in een normale productiesituatie in Z.-Frankrijk. 'Waxy' maïs is een maïstype dat in tegenstelling tot andere maïs alleen de zetmeelsoort amylopectine in de korrel bevat. Dit type wordt daarom in de zetmeelindustrie toegepast. Inkruising in de 'waxy' maïs vanuit de conventionele percelen werd vastgesteld via een kleurtest op de kolven. Er werd een correctie toegepast voor zaadverontreinigingen en er werd een terugrekening gemaakt naar een situatie in GG maïs waarbij het transgen zich in een heterozygote staat bevindt. De eerste 5 m (omvattende 6 grensrijen) van de 'waxy' maïspcelen vertoonden inkruisingspercentages van 0.43- 6.2%, de totale percelen van 0.00-0.72%. Verwijdering van de grensrijen zou het inkruisingspercentage voor de bulk van het gehele perceel terugbrengen met 0.07%. De maximaal 6.2% in de eerste 6 grensrijen werd gevonden bij een isolatieafstand van 0 m tussen een conventioneel bronveld van 6.3 ha en een 'waxy' veld van 0.6 ha; het totale perceel kwam op 0.41%. Op 25 m tussen een conventionele bron van 5.5 ha en een 'waxy' perceel van 8 ha werd 0.67% in de grensrijen en 0.11% in het totale veld gevonden. Er werd ook een proefopzet bestudeerd vergelijkbaar met die in Lérída (Spanje) met een Bt maïsbron van 200x114 m (2,3 ha) omgeven door een conventioneel maïspceel met een totaalgrootte van 400x225 m (9 ha). Met de overheersende windrichting mee werd op minder dan 10 m in het niet-GG perceel 1 à 2% tot een maximum van 5% aan inkruising gevonden, boven de 10 m bleef dit onder de 0.9%. Over een totaal perceel van gelijke grootte als het GG perceel middelde dit uit tot 0.4%.

3.2 Discussie maïs

Een drempelwaarde van 0.9% GG-vermenging in de korrel blijkt op grond van de FSE data gemiddeld bereikt te worden op de relatief korte afstand van ongeveer 25 m. Daarbij is rekening gehouden met de ongunstigste situatie, d.w.z. percelen die onder de overheersende wind liggen van de bronpercelen. De Spaanse resultaten lijken iets gunstiger in de zin van de afstanden waarop inkruising beneden 0.9% komt dan de Engelse (10-12 m vs. 20 m). Het valt niet uit te sluiten dat dit met verschillen in proefopzet of de detectiemethode te maken heeft. Het zou echter ook gerelateerd kunnen zijn aan klimaatsverschillen, bijv. vochtiger omstandigheden in Engeland. Er worden namelijk nogal verschillende waarden gerapporteerd voor pollenlevensduur (zie ook CLM rapport). Over het algemeen worden vochtige en koele omstandigheden echter als het meest gunstig voor de levensduur beschouwd. De Nederlandse klimaatomstandigheden zullen uiteraard het meest met die van Engeland overeen komen.

De Engelse proeven en ook de grote Spaanse betreffen direct naast elkaar liggende velden. Onder de Spaanse en de Franse proeven bevonden zich echter ook percelen op enige afstand van elkaar, wat bij de praktische toepassing van isolatieafstanden voor coëxistentie de meer realistische situatie zal zijn. De Franse percelen uit een normale teeltsituatie bleven op afstanden van 10 tot 25 m in de buitenste 5 m (6 rijen) samen beneden de 0.9%. Bij een windbestuiver als maïs hoeft geen rekening te worden gehouden met complicaties zoals een relatief makkelijke overbrugging van korte isolatieafstanden door insecten. Er zal geleidelijke neerdaling van het pollen plaatsvinden, wat echter wel sterk afhankelijk is van windomstandigheden. Het merendeel van het pollen reikt doorgaans niet verder dan 25-50 m (bijvoorbeeld 80% kwam niet verder dan 25 m in Jones & Brooks (1950) of depositie was op 60 m 0.2% van die op 1 m van de bron in Raynor *et al.* (1972)). Bedacht moet worden dat de Spaanse en Franse data nog niet in een wetenschappelijk getoetste vorm gepubliceerd zijn en onder van de Nederlandse situatie afwijkende klimatologische omstandigheden tot stand gekomen zijn (zie hierboven). De Franse waardes zijn niet gebaseerd op PCR DNA kwantificering maar lijken met de toegepaste omrekening wel in dezelfde orde van grootte te zitten als de Engelse en Spaanse. Bij de interpretatie van de isolatieafstanden dient terdege rekening te worden gehouden met de perceelgroottes. Zonder isolatieafstand komt in Lérída bijvoorbeeld een direct aan de GG bron grenzend perceeldeel van minder dan 5 ha als geheel boven de 0.9% uit, en dat terwijl de GG bron daarentegen juist een

relatief klein oppervlak heeft t.o.v. het totaal van het proefperceel (0.25 ha GG vs. 7.5 ha totaal). Ook in de FSE kwam ongeveer de helft van de direct aan de GG bron grenzende percelen van 3.3 ha als geheel boven de 0.9% vermenging uit.

In de opzet van de FSE werd 80 m als veilige isolatie-afstand gehanteerd op advies van de SCIMAC (Supply Chain Initiative on Modified Agricultural Crops). Op 80 m afstand blijkt in diezelfde FSE een gemiddelde vermenging in individuele planten van 0.3% bereikt te worden. Uitgaande van een drempelwaarde van 0.9% blijkt de SCIMAC richtlijn van 80 m dus aan de ruime kant. Het Deense coëxistentierapport kwam in de samenvatting van de richtlijnen tot een isolatie-afstand van 200 m voor conventionele teelten (zie tabel 3 appendix). Dit lijkt in het geval van het hanteren van een drempel van 0.9% aanzienlijk aan de ruime kant. Dat in de Deense studie voor de conventionele productie een isolatie-afstand van 200 m wordt aangehouden is vooral gebaseerd op de scenariostudie van JRC-IPTS (Bock *et al.* 2002). De JRC-IPTS-studie gaf door middel van modellering met MAPOD (Angevin *et al.*, 2001) aan dat voor de meest intensieve vormen van maïsteelt in Frankrijk de vermenging pas op 200 m onder de drempel van 0.9% komt. De voorspellingskracht van modelleringen is afhankelijk van de gebruikte constellatie van velden en landbouwkundige praktijken, en van inputs zoals de gebruikte pollenverspreidingscurve. Zo is MAPOD in dit geval uitgegaan van de aanwezigheid van de maximaal toegestane GG vermenging in het gecertificeerde zaaizaad van 0.3% en van homozygote GG maïs als bron. Er zal dan ook o.a. binnen het kader van het EU project SIGMEA nog verdere validering van deze modellen plaatsvinden.

Om overall in een perceel beneden een drempel van 0.1% te komen blijkt in de FSE een afstand van meer dan 250 m noodzakelijk. Dit ligt redelijk in lijn met de in de samenvattende aanbevelingen van het Deense coëxistentierapport genoemde afstand van 300m om beneden de 0.1% te komen in de biologische teelt. Verder wordt voor suikermaïs door SCIMAC een isolatie-afstand van 200 m gehanteerd. Suikermaïs is een apart geval doordat individuele kolven verhandeld worden. Zodoende kan de oogst van een veld gemiddeld onder 0.1% zitten, maar een individuele kolf kan dan nog inkruisingen bevatten. Henry *et al.* (2003) suggereren voor het onder de 0.1% brengen van de inkruising een 200 m isolatie-afstand te combineren met verwijdering van de buitenrij. Het afvangeffect van buitenrijen is op grotere afstand echter twijfelachtig. Over de kortere isolatie-afstanden blijken bij synchroon bloeiende percelen in de besproken proeven de randrijen inderdaad de grootste invangers. In de staart van de pollencurve is dit veel minder het geval (zie bijvoorbeeld hieronder bij koolzaad). Ook laten bijvoorbeeld de FSE zien dat het verloop van inkruising in het veld niet altijd regelmatig verloopt: er kunnen plaatselijk (bijv. op 100-150 m) hogere waarden bereikt worden, al lagen die in de getoonde voorbeelden zelfs nog onder de 0.1%. Omliggende landschapselementen die windpatronen kunnen beïnvloeden blijken hier een rol bij te spelen.

De voorgaande discussie ging over vermengingspercentages in de korrel. Evenals in Engeland en Denemarken betreft het grootste deel van de teelt in Nederland echter snijmaïs, waarin de korrels slechts een deel van het product vormen. Hiervoor worden gewichtspercentages voor de korrels genoemd van 20-40, max. 50% (Ingram, 2000). Dit betekent echter niet zonder meer dat met PCR DNA kwantificering twee keer zo weinig vermenging gevonden zal worden. Dit hangt af van de relatieve gehalten aan DNA tussen de verschillende plantonderdelen en de efficiëntie waarmee DNA uit de verschillende onderdelen gewonnen kan worden. Ook hier geldt weer dat calibratie t.o.v. een vergelijkbare productstandaard en de in de definitieve richtlijn gevolgde terugrekeningsmethode de doorslag geven voor het uiteindelijke resultaat.

Tot slot wijken de onder agronomische omstandigheden gevonden waarden nogal af van die uit de oudere proeven zoals geïnventariseerd in het CLM rapport (Hin, 2001). Deze waarden liepen al erg uiteen van bijv. 0.3% op 50 m tot 0.7% op 300 m (Jones & Brooks, 1950), en dit heeft ongetwijfeld met verschillen in proefopzet en klimatologische omstandigheden te maken. Zoals in hoofdstuk 2 beschreven kan verondersteld worden dat met de in de FSE en Spaanse proeven gehanteerde DNA kwantificeringsmethoden lagere waarden van inkruising worden gevonden dan met kwalitatieve merkers, zoals een bron-specifieke kleur of transgene herbicidetolerantie. Bij alle typen merkers maakt het ook verschil of de merker in een homozygote of heterozygote toestand in de bron aanwezig is. In het geval van een homozygoot aanwezige merker zullen in principe twee keer hogere waarden bereikt worden dan met een merker die zich in een heterozygote staat in de bron bevindt, zoals bijvoorbeeld in de transgene maïs. De grote verschillen tussen proeven illustreren vooral ook het grote belang van de pollencompetitie zoals in hoofdstuk 2 beschreven. In de proef hierboven van Jones & Brooks (1950) zelf met de 0.7% op 300 m zijn als ontvangers kleine

plots op verschillende afstanden van een relatief groot bronperceel gebruikt. Dit is een relatief onvoordelige situatie doordat er relatief weinig concurrerend pollen vanuit de ontvangende planten zelf mee zal concurreren in de bestuiving; de 'staart' van de pollenverspreidingscurve zal daardoor dikker zijn dan in de bovenstaande proeven. De in Jones & Brooks (1950) geciteerde proef van Salamov (1941) met de 0,3% op 50 m maakte gebruik van een 10 ha perceel naast een 2 ha bronperceel, wat veel meer in de richting komt van de hierboven besproken recente proeven op agronomische schaal.

3.3 Conclusies maïs

Samenvattend kan op grond van de jongste gegevens uit de FSE aangegeven worden dat voor maïs gemiddeld bij 25 m inkruising onder 0.9% komt. Dit geldt voor individuele planten in een situatie waarin bron en ontvangend perceel direct naast elkaar liggen. Bij toepassing van isolatie-afstanden zal er zich tussen percelen een open ruimte bevinden, bijvoorbeeld een sloot, of mogelijk een ander snelgroeiend gewas, bijvoorbeeld om onkruidproblemen te vermijden. Aangezien pollen in die situaties niet weggevangen wordt door maïsplanten mag op grond van oudere gegevens verondersteld worden dat pollen daar verder zal reiken. Het merendeel zal echter niet verder dan 25-50 m komen. Een beperkt deel van recente proeven in Spanje en Frankrijk laat zien dat ook een open ruimte van 25 m leidt tot inkruising onder 0.9% in de buitenste rijen van een naburig perceel. Deze resultaten zijn echter nog niet onder extra wetenschappelijke toetsing gepubliceerd en daarnaast hoeven deze gegevens niet representatief te zijn voor de klimatologische omstandigheden in Nederland. Het andere deel van de Spaanse en Franse proeven dat conform de FSE methode direct naast of om elkaar heen gelegen percelen betreft, laat namelijk lagere afstanden zien waaronder de 0.9% bereikt wordt (10-20 m). Vanwege de mogelijkheid van uitschieters onder bijzondere veldomstandigheden zou een ruimere afstand dan 25 m moeten worden aangehouden. Hiervoor zijn geen specifieke gegevens beschikbaar. Een veiligheidsmarge is ook zeker geboden in het geval van relatief kleine ontvangende percelen aangezien deze door een kleinere eigen 'pollenwolk' minder bescherming bieden tegen inkomend pollen vanuit de wolken vanuit grote percelen. Om onder een drempelwaarde van 0.3% te komen leveren de FSE een afstand van 80 m op en om onder 0.1% te komen moet gedacht worden aan een afstand van meer dan 250 m. Het overgrote deel van de Nederlandse productie betreft overigens snijmaïs, waarin de korrel (het potentieel vermengde deel) ten hoogste de helft van het gewicht van het uiteindelijke product uitmaakt. Dit betekent echter niet zonder meer dat met PCR DNA kwantificering twee keer zo weinig vermenging gevonden zal worden. Dit hangt af van de relatieve gehalten aan DNA tussen de verschillende plantonderdelen en de efficiëntie waarmee het DNA voor de meting uit de verschillende onderdelen gewonnen kan worden. Ook hier geldt weer dat calibratie t.o.v. een vergelijkbare productstandaard en de in de definitieve richtlijn gevolgde terugrekeningsmethode de doorslag geven voor het uiteindelijke resultaat. Overigens heeft het niet-lineaire karakter van de pollenverspreidingscurve tot gevolg dat een eventuele uitverdunding van de vermenging in de snijmaïs tot ongeveer de helft het bereiken van de drempel van 0,9% bijvoorbeeld terug zou brengen van 25 m tot ergens tussen 15 en 20 m in de FSE situatie. Voor het opstellen van richtlijnen is uiteindelijk doorslaggevend welk criterium wordt aangelegd: de inkruising in de korrel of de resulterende relatieve mate van vermenging met transgeen DNA in het totale product.

4. Koolzaad

Koolzaad (*Brassica napus*) vertegenwoordigt een aanzienlijk complexere situatie dan maïs. De soort is zelf-compatibel, d.w.z. kan zichzelf bestuiven, maar vertoont kruisbestuivingspercentages variërend van 5-55%. Bij de oogst slaagt men er lang niet in alle zaden van het perceel af te voeren en ook al daarvoor kunnen veel zaden uit de plant gevallen zijn. Deze zaden kunnen kiemen en nieuwe koolzaadplanten geven (opslag) of, eenmaal in kiemrust gegaan, lang in de bodem overleven (zeker meer dan 10 jaar). Dit is vooral van belang voor een teler die in de opvolgende rotatie over wil gaan van GG naar een niet-GG ras. Het houdt echter ook in dat indien inkruising heeft plaatsgevonden op een niet-GG perceel een klein percentage van de achtergebleven zaden vermengd zal zijn. Ook kunnen uit zaadverlies bij transport verwilderde populaties ontstaan op ruderaal terrein buiten de akker. Deze hebben vaak een tijdelijk karakter en een lage zaadvoorraad, maar waar ze zich handhaven kunnen ze op hun beurt weer een bron van uitkruising zijn. Tot slot is er nog de eventuele mogelijkheid van uitkruising naar wilde verwanten die in dezelfde ruderaal gebieden voorkomen als koolzaad populaties.

In verband met de complexe situatie wordt er heel veel onderzoek gedaan aan koolzaad. Er zijn belangrijke studiegebieden waar in een representatieve landschappelijke situatie gekeken wordt naar 'gene flow' (genetische uitwisseling tussen planten via uitkruising zowel als zaadverspreiding), bijv. in Schotland (Tayside, Scottish Crop Research Institute SCRI), en Bourgondië, Frankrijk (Selommes, INRA en Université de Paris). Over de Tayside is recent door DEFRA een rapport uitgebracht, 'Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape' (Ramsay *et al.*, 2003). In tegenstelling tot maïs is vanuit de FSE in Engeland nog geen eindrapport over uitkruising uit, alleen deelresultaten zijn gecommuniceerd (bijv. Eastham & Sweet, 2002). Verder zijn er verspreide publicaties vanuit de studiegebieden in Frankrijk en andere uit Canada en Australië. In tegenstelling tot hierboven bij maïs zijn vrijwel geen van de gepubliceerde resultaten in koolzaad op basis van de PCR-kwantificering zoals die uiteindelijk op het geogoste product wordt toegepast.

4.1 Uitkruising

Uitkruisingsgegevens zijn samengevat in bijgaande Tabel 2 in de bijlage. Damgaard & Kjellsson (2003) geven in de Proceedings van de GMCC-03 een meta-analyse van uitkruisingsdata, d.w.z. een samenbrengen van uitkruisingsdata uit verschillende publicaties onder weging van de verschillen in proefopzet tot een gecombineerde totaalanalyse. De gebruikte uitkruisingsdata waren afkomstig uit Engeland, Frankrijk, Australië, Canada, USA, Denemarken en Zweden en waren meestal gebaseerd op detectie via GG herbicidetolerantie. Deze analyse laat evenals in maïs het belang van veldgroottes zien. Voor een veld van 200 m diep kan men beneden een drempelwaarde blijven van 0.1% bij een isolatie-afstand van 100 m, terwijl een veld van 50 m diep zelfs op een afstand van 200 m nog tot 0.3% komt. Maximaal wordt 0.6% gevonden met een 50 m veld op 50 m afstand. Hierbij is de bovengrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval gegeven; volgens statistische verwachting ligt 5% van de velden hierboven. In overeenstemming hiermee liet modellering over alle velden in de landschappelijke studie in de Tayside (UK) een waarde van beneden 0.1% zien over een heel perceel samengenomen bij een isolatie-afstand van 100 m (Ramsay *et al.*, 2003). Ook bijvoorbeeld in Australië vonden Rieger *et al.*, 2002 met bemonstering van 63 conventionele velden van 25-100 ha in de directe omgeving van transgene velden overeenkomstige waarden. In 63% van de velden werd inkruising gevonden met een maximum van 0.197%, terwijl slechts 7 velden boven 0.03% uitkwamen. Dit betreft echter aanzienlijk grotere akkercomplexen dan in de Nederlandse situatie, in Groningen bijvoorbeeld, gebruikelijk zijn.

Ook in koolzaad moet rekening worden gehouden met het gegeven dat de inkruising niet altijd regelmatig verloopt met de afstand. In de door Eastham & Sweet (2002) beschreven FSE proef 'A' werden bijvoorbeeld uitschieters gevonden op 40 en 100 m (gemiddeld overigens <0.9%, maar >0.1%). Dit kon gerelateerd worden aan verstoring van het windprofiel door de aanwezigheid van een hakhoutbosje in het proefveld, maar andere verklaringen zoals de aanwezigheid van een laag percentage mannelijk steriele planten of vermenging met GG herbicide tolerante zaden konden niet worden uitgesloten. Er was namelijk gebruik gemaakt van het conventionele ras Hyola 401 waarvan later bleek dat zaadpartijen vermengd waren met een laag percentage GG zaden en ook mannelijk-steriele planten

bevatten (Eastham & Sweet, 2002). Rieger *et al.* (2002) laten ook zien dat er in de door hen bestudeerde constellatie van grote percelen in Australië vrijwel geen 'randeffect' is: inkruising aan de rand van een perceel is van dezelfde orde van grootte al is in het midden van een perceel.

4.1.1 Mannelijke steriliteit

Zoals in hoofdstuk 2 beschreven, heeft het belang van de perceelgrootte vooral te maken met competitie tussen inkomend en het eigen pollen. Een extreem voorbeeld van pollencompetitie is de toepassing van mannelijk-steriele zogenaamde lokplanten, die zichzelf per definitie niet kunnen bestuiven door het ontbreken van eigen pollenproductie. Deze worden in het onderzoek gebruikt om de maximale reikwijdte van het pollen zichtbaar te maken. Zo kon met deze methode uitkruising tot op 26 km aannemelijk gemaakt worden in de landschappelijke studie in Tayside UK (Ramsay *et al.*, 2003). In de praktijk van normaal fertiele (hybride) rassen blijkt het gebruik van mannelijk steriele planten echter een overschatting van een à twee ordes van grootte te geven in kruisbestuivingspercentages. Bijvoorbeeld in het ras Synergy, dat uit 80% mannelijk steriele en 20% normaal fertiele planten bestaat, wordt in een zelfde proefopzet 18-45 maal meer inkruising gevonden dan in het normaal fertiele ras Apex (Eastham & Sweet, 2002). Als echter in het ontvangende niet-GG perceel een dergelijke zogenaamde 'varietal association', zoals het genoemde ras Synergy, is toegepast, dient rekening gehouden te worden met aanzienlijk hogere inkruisingspercentages. Over alle velden gemodelleerd kwamen Ramsay *et al.* (2003) in de Tayside bijvoorbeeld op 5% op 100 m, 1% op 1 km en <0.1% op 10 km.

4.1.2 Opslag

Tijdens de oogst kunnen zaadverliezen tussen de 1300 en 14500 per m² bedragen, waarvan tussen 0 en 10% het volgende voorjaar levend halen. De vorming van de zaadbank is sterk afhankelijk van de omstandigheden en behandeling van het veld na de oogst: onderploegen van het zaad en droogte kunnen secundaire kiemrust induceren waardoor het zaad in de zaadvoorraad wordt opgenomen. Geen directe nabehandeling en vocht geven de grootste verliezen: 90% in 6 maanden tegen 95% in 39 maanden bij normale behandeling (Lutman *et al.*, 2003). Een doorsnee zaadvoorraad ligt tussen de 10 tot 100 per m². Een simpele berekening van Lutman (2003) geeft als realistische mogelijkheid ongeveer 2 opslagplanten per m² na 5 jaar (zaadverlies 5000 per m², 2% overlevens na 5 jaar, jaarlijkse ontkieming uit de overlevende zaden ook weer 2%). Een modelmatige benadering door Squire *et al.*, 2003 geeft als resultaat bij een rotatie van 2 jaar wintertarwe/ 1 jaar winterkoolzaad en een optimale teeltbehandeling minder dan 1% opslag na 5 jaar. Met een stricte behandeling die verder gaat in het reduceren van zaadverlies en onkruidbestrijding dan nu gebruikelijk zou na 3 jaar 0.12% vermenging bereikt kunnen worden. Zonder enige behandeling zou de opslag echter pas na 16 jaar onder de 1% komen.

4.1.3 Opslag en kruisbestuiving

In Bourgondië bepaalden Champolivier *et al.*, 1999 het percentage dubbel-herbicideresistente opslagplanten in proefvelden waar het ene GG herbicidetolerante gewas grensde aan een ander herbicidetolerant gewas, m.a.w. het percentage opslagplanten dat afkomstig is van zaad ontstaan door inkruising vanuit het aangrenzende perceel in het voorafgaande teeltseizoen. Deze waren gemiddeld als volgt: 2% op 1 m, 0.2% op 20 m, <0.01% op 65 m. Indien men een relatief ongunstige hoeveelheid gemiddelde inkruising over een veld van 0.2% combineert met bovenstaande berekening van de hoeveelheid terugkerende opslagplanten door Lutman (2003) na 5 jaar van 2 per m² zou men bijv. in de orde van 40 planten per ha uitkomen. Dit geldt echter voor het geval er geen nieuwe inkruising in opvolgende teelten blijkt. Op termijn hangt het uiteindelijke resultaat sterk af van eventuele overlevingsvoordelen van de GG planten t.o.v. de conventionele in combinatie met het type onkruidbestrijding. Dietz-Pfeilstetter (2003) vonden in de in de tabel beschreven proef in Duitsland evenals Champolivier *et al.* (1999) dubbelresistente opslagplanten in het grensgebied tussen hun proefvlakken met verschillende GG herbicidetolerante rassen, maar deze dubbelresistente planten werden niet teruggevonden in de opvolgende gewasrotatie.

4.1.4 Opslag buiten de akker

Opslag kan ook op ruderaal plaatsen buiten de akker optreden door zaadverliezen uit transport. Daaruit kunnen 'ferale' (verwilderde) populaties ontstaan die over het algemeen slechts tijdelijk bestaan en een beperkte zaadvoorraad produceren. In het studiegebied in Frankrijk is daarop een uitzondering beschreven van een populatie die ten minste 8 jaar overleefd had (Pessel *et al.*, 2001) en in Tayside (UK) een van ten minste 12 jaar (Ramsay *et al.*, 2003). Dit was gebaseerd op de identificatie van de planten als afkomstig van een ras dat sinds een overeenkomstige periode in onbruik was geraakt. In het laatste studiegebied bestaat ongeveer een kwart van de populaties langer dan 3 jaar. Dergelijke populaties vertonen op hun beurt inkruising vanuit omliggende teelt (bijv. 4% in een berm in akkergebied in Tayside, Ramsay *et al.*, 2003).

4.1.5 Wilde verwanten

In het kader van studies naar de ecologische impact van GG gewassen is uitgebreid gekeken naar uitkruising van koolzaad met een aantal verwante soorten die op ruderaal groeiplaatsen, al dan niet verwilderd, voorkomen. Globaal in afnemende kruisbaarheid met koolzaad zijn dit: raapzaad *Brassica rapa*, Sareptamosterd *B. juncea*, knopherik *Raphanus raphanistrum*, grijze mosterd *Hirschfeldia incana*, kool *B. oleracea*, zwarte mosterd *B. nigra*, schijnraket *Erucastrum gallicum* en herik *Sinapis arvensis* (voor recente Nederlandse overzichtsrapporten zie Groot *et al.* (2003) en Van de Wiel (2004)). Van belang hier is dat voor het merendeel van de soorten bij studies onder agronomische omstandigheden veelal lage percentages hybriden zijn gevonden. Bijvoorbeeld voor Knopherik werden in verschillende studies de volgende waarden gevonden: geen of vrijwel geen (Zwitserland, Thalmann *et al.*, 2001; Australië, Rieger *et al.*, 2001; Canada, Warwick *et al.*, 2004; UK, Eastham & Sweet, 2002) of 10^{-7} tot $2 \cdot 10^{-3}$ (Frankrijk, Chèvre *et al.*, 2000, Darmency *et al.*, 1998). Persistentie van deze uitkruising lijkt voorlopig beperkt doordat verdere terugkruising met de wilde verwant moeizaam verloopt en daarbij het transgen ook weer verloren kan gaan (Jenczewski *et al.*, 2004). Vooral nog is de belangrijkste verwilderde verwant in dit verband Raapzaad (*B. rapa*). Deze soort wordt in Canada ook toegepast in de olieteelt. Gebaseerd op een combinatie van bronnen berekende Wilkinson *et al.* (2003) voor de hele UK het aantal hybriden dat per jaar gevormd wordt op 32000 in natuurlijke populaties langs waterwegen en 17000 in onkruidpopulaties in akkergebieden, wat verhoudingsgewijs geen hoge aantallen zijn. Plaatselijk kan de situatie anders liggen. In Canada vonden Warwick *et al.* (2003) dat gemiddeld 13% van de zaden op een raapzaad populatie in een koolzaadakker afkomstig waren van hybridisatie met koolzaad; in een opslagpopulatie in een maïsveld was dit getal 0.023%. Hansen *et al.* (2001) vonden in een 11 jaar lang biologisch bewerkte akker in Denemarken een grote populatie opslagplanten. Van deze opslagplanten vertoonden 44 van 102 geteste planten kenmerken van voortgaande introgressie tussen raap- en koolzaad, d.w.z. dat ze een latere generatie hybriden tussen koolzaad en raapzaad vertegenwoordigden.

4.2 Discussie koolzaad

Er kan op grond van de meta-analyse van Damgaard & Kjellsson (2003) en landschapsstudies van Ramsay *et al.* (2003) en Rieger *et al.* (2002) geconcludeerd worden dat op een afstand van 50 m inkruising beneden de drempelwaarde van 0.9% in een perceel van meer dan 50 m diep blijft. Om met behoorlijke zekerheid beneden de 0.1 % te blijven is echter een velddiepte van ten minste 200 m in combinatie met een isolatie-afstand van 100 m nodig. Ook de getallen per positie in het perceel (zie Tabel 2 in de bijlage) blijven op 50 m doorgaans onder de 0.9%. Er dient echter op termijn rekening te worden gehouden met de hierboven besproken interacterende factoren, in afnemende mate van relevantie:

- 1) Uitkruising, zaadvoorraad en opslag: een lage vermenging vanuit een GG perceel kan in een niet-GG perceel in de zaadvoorraad in de bodem terecht komen en weer tot opslag leiden. In zulke situaties hangt het op termijn af van de mate waarin het transgen de planten een selectievoordeel biedt in het toegepaste systeem van onkruidbestrijding. Dit speelt momenteel vooral voor de herbicide-tolerante GG rassen en is dan uiteraard afhankelijk van de herbicidekeus en -toepassing.
- 2) Feraal (verwilderde) koolzaadpopulaties uit transportverliezen etc.: Voor de verwilderde ruderaal populaties geldt *mutatis mutandis* hetzelfde als voor opslag op de akker: vooral bij een selectievoordeel van het transgen

in een ruderaal omgeving zouden aantallen bereikt kunnen worden die tot een relevante mate van terugkruising in niet-GG percelen kunnen leiden. Hiervan is in de Noord-Amerikaanse teeltgebieden en ook in kleinschalige proeven in Groot-Brittannië (Eastham & Sweet, 2002) nog niet gebleken. In de Nederlandse koolzaadteelt wordt onkruid direct rondom de akker doorgaans bestreden (Kempenaar *et al.*, 2003).

- 3) Uitkruising met wilde verwanten in de akker en directe ruderaal omgeving: De rol die de onkruidbestrijding speelt wordt hier geïllustreerd door het bijzondere voorbeeld van een 11 jaar lang biologisch bebouwd perceel met een grote opslagpopulatie in Denemarken. Hansen *et al.* (2001) maakten aannemelijk dat bijna de helft van deze opslagpopulatie uit hybriden tussen koolzaad en raapzaad bestonden die zich over meerdere generaties hadden kunnen handhaven. In geval van inkruising van een transgen in een dergelijke situatie kan ook de wilde verwant een rol gaan spelen in vermenging op dit perceel. Hierbij dient bedacht te worden dat uitkruising van koolzaad naar raapzaad efficiënter gaat dan omgekeerd: in tegenstelling tot koolzaad is er in de obligate kruisbestuiver raapzaad in principe geen competitie van het eigen pollen van de plant die bestuiving door koolzaad tegengaat. Ook zal de aanwezigheid van niet-GG opslag in en rond een perceel door pollencompetitie juist weer enige bescherming tegen GG inkruising vormen. Volgens EU richtlijnen (2001/18) zijn processen van uitkruising naar wilde verwanten bij introductie van GGO's overigens onderdeel van een monitoring-eis.
- 4) Tot slot andere aspecten die geen onderdeel van deze onderzoeksopdracht vormden, maar die wel relevant voor het totaalbeeld zijn: Er dient bijvoorbeeld in de praktijk rekening gehouden te worden met andere vermengingsbronnen. In Canada bleken in een studie van Friesen *et al.* (2003) 3 van 14 zaadmonsters boven de drempel van 0.25% vermenging voor gecertificeerd zaad te liggen. Bij een test op zaadpartijen van hetzelfde ras van 10 verschillende producenten bleek ongeveer de helft van 27 monsters boven 0.25% vermenging, het gemiddelde lag op 0.40% RoundupReady en 0.29% LibertyLink. Daarnaast kan oogstmachinerie materiaal van het ene naar het andere veld brengen.

De meest recente Franse studie op basis van het GENESYS model laat dan ook zien dat in het door hen gebruikte voorbeeldgebied met intensieve teelt en een normale rotatie van 1 op 3 of 1 op 6 een isolatieafstand van wel 200 m noodzakelijk was voor een drempelwaarde van 0.9% (Colbach *et al.*, 2004). Voor het GENESYS model geldt dat resultaten op een expliciet gemodelleerd voorbeeldgebied berekend worden. Deze resultaten kunnen niet zonder meer naar andere situaties worden gegeneraliseerd. Daarnaast vertoont GENESYS een systematische onderschatting van uitkruising als functie van afstand, waarvoor dan weer gecompenseerd moet worden (Colbach *et al.*, 2004). In relatie tot het modelleren van uitkruising is er ook enige controverse over het relatieve belang van wind en insectbestuiving. Zo wijzen recente experimenten met inkooien van bloemen en de bloemarchitectuur op een overwegend belang van insectbestuiving (Cresswell *et al.*, 2003, Ramsay *et al.*, 2003). Modelleren van kruisbestuivingsdata door Walklate *et al.* (2004) wijst op een belangrijke rol van wind over grotere afstanden. Zelfs al verder dan 1 m zou de invloed van insectgedrag van ondergeschikt belang zijn (Walklate *et al.*, 2004). Anderzijds heeft Reboud (2001) laten zien dat beneden 10 m open ruimte, de daadwerkelijke isolatie-afstand weinig verschil maakt voor de inkruising in de randrijen. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat zonder concurrerende planten in de tussenliggende ruimte en bij beperkt pollenaanbod insecten meer geneigd zijn de oversteek te maken. Interactie met de windfactor kon echter niet worden uitgesloten.

Een apart geval vormen de 'variëtaal associaties'. Voor deze rassen zal het in de praktijk uiterst moeizaam zijn om met isolatie-afstanden te werken. Als GG-bron echter zullen deze rassen juist het voordeel hebben dat ze relatief weinig pollen produceren en dus minder uitkruising buiten het perceel zullen vertonen. Omgekeerd zullen dergelijke rassen, inclusief de niet-GG vorm, in de biologische teelt niet zo snel toegepast worden.

Berekeningen van Lutman *et al.*, 2003 en modelleren van Squire *et al.*, 2003 laten zien dat men zelfs bij optimale na-oogst behandeling en onkruidbestrijding gedurende de gewasrotatie minstens vijf jaar moet rekenen om onder de 1% vermenging te komen op een perceel na een seizoen GG koolzaadteelt. Zoals geïllustreerd door de al genoemde modelstudie van Colbach *et al.* (2004) zou voor een veilige marge echter wederom rekening moeten worden gehouden met de interactie met de boven beschreven andere vermengingsoorzaken, zoals inkruising vanuit belendende percelen. Omgekeerd zal elk langduriger rotatie-interval compenseren voor eventuele inkruising in een perceel. Zo geeft de Deense coëxistentiestudie om onder 0.9% vermenging te komen een combinatie van 100 m isolatie-afstand en een 8-jarig rotatie-interval. Gezien het bovenstaande lijkt de effectiviteit hiervan aannemelijk, maar in de praktijk zal het niet eenvoudig toepasbaar zijn. Voor een scenario van onder de 0.1% vermenging of voor de toepassing van

'varietal associations' geeft de Deense studie geen adviezen. Vooral nog lijkt het ook op grond van de meest recente gegevens niet goed mogelijk hiervoor een scenario aan te geven.

4.3 Conclusies koolzaad

Samenvattend kan op grond van een combinatie van meta-analyse en grote veldproeven voor koolzaad geconcludeerd worden dat op een gemiddelde afstand van 50 m inkruising beneden 0.9% blijft. Dit geldt echter nadrukkelijk voor de eerste keer dat men een GG perceel introduceert in de omgeving van conventionele velden. Op termijn gaat een complex van andere factoren bijdragen aan vermenging, zoals opslag uit op het perceel achterblijvend zaad en uitkruising tussen opslag, andere koolzaadteelten en eventueel zelfs als onkruid aanwezige wilde verwanten van koolzaad. Er zijn wat richtgetallen voor elk van deze mogelijkheden te geven. De meest complete benadering echter die tot nu toe beschikbaar is, is modellering zoals met het door Colbach *et al.* (2001a en b) ontwikkelde GENESYS. De jongste publicatie op basis van GENESYS (Colbach *et al.*, 2004) geeft in een voorbeeld van een intensieve Franse teeltsituatie een isolatie-afstand van 200 m om beneden een drempel van 0.9% te blijven. Dergelijke modellen hebben beperkingen in hun voorspellende waarde, en behoeven dus nog nadere validering. Zeker zolang er nog weinig bekend is over de genoemde factoren in de Nederlandse situatie lijkt het geboden de afstand van 200 m aan te houden. Compensatie is mogelijk door langere rotatie-intervallen, maar dan gaat het om perioden van zeker meer dan 6 jaar. Zelfs onder afzien van de andere voor koolzaad genoemde factoren zijn de isolatie-afstanden voor het bereiken van lagere waarden dan 0.9%, fors en, evenals in maïs, sterk afhankelijk van veldgroottes: bijvoorbeeld onder 0.3% bij een 50 m diep perceel pas na 200 m, onder 0.1% bij een 200 m diep perceel bij 100 m. Afhankelijk van de teeltsituatie dient bij een drempelwaarde van 0.1% dus aan afstanden van zeker meer dan 200 m gedacht te worden.

5. Aardappel

In de aardappel (*Solanum tuberosum*) wordt geen zaad geoogst, maar alleen de knol gebruikt. Inkruising vanuit een GG gewas is dus alleen een indirect probleem, d.w.z. indien ingekruist zaad zou leiden tot opslag en knolvorming en indien langs die weg transgen bevattende knollen op termijn in het opvolgende gewas of in een naburig perceel terecht zouden komen. Er is veel variatie tussen rassen in de mate van tot bloei komen en fertiliteit. Kruisbestuiving is in de orde van 0-20% en vindt vooral plaats via insecten. Zaad kan meer dan 10 jaar levensvatbaar blijven, maar opslag hieruit heeft een concurrentienadeel t.o.v. planten uit knollen. Vooral na zachte winters kan behoorlijk wat opslag vanuit achtergebleven knollen voorkomen, die echter in de normale gewasrotatie om fytosanitaire redenen zorgvuldig bestreden dient te worden. Wegens fysiologische veroudering zullen individuele knollen in de bodem niet meer dan een jaar overleven. In tegenstelling tot een zaadvoorraad in de bodem is dus opslag en nieuwvorming van knollen noodzakelijk om tot een vermenging met het volgende aardappelpgewas in de rotatie te komen. Er zijn geen compatibele wilde verwanten in Nederland waarmee uitkruising zou kunnen plaatsvinden.

5.1 Uitkruising

In de AVEBE proeven van 2003 in Valthermond zijn de volgende resultaten gemeld aan de hand van 5459 gescoorde zaailingen: 7.3% op 0 m, 0.7% op 1.5 m, 0% op 5 m (AVEBE GGO monitor, juni 2004). De GG bron bestond uit twee keer 12 blokken van 28 planten geward met twee keer 8 blokken van 28 niet-GG planten. Daarom heen stonden 104 blokken van 28 niet-GG planten als ontvangers. Als niet-GG planten werd een scala aan verschillende rassen toegepast. Het detecteren van GG inkruising werd uitgevoerd d.m.v. PCR op het transgen door de NAK, incl. positieve en negatieve controles. De NAK voerde ook een audit uit op het correct uitvoeren van de veldproeven bij Averis. Deze resultaten zijn nog niet in een publiek wetenschappelijk rapport verwerkt. De AVEBE resultaten stemmen overeen met eerder in de wetenschappelijke literatuur gepubliceerde resultaten. Voor Nieuw Zeeland werd in verschillende proeven 0.046-1.14% op 0-1 m, 0-0.04% op <3 m, 0.008-0.02% op 3-9m, en 0% op >10 m gevonden (Tynan *et al.*, 1990; Conner & Dale, 1996); voor Groot-Brittannië: 23.64% op 0 m, 2.07% op <3 m, 0.017% 10 m, en 0% op 20 m (McPartlan & Dale, 1994; Conner & Dale, 1996).

Enige uitzondering vormt de publicatie over proeven in Zweden van Skogsmyr (1994) waaraan in diverse recente rapporten gerefereerd wordt (bijv. Eastham & Sweet, 2002). Hier wordt gesproken van 72% op 0-1 m en 31% op 1000 m. Dit laatste getal is bijzonder hoog en wordt door Conner & Dale toegeschreven aan een PCR artefact (toepassing van herbicidetolerantie leek mislukt in de proef). Op grond van aanvullende informatie en merkers (schilkleur van de bronpopulatie Desirée) konden deze auteurs een herberekening maken: 1.3% op <1 m, 0.5% op <3 m, en 0% op 1000 m (Conner & Dale, 1996).

Er zijn geen nieuwe getallen bekend geworden over opslag in relatie tot vermenging tussen twee opeenvolgende teelten in de rotatie op hetzelfde perceel.

5.2 Discussie aardappel

In overeenstemming met eerder gepubliceerde resultaten voor aardappel komt volgens de nieuwste gegevens uit de veldproeven van AVEBE inkruising al op 10 m ruim onder de 0.1%. Aangezien er vrijwel geen windbestuiving plaatsvindt, zal er hoogstens incidenteel (<0.1%) door insecten pollen verder gebracht kunnen worden. De hoeveelheid gevormde bessen en het aantal zaden daarin varieert nogal tussen rassen en wordt verder beïnvloed door weersomstandigheden. Er bestaat de mogelijkheid besvorming te onderdrukken door het toedienen van een groeiregulator (MCPA), maar dat kan gevolgen hebben voor de opbrengst van het gewas (Veerman & Van Loon, 1998). Voor de meting van vermenging als verhouding tussen de hoeveelheid transgen en totaal DNA heeft aardappel overigens als bijzonderheid dat het een tetraploid gewas is. In het geval dat slechts één copie van het transgenconstruct is ingebracht, betekent dat dat het GG gewas zelf slechts 1 transgen op 4 haploïde genomen bevat en dat elke eerste

generatie hybride met een GG ras dus ook ten hoogste deze ratio zal vertonen. Zoals hierboven beschreven moet het zaad het eerst nog tot een knol brengen om tot vermenging te kunnen bijdragen. Dit heeft slechts een lage waarschijnlijkheid. Dit geldt ook voor de kans dat opslag uit op de akker achtergebleven knollen leidt tot de aanwezigheid van knollen in het volgende aardappelgewas in de normale rotatie. Conform de JRC-IPTS studie (Bock *et al.*, 2002) houdt de Deense coëxistentiestudie het dan ook op een normaal rotatie-interval van 3 jaar voor de conventionele teelt. Voor de conventionele pootgoedproductie wordt in de Deense studie een interval van 4 jaar voorgesteld, en voor de biologische productie een rotatie-interval van 4 (productie), resp. 5 jaar (pootgoed). In relatie tot de onderbouwing van deze richtlijnen zijn sinds de CLM studie geen nieuwe kwantitatieve gegevens beschikbaar gekomen.

5.3 Conclusies aardappel

Bij aardappel ligt de situatie anders dan voor mais en koolzaad. Ten eerste komt het zaad niet in het uiteindelijke product, en ten tweede leidt de combinatie van een gemiddeld laag percentage kruisbestuiving en een geringe rol van windbestuiving ertoe dat inkruising al op een afstand van 10 m ruim beneden 0.1% ligt. Hoewel hier geen complete cijfers voor gegeven kunnen worden, zal in de normale landbouwkundige praktijk opslag uit dit zaad een lage concurrentiekracht hebben t.o.v. andere gewassen. Daarmee heeft deze opslag uit het zaad een geringe kans tot het vormen van GG knollen die vervolgens tot vermenging in een opvolgende niet-GG teelt zouden kunnen leiden. Deze kans is aanzienlijk lager dan vermenging tussen opeenvolgende aardappelteelten via opslag uit op een perceel achtergebleven knollen. Voor de opslag uit knollen geldt dat deze in de voor Nederland gebruikelijke rotatiepraktijk reeds zorgvuldig bestreden dient te worden om fyto-sanitaire redenen. Naar verwachting zal deze opslag dus niet tot vermenging boven de drempelwaardes kunnen leiden. Er kan gesteld worden dat voor aardappel uitkruising niet direct maatgevend is en dat volstaan kan worden met de normale afstand die nodig is om oogstvermenging van knollen te voorkomen.

6. Suikerbiet

Evenals in aardappel wordt bij de suikerbiet (*Beta vulgaris*) het zaad niet geoogst als product, maar de biet. Deze wordt in principe geoogst voordat de planten in bloei komen. Individuele planten kunnen echter voortijdig schieten. Daarnaast komt ook een éénjarige onkruidbiet voor, die ontstaan moet zijn door inkruising vanuit wilde bieten in de zaadproductiegebieden in Zuid-Europa. Bietenzaad wordt daarom streng gecontroleerd op het voorkomen van onkruidbiet (maximaal toegestaan 0.05%). In de landbouwkundige praktijk dienen beide typen schieters bestreden te worden alvorens bloei en zaadsetting kan optreden. Vermenging kan verder in principe alleen langs indirecte weg optreden in geval van uitkruising van GG schieters naar niet-GG schieters of onkruidbieten. Het door inkruising gevormde zaad kan pas via opslag in latere seizoenen tot vermenging leiden. De compatibele wilde verwant van suikerbiet, de strandbiet *Beta maritima*, komt vooral langs de kust in ZW Nederland in lage aantallen voor. In Nederland vindt op beperkte schaal zaadproductie plaats van rode biet. Deze is volledig kruisbaar met suikerbiet. Alleen indien GG schieters niet afdoende verwijderd worden, en een bietenzaadproductie in de nabijheid plaats vindt, bestaat er een risico op GG vermenging in bietenhandelszaad.

6.1 Uitkruising

Champolivier *et al.* (1999) vonden zonder nadere specificatie in hun proefgebied in Bourgondië 0.07-0.2% inkruising vanuit schietende GG bieten in de eveneens aanwezige onkruidbieten. Evenzo vonden Vigouroux *et al.* (1999) maximaal 0.8% inkruising in onkruidbieten in een braakveld naast een ha bieten met 58 schieters waarvan de helft GG bleek te zijn. In deze situatie waren de kortst gemeten afstanden tussen een schieter en een onkruidbiet 34 tot 90 m. Een kleine uitkruisingsproef met een bron van 0.2 m² bieten homozygoot voor een rode kleur met daaromheen 9 uitstralende rijen van onkruidbieten gaf 10% op 3 m, 1% op 15 m.

Bartsch *et al.* (2003) vonden 0.7% GG vermenging in de nakomelingschap van 31 onkruidbieten verspreid over 3.6 ha in de omgeving van Aken (Duitsland). Hun bronpopulatie was een kunstmatige plot van 656 GG virus-resistente onkruidbieten op 800 m². Aan de hand daarvan berekenden ze een worst case scenario door uit te gaan van 7 overlevers in het volgende gewas die zonder schieterbestrijding in 12 jaar zouden leiden tot 70000 GG planten. De door Bartsch *et al.* (2003) gebruikte bronpopulatie van omgerekend 820 planten per ha is aanzienlijk meer dan het gemiddelde aantal schieters van 9 per ha dat Mùcher *et al.* (2000) vonden in het Rijnland over 250 km². Dit aantal kan van veld tot veld echter nogal variëren en Mùcher *et al.* (2000) troffen zelfs één perceel aan met een uitzonderlijk grote uitschieter van 80.000 schieters per ha. Er werden geen bieten ruderaal buiten de akkers aangetroffen. Kempenaar *et al.* (2003) vermelden voor de Nederlandse situatie een vergelijkbaar gemiddelde van 10 schieters per ha. Jørgensen *et al.* (2003) laten zien dat onder Deense omstandigheden 10% van hybride zaad tussen cultuur- en strandbiet (vergelijkbaar met onkruidbiet) de winter overleeft.

Recent hebben Arnaud *et al.* (2003) aanwijzingen gepubliceerd dat enige verspreiding van de onkruidbiet in hun studiegebied aan de Franse kust plaats had gevonden via zaad. Hun conclusie was gebaseerd op de aanwezigheid van een cytoplasmatische (chloroplast) merker. Cytoplasmatische merkers erven doorgaans niet via het pollen over, wat verspreiding via uitkruising onwaarschijnlijk maakt. Overigens vonden Arnaud *et al.* (2003) slechts geringe aanwijzingen voor verspreiding via pollen (uitkruising) in hun studiegebied.

6.2 Discussie suikerbiet

Bovenstaande getallen en modelberekeningen laten zien dat uitkruising tussen GG schieters en onkruidbieten in en buiten het GG perceel geen louter denkbeeldige mogelijkheid is. Het zal echter doorgaans ten hoogste om lage aantallen kunnen gaan (een ruwe schatting leert het volgende: minder dan 1% inkruising in een situatie met meer dan het doorsnee aantal schieters van ~10 per ha die onbestreden elk ongeveer 1500 zaden produceren; van de gevormde zaden zou 90% af kunnen sterven, dit zal echter afhankelijk zijn van de hoeveelheid winterkou, zeg dus

~15 zaden of opslag daaruit per ha in het volgende seizoen). De studie van Arnaud *et al.* (2003) laat zien dat er ook een mogelijkheid van vermenging via zaadverspreiding bestaat. Het kardinale punt in deze exercitie is de effectiviteit van de schieterbestrijding om de vorming van GG zaden op onkruidbieten tegen te gaan. Dit geldt in hoge mate voor de toepassing van herbicide-tolerante suikerbiet, want bij uitkruising naar de onkruidbiet zou deze GG toepassing voor het uitschakelen van diezelfde onkruidbiet in zijn tegendeel verkeren. De Deense coëxistentiestudie koos daarom voor een veiligheidsmarge in de vorm van een isolatie-afstand van 50 m en een rotatie-interval van 3 jaar voor de conventionele productie, en voor de biologische productie een isolatie-afstand van 100 m en een rotatie-interval van 5 jaar. Indien echter schieterbestrijding gewaarborgd zou zijn, moet volstaan kunnen worden met aanzienlijk kleinere isolatie-afstanden tussen GG- en niet-GG percelen, of zelfs geen. Vanzelfsprekend moet ook in de zaadproductiegebieden het ontstaan van GG onkruidbieten drastisch tegengegaan worden, aangezien een maximale toegestane vermenging van 0.05% nog altijd een aantal van ongeveer 40 onkruidbieten per ha representeert. Hiervoor is al een 'code of conduct' opgesteld door ISF (International Seed Federation). De toepassing van triploïde bietenrassen heeft verder als voordeel dat schieters verminderd fertiel zijn. Indien voor de productie van de triploïde rassen tetraploïden als transgene pollinatorlijnen gebruikt worden is tegelijkertijd de kans op het ontstaan van transgene onkruidbieten in de zaadproductiegebieden geminimaliseerd (Desplanque *et al.*, 2002). Er is echter momenteel een tendens tot het bij voorkeur ontwikkelen van diploïde rassen.

6.3 Conclusies suikerbiet

Behalve dat in suikerbiet het zaad geen onderdeel van het geoogste product vormt, komt de plant in het teeltseizoen normaliter niet tot bloei. Uitzonderingen hierop zijn incidentele schieters en éénjarige onkruidbieten. In de huidige praktijk gaat dit doorgaans om lage en verspreide aantallen die op hun beurt slechts tot lage percentages uitkruising en daarop volgende vermenging kunnen leiden. Bij het uitblijven van bestrijding is echter een sterke vermeerdering van onkruidvormen mogelijk. Daarom kan gesteld worden dat voor suikerbiet in eerste instantie niet zo zeer isolatie-afstanden geboden zijn, maar vooral een strikte en uiterst zorgvuldige schieterbestrijding, d.w.z. voordat bloei en zaadzetting heeft kunnen plaatsvinden. Bij optimale bestrijding van schieters zal er in principe ook geen bedreiging voor kleinschalige zaadteelt van groentevormen van de biet zijn. Alleen in met onkruidbieten besmette percelen is het te ontraden GG bieten te introduceren.

7. Additionele maatregelen

7.1 Bloeitijddifferentiatie

Behalve door fysieke afstanden kan isolatie ook in de tijd bereikt worden door het in elkaars buurt toepassen van rassen met een significant verschil in bloeitijd of door op verschillende tijdstippen in te zaaien. Dit vereist overleg tussen naburige bedrijven. De boven beschreven Spaanse coëxistentieproeven geven een praktijkvoorbeeld waarin verschillen in zaaitijd leiden tot het terugbrengen van uitkruising: bij veertien combinaties van GG en niet-GG velden in elkaars nabijheid daalde de inkruising gemiddeld van 10.03% in de eerste rij naar 0.9% in de achtste rij. In de gevallen met een verschil in zaaitijd tussen de percelen van minder dan 2 weken bereikte inkruising 13,82% in de eerste rij en 0.99% in de achtste (0,82% in 16de rij), maar met een verschil in zaaitijd van meer dan 2 weken was dit resp. 0.55% en 0,6%. De laatste getallen laten overigens zien dat op de lagere niveaus van inkruising (in de staart van de pollenverspreidingscurve) het randeffect, d.w.z. het afvangen van het merendeel van het pollen door de randrijen, veel geringer is zoals hierboven onder maïs al aan de orde is geweest. Ingram, 2000 geeft op grond van rassenproeven voor Groot-Brittannië aan dat er niet veel variatie lijkt te zijn in bloeiperiode in de gangbare hybride rassen. Om verschillende bloeitijden te bereiken moet dan op verschillende tijdstippen ingezaaid worden. In de Nederlandse situatie met een beperkt groeiseizoen laten Lotz & Groeneveld (2001) echter zien dat later zaaien van maïs al heel snel tot opbrengstverlies leidt.

Koolzaad kent een behoorlijk lange bloeiperiode, waardoor scheiding in de tijd niet eenvoudig te realiseren zal zijn, behalve eventueel met winter- en zomerkoolzaad (Ingram, 2000). In Nederland wordt vrijwel alleen winterkoolzaad verbouwd vanwege de hogere opbrengst (Kempenaar *et al.*, 2003). In overeenstemming met wat het CLM rapport al concludeerde kan gesteld worden dat de toepassing van verschillende bloeitijdstippen geen effectieve maatregel zal zijn.

7.2 Barrières

Zoals het bovenstaande liet zien is de beste barrière in eerste instantie het gewas zelf, aangezien hoge percentages uitkruising slechts over heel korte afstanden worden gevonden. Op deze korte afstanden aanwezige planten vangen het overgrote deel van het inkomend pollen af. Dit betekent dat het verwijderen van de eerste rijen van een gewas die bloot staan aan het inkomend pollen al een groot deel van de inkruising wegneemt. De hierboven beschreven recente proeven in Spanje met direct naast elkaar gelegen percelen maïs laten dit ook zien: het verwijderen van de eerste 4 à 8 rijen was al voldoende om onder een inkruisingsdrempel van 0.9% voor het totale perceel te komen. Ook hier geldt echter weer dat de verhouding tussen de perceelgroottes van groot belang is voor het aantal rijen dat verwijderd zou moeten worden. Zo ook wordt in de richtlijnen voor IP (Identity Preserved) maïs voor de VS een isolatieafstand van 200 m bij een akkergrootte van 8 ha voorgeschreven om beneden 0.5% inkruising te blijven; bij minder dan 50 m dienen 16 rijen verwijderd te worden, tussen 50 en 200 m 8 rijen (Thomison, 2004). Zoals in voorgaande stukken onder maïs en koolzaad beschreven, is het afvangeffect van de buitenrijen op grotere afstanden veel geringer, maar daar gaat het ook om percentages lager dan 0.9%.

Het CLM rapport beschrijft al de klassieke studie van Jones & Brooks (1952) naar het effect van een bomenrij en bespreekt ook de in de zaadteelt toegepaste hennepbarrière. Beide zullen vooral een dempend effect hebben op de inkruising over het eerste gedeelte van het veld (bijv. 90 m bij de bomenrij). Verderop zullen ze minder effectief zijn; hier heeft men echter over het algemeen met waardes onder de 0.9%, maar niet noodzakelijkerwijs onder de 0.1%, te maken. De schermen zijn minder effectief dan het gewas zelf, wat te maken zal hebben met het effect van pollencompetitie door het gewas zelf. Niettemin vermeldt Glover (2002) een proef met biet waarbij een 12 m breed scherm een zelfde effect had als 200 m isolatieafstand (terugdringen van de inkruising tot 0.7%). In Saeglitz *et al.* (2000) bleek echter een dicht hennepscherm van 5 m niet heel effectief om uitkruising vanuit een relatief klein veld van 20 x 20 m (0.04 ha) te voorkomen. Helaas werd in dit geval geen vergelijking met een situatie zonder scherm gemaakt. Vanwege de niet geheel duidelijke situatie met betrekking tot de rol van wind vs. insectenbestuiving in

koolzaad is het moeilijk te bepalen in hoeverre het inzaaien van bloemen die insecten weglukken bij zou dragen aan terugdringing van uitkruising. Tot slot dient vermeld te worden dat bosschages en schermen windpatronen kunnen verstoren. Daardoor kunnen plaatselijk juist 'hotspots' van inkruising optreden, waarvan hierboven voorbeelden genoemd zijn bij maïs en koolzaad.

8. Referenties

Alcalde, E., 2003.

Co-existence of GM maize in Spain. Syngenta Seeds S.A., Barcelona.

Angevin, F., E. Klein, C. Choimet, J.M. Meynard, A. de Rouw, & Y. Sohbi, 2001.

Modélisation des effets des systèmes de culture et du climat sur les pollinisations croisées chez le maïs. *In: Meynard, J. M. and Le Bail, M. eds. Isolement des collectes et maîtrise des disséminations au champ. Projet pertinence et faisabilité d'une filière 'non OGM' en maïs et soja. Rapport du programme 3 L'analyse technique des filières de production et la définition des stratégies de limitation des contaminations génétiques des récoltes*. INRA, Paris, pp. 21-35.

Anonymus, 2004.

Uitkruising beperkt. AVEBE GGO monitor. 28 juni 2004.

Arnaud, J.F., F. Viard, M. Delescluse & J. Cuguen, 2003.

Evidence for gene flow via seed dispersal from crop to wild relatives in *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae): consequences for the release of genetically modified crop species with weedy lineages. *Proceedings Of The Royal Society Of London Series B Biological Sciences* 270: 1565-1571.

Bartsch, D., U. Wehres, U. Göttsche & A. Gathmann, 2003.

Introduction to field trial data of crop to weed beet gene flow. *In: Boelt, B. ed. Proceedings of the first European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops*. Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Flakkebjerg, Slagelse, Denmark, pp. 105-107.

Bateman, A.J., 1947.

Contamination of seed crops. II. Wind pollination. *Heredity* 1: 235-246.

Benetrix, F., 2004.

Programme operationnel d'évaluation des cultures issues des biotechnologies. Bilan des programmes 2002/2003. Arvalis - Institut du végétal.

Bilsborrow, P.E., E.J. Evans, J. Bowman & B.F. Bland, 1998.

Contamination of edible double-low oilseed rape crops via pollen transfer from high erucic cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76: 17-22.

Bock, A.-K., K. Lheureux, M. Libeau-Dulos, H. Nilsagard & Rodriguez-Cerezo, 2002.

Scenarios for co-existence of genetically modified, conventional and organic crops in European agriculture. IPTS-JRC, Sevilla, EUR 20394EN.

Boelt, B.E., 2003.

Proceedings of the first European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops. *In: Boelt, B. (ed.). First European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops*. Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Flakkebjerg, Slagelse, Denmark, 228 pp.

Byrne, P.F., K.A. Terpstra, T.A. Dabbert & R. Alexander, 2003.

Estimated pollen-mediated gene flow in corn under Colorado conditions. *In: Annual Meeting Abstracts*. ASA, CSSA, SSSA.

- Champolivier, J., J. Gasquez, A. Messéan & M. Richard Molard, 1999.
Management of transgenic crops within the cropping system. *In: Lutman, P. J. W. ed. Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops*. BCPC Symposium Proceedings No 72. British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 233-240.
- Chèvre, A.M., F. Eber, H. Darmency, A. Fleury, H. Picault, J.C. Letanneur & M. Renard, 2000.
Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1233-1239.
- Chilcutt, C.F. & B.E. Tabashnik, 2004.
Contamination of refuges by *Bacillus thuringiensis* toxin genes from transgenic maize. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* 101: 7526-7529.
- Colbach, N., C. Clermont Dauphin & J.M. Meynard, 2001.
GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83: 235-253.
- Colbach, N., C. Clermont Dauphin & J.M. Meynard, 2001.
GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. II. Genetic exchanges among volunteer and cropped populations in a small region. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83: 255-270.
- Colbach, N., F. Angevin, J.M. Meynard & A. Messéan, 2004.
Using the GENESYS model quantifying the effect of cropping systems on gene escape from GM rape varieties to evaluate and design cropping systems. *Oleagineux, Corps gras, Lipides* 11: 11-20.
- Conner, A.J. & P.J. Dale, 1996.
Reconsideration of pollen dispersal data from field trials of transgenic potatoes. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 505-508.
- Cresswell, J.E., 1994.
A method for quantifying the gene flow that results from a single bumblebee visit using transgenic oilseed rape, *Brassica napus* L. cv. Westar. *Transgenic Research* 3: 134-137.
- Cresswell, J.E., T.W. Davies, M.A. Patrick, F. Russell, C. Pennel, M. Vicot & M. Lahoubi, 2003.
Brassica napus is aerodynamically unsuited to cross-pollination by wind. *In: Boelt, B. ed. Proceedings of the first European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops*. Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Flakkebjerg, Slagelse, Denmark, p. 206.
- Cuthbert, J.L. & P.B.E. McVetty, 2001.
Plot-to-plot, row-to-row and plant-to-plant outcrossing studies in oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Science* 81: 657-664.
- Damgaard, C. & G. Kjellsson, 2003.
Pollen dispersal between fields of GM and non-GM oilseed rape: meta-analysis of available data and the possibilities for co-existence. *In: Boelt, B. ed. Proceedings of the first European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops*. Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Flakkebjerg, Slagelse, Denmark, pp. 161-162.
- Darmency, H., E. Lefol & A. Fleury, 1998.
Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. *Molecular Ecology* 7: 1467-1473.

- Desplanque, B., N. Hautekeete & H. van Dijk, 2002.
Transgenic weed beets: possible, probable, avoidable? *Journal of Applied Ecology* 39: 561-571.
- Dietz-Pfeilstetter, A. & P. Zwerger, 2003.
Pollen and seed dispersal during the large scale cultivation of transgenic oilseed rape. *In: Boelt, B. ed. Proceedings of the first European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops.* Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Flakkebjerg, Slagelse, Denmark, pp. 97-99.
- Downey, R.K., 1999.
Gene flow and rape - the Canadian experience. *In: Lutman, P. J. W. ed. Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops.* BCPC Symposium Proceedings No 72. British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 109-116.
- Eastham, K. & J. Sweet, 2002.
Genetically modified organisms (GMOs): the significance of gene flow through pollen transfer. European Environment Agency, Copenhagen, Environmental issue report No 28.
- Fouellassar, X. & A. Fabié, 2004.
Waxy maize production, an experiment evaluating the co-existence of GM and conventional maize. Arvalis.
- Friesen, L.F., A.G. Nelson & R.C. van Acker, 2003.
Evidence of contamination of pedigreed canola (*Brassica napus*) seedlots in western Canada with genetically engineered herbicide resistance traits. *Agronomy Journal* 95: 1342-1347.
- Glover, J., 2002.
Gene flow study: Implications for the release of genetically modified crops in Australia. Bureau of Rural Sciences, Canberra.
- Groot, M.H.M., C.C.M. van de Wiel, P.H. van Tienderen & H.C.M. den Nijs, 2003.
Hybridisation and introgression between crops and wild relatives. University of Amsterdam & Plant Research International, Amsterdam & Wageningen, COGEM research 2003-02.
- Hall, L., K. Topinka, J. Huffman, L. Davis & A. Good, 2000.
Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science* 48: 688-694.
- Hansen, L.B., H.R. Siegismund & R.B. Jorgensen, 2001.
Introgression between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its weedy relative *B. rapa* L. in a natural population. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48: 621-627.
- Henry, C., D. Morgan, R. Weekes, R. Daniels & C. Boffey, 2003.
Farm scale evaluations of GM crops: monitoring gene flow from GM crops to non-GM equivalent crops in the vicinity Final report EPG 1/5/138. Part I: Forage maize. DEFRA.
- Hin, C.J.A., 2001.
Landbouwkundige risico's van uitkruising van GGO-gewassen. Centrum voor Landbouw en Milieu, Utrecht, CLM 511-2001.
- Hin, C.J.A., 2002a.
Gewas- en teeltspecifieke knelpunten van uitkruising van GGO-gewassen naar GGO-vrije teelten en opties voor maatregelen. Centrum voor Landbouw en Milieu, Utrecht.

- Hin, C.J.A., 2002b.
Vergelijking rapporten CLM, EEA en IPTS over uitkruising. Centrum voor Landbouw en Milieu, Utrecht, CLM.
- Holst-Jensen, A., S.B. Ronning, A. Lovseth & K.G. Berdal, 2003.
PCR technology for screening and quantification of genetically modified organisms (GMOs). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 375: 985-993.
- Ingram, J., 2000.
The separation distances required to ensure cross-pollination is below specified limits in non-seed crops of sugar beet, maize and oilseed rape. *Plant Varieties and Seeds* 13: 181-199.
- Jemison, J.M. & M.E. Vayda, 2001.
Cross pollination from genetically engineered corn: wind transport and seed source. *AgBioForum* 4: 87-92.
- Jenczewski, E., J. Ronfort & A.M. Chèvre, 2003.
Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. *Environmental Biosafety Research* 2: 9-24.
- Jones, M.D. & J.S. Brooks, J.S., 1950.
Effectiveness of distance and border rows in preventing outcrossing in corn. Oklahoma Agricultural Experiment Station, Stillwater, Oklahoma, USA. Technical Bulletin.
- Jones, M.D. & J.S. Brooks, 1952.
Effect of tree barriers on outcrossing in corn. Oklahoma Agricultural Experiment Station, Stillwater, Oklahoma, USA. Technical Bulletin.
- Jørgensen, R.B., T.P. Hauser, L.B. Hansen, H.R. Siegismund & B. Andersen, 2002.
Gene flow from oilseed rape (*Brassica napus*) and beet (*Beta vulgaris*) to wild relatives: effects of herbicide tolerant cultivars. *In*: Lelley, T., Balázs, E. and Tepfer, M. eds. *Ecological impact of GMO dissemination in agro-ecosystems*. Facultas Universitätsverlag, Vienna, Austria, pp. 67-75.
- Jugenheimer, R.W., 1976.
Corn. Improvement, seed production and uses. Wiley, New York, 670 pp.
- Kempenaar, C., L. v.d. Brink, C.B. Bus, J.A.M. Groten, C.L.M. de Visser & L.A.P. Lotz, 2003.
Gangbare landbouwkundige praktijken en recente ontwikkelingen voor vier akkerbouwgewassen in Nederland. Plant Research International, Wageningen, Nota 249.
- Kok, E.J., A.J. Smelt, L.T. Colon, O. Dolstra, J.J. de Vlieger, J.M.A.J. Verdonk & C. Lokhorst, 2004.
GGO-vrije diervoederketens. Kennisscan 2004. WUR-Expertisegroep GGO-vrije ketens RIKILT Rapport 2004.009, 60 pag. + bijlage.
- Lavigne, C., E.K. Klein, P. Vallee, J. Pierre, B. Godelle & M. Renard, 1998.
A pollen-dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 6-7.
- Lotz, L.A.P. & R.M.W. Groeneveld, 2001.
De betekenis van een vals zaaibed voor de onkruidbeheersing in de biologische akkerbouw en teelt van vollegrondsgroente. Plant Research International, Wageningen, Note 139.
- Luna, V.S., M.J. Figueroa, M.B. Baltazar, L.R. Gomez, R. Townsend & J.B. Schoper, 2001.
Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science* 41: 1551-1557.

- Lutman, P.J.W., S.E. Freeman & C. Pekrun, 2003.
The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *Journal of Agricultural Science* 141: 231-240.
- Lutman, P.J.W., 2003.
Co-existence of conventional, organic and GM crops – role of temporal and spatial behaviour of seeds.
In: Boelt, B. ed. Proceedings of the first European conference on the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops. Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Flakkebjerg, Slagelse, Denmark, pp. 33-42.
- Ma, B.L., K.D. Subedi & L.M. Reid, 2004.
Extent of cross-fertilization in maize by pollen from neighbouring transgenic hybrids. *Crop Science* 44: 1273-1282.
- McPartlan, H.C. & P.J. Dale, 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.
- Meijers, P.G., 1937.
Op welken afstand is de kruisbestuiving tusschen twee maisrassen nog merkbaar? *Landbouwkundig Tijdschrift* 49: 237-241.
- Miraglia, M., K.G. Berdal, C. Brera, P. Corbisier, A. Holst Jensen, E.J. Kok, H.J.P. Marvin, H. Schimmel, J. Rentsch, J.P.P.F. van Rie & J. Zagon, 2004.
Detection and traceability of genetically modified organisms in the food production chain. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1157-1180.
- Morris, W.F., P.M. Kareiva & P.L. Raymer, 1994.
Do barren zones and pollen traps reduce gene escape from transgenic crops? *Ecological Applications* 4: 157-165.
- Mücher, T., P. Hesse, M. Pohl Orf, N.C. Ellstrand & D. Bartsch, 2000.
Characterization of weed beet in Germany and Italy. *Journal of Sugar Beet Research* 37: 19-38.
- Papazova, N., I. Degrieck, E. van Bockstaele, H. Joos & M. de Loose, 2004.
Relevance of the genetic background of the seed to the application of Real Time PCR strategy for GMO quantification in maize seed samples. Poster at ISTA Seed Symposium, Budapest, Hungary, May 17 -19, 2004.
- Pessel, F.D., J. Lecomte, V. Emeriau, M. Krouti, A. Messean & P.H. Gouyon, 2001.
Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 6-7.
- Ramsay, G., C. Thompson & G.R. Squire, 2003.
Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape. Final report DEFRA project An experimental and mathematical study of the local and regional scale movement of an oilseed rape transgene, RG0216. DEFRA.
- Raynor, G.S., E.C. Ogden & J.V. Hayes, 1972.
Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agronomy Journal* 64: 420-427.
- Reboud, X., 2003.
Effect of a gap on gene flow between otherwise adjacent transgenic *Brassica napus* crops. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 1048-1058.

- Rieger, M.A., T.D. Potter, C. Preston & S.B. Powles, 2001.
Hybridisation between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 555-560.
- Rieger, M.A., M. Lamond, C. Preston, S.B. Powles & R.T. Roush, 2002.
Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science* 296: 2386-2388.
- Saeglitz, C., M. Pohl & D. Bartsch, 2000.
Monitoring gene flow from transgenic sugar beet using cytoplasmic male-sterile bait plants. *Molecular Ecology* 9: 2035-2040.
- Scheffler, J.A., R. Parkinson & P.J. Dale, 1993.
Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*). *Transgenic Research* 2: 356-364.
- Scheffler, J.A., R. Parkinson & P.J. Dale, 1995.
Evaluating the effectiveness of isolation distances for field plots of oilseed rape (*Brassica napus*) using a herbicide-resistance transgene as a selectable marker. *Plant Breeding* 114: 317-321.
- Simpson, E.C., C.E. Norris, J.R. Law, J.E. Thomas & J.B. Sweet, 1999.
Gene flow in genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK.
In: Lutman, P.J.W. ed. Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops, Vol. BCPC Symposium Proceedings No 72. British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 75-81.
- Skogsmyr, I., 1994.
Gene dispersal from transgenic potatoes to conspecifics: a field trial. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 770-774.
- Squire, G.R., G.S. Begg & M. Askew, 2003.
The potential for oilseed rape feral (volunteer) weeds to cause impurities in later oilseed rape crops. Final report DEFRA project Consequences for agriculture of the introduction of genetically modified crops, RG0114. DEFRA.
- Staniland, B.K., P.B.E. McVetty, L.F. Friesen, S. Yarrow, G. Freyssinet & M. Freyssinet, 2000.
Effectiveness of border areas in confining the spread of transgenic *Brassica napus* pollen. *Canadian Journal of Plant Science* 80: 521-526.
- Thalmann, C., R. Guadagnuolo & F. Felber, 2001.
Search for spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.) in agricultural zones and evaluation of the genetic diversity of the wild species. *Botanica Helvetica* 111: 107-119.
- Thomison, P., 2004.
Managing 'pollen drift' to minimize contamination of non-GMO corn. The Ohio State University, Columbus.
- Timmons, A.M., T., O.B.E., Y.M. Charters, S.J. Dubbels & M.J. Wilkinson, 1995.
Assessing the risks of wind pollination from field of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica* 85: 417-423.
- Timmons, A.M., Y.M. Charters, J.W. Crawford, D. Burn, S.E. Scott, S.J. Dubbels, N.J. Wilson, A. T., O.B.E. Robertson, G.R. Squire & M.J. Wilkinson, 1996.
Risks from transgenic crops. *Nature London* 380: 487.

- Tolstrup, K., S.B. Andersen, B. Boelt, M. Buus, M. Gylling, P.B. Holm, G. Kjellson, S. Pedersen, H. Ostergaard & S.A. Mikkelsen, 2003.
Report form the Working Group on 'The co-existence of genetically modified crops with conventional and organic crops'. Ministry of Food, Agriculture and Fisheries, Denmark.
- Tynan, J.L., M.K. Williams & A.J. Conner, 1990.
 Low frequency of pollen dispersal from a field trial of transgenic potatoes. *Journal of Genetics and Breeding* 44: 303-305.
- Veerman, A. & C.D. van Loon, 1998.
 Prevention of berry set and true seed production in six potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars by single foliar applications of MCPA. *Potato Research* 41: 127-133.
- Vigouroux, Y., H. Darmency, T. Gestat de Garambe & M. Richard-Molard, 1999.
 Gene flow between sugar beet and weed beet. *In: Lutman, P. J. W. ed. Gene flow and agriculture: relevance for transgenic crops*. BCPC Symposium Proceedings No 72. British Crop Protection Council, Farnham, UK, pp. 83-88.
- Walklate, P.J., J.C.R. Hunt, H.L. Higson, J.B. Sweet, R.H. Gulden, S.J. Shirtliffe & A.G. Thomas, 2004.
 A model of pollen-mediated gene flow for oilseed rape. *Proceedings of The Royal Society of London Series B Biological Sciences* 271: 441-449.
- Warwick, S.I., M.-J. Simard, A. Légère, H.J. Beckie, L. Braun, B. Zhu, P. Mason, G. Séguin-Swartz & C.N. Stewart, 2003.
 Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) OE Schulz. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 528-539.
- Wiel, C. van de, 2004.
Botanical files 2003. Plant research International, Wageningen, Note 292.
- Wilkinson, M.J., L.J. Elliott, J. Allainguillaume, M.W. Shaw, C. Norris, R. Welters, M. Alexander, J. Sweet & D.C. Mason, 2003.
 Hybridization between *Brassica napus* and *B. rapa* on a national scale in the United Kingdom. *Science* 302: 457-459.

Bijlage I.

Tabellen

Tabel 1. Uitkruisingspercentages in relatie tot afstand voor mais (Zea mays) uit de literatuur, afstanden waaronder de drempelwaarden van 0,9, 0,3 en 0,1% bereikt worden zijn voor zover mogelijk apart weergegeven.

| Plaats | Bron | Receptor | Merker | <0.9% afstand | <0.3% afstand | <0.1% afstand | Vermenging complete veld | Bloeisynchroniciteit | Randrijen / barrières | Overig | Referentie |
|---|---|--|---|-----------------------------------|---------------|---------------|--|----------------------|--|--|--|
| Engeland: Evaluation FSE (Farm Scale proefvelden, 2000 – 2002 | 55 percelen 3,3 ha over 3 jaren | 55 percelen 3,3 ha next to bron over 2 years | trHT (LL) PCR | 24,4 m | 80 m | 257,7 m | 26 percelen >1% | | verwijdering eerste 80m: 2 percelen >1% | GG-DNA van 6'0 m naar <0.9% in 20m; max. 0.14% en 0.42% 200m, 0.14% (1 pos.) 650m perceelrand; perceel op 142m met braak ertussen: 0.1% en 0.026% 2m 0.06% (1 pos.) 50m; soms 'hot spots' op 100-150m (~0.4%) | Henry <i>et al.</i> , 2003 (FSE) |
| Z Frankrijk, 2002: velden in een normale teeltsituatie geselecteerd op nabijheid en synchrone bloei | 12 conventionele percelen 0.7-1.3 ha | 12 waxy percelen 0.6-12 ha/diepte 50-400 m/ front 55-250 m at 0.25 m | kleuren op conventionele korrels in 'waxy' (100% amylopectine) kolven | In rand 5m/6 rijen: 10-25 m | | | 0.00-0.72% | | verwijdering eerste 5 m: 0.07% lager over hele perceel | In rand 5m/6 rijen: 0.43-6.2%; max bron 6.3ha>0.6 ha op 0 m: randrijen 6.20%, gehele perceel 0.41% of bron 1.3ha>4.8 ha op 10m; randrijen 1.62%/gehele 0.72%; min 5.5ha>8 ha op 25m: rand 0.67%/gehele 0.11% | Fouellassar & Fabié, 2003 (Anvalis poster) |
| Frankrijk | 100x200 m (2 ha) | 100x200 m (2 ha) naast bron | Bt PCR | | | | 0.4% | | | | Benetrix, 2004 (FOECB) |
| | 200x114 m (2,3 ha) | 400x225 m (9 ha) om bron heen, 120m ervan beneden-winds | Bt PCR | 10 m | | | 0.4% | | | 1-2%, max 5% <10 m | |
| Spanje: Albacete | 23 ha | 23 ha naast bron | Bt PCR | 12 m | 90 m | 140 m | eerste 70 m >0.9%, eerste 140 m (5 ha) 0.54% | | verwijdering eerste 4 rijen: eerste 70 m <0.9% | 6.86% 1 m, 0.68% 12 m, 0.2% 90 m, 0.07% 140 m, 0.05% 340 m | IRTA/INIA/ITAP /CSIC/Monsan to/Pioneer H-bred/ Nickerson Sur, 2004 (Spanje) |

Vervolg Tabel 1.

| Plaats | Bron | Receptor | Merker | <0.9% afstand | <0.3% afstand | <0.1% afstand | Vermenging complete veld | Bloei-synchroniciteit | Randrijen / barrières | Overig | Referentie |
|---|---|--|--------------------|---|---------------|---------------|---------------------------|---|--|---|----------------------------|
| Spanje: Lérida | 50x50 m (0.25 ha) | 7,5 ha om bron heen | Bt PCR | | | | >5 ha beneden-winds <0.9% | | verwijdering eerste 4 (8 benedenwinds) rijen: <5ha <0.9% | | |
| Spanje: velden in een normale teeltsituatie geselecteerd op nabijheid | | | Bt PCR | Gemiddeld op rij 8 | | | | Zaaitijdstipverschil <2 wk: rij 1 13.82%, rij 8 0.99%, rij 16 0.82%; Zaaitijdstipverschil >2 wk: rij 1 0.55%, rij 8 0.6% | | gemiddeld: rij 1 10.03%, rij 8 0.9% | |
| Canada, Ontario, Ottawa, 2000-2002 | 27 x 27 m (0.073 ha, 36 rijen) | 1 ha om bron heen (48 rijen aan beide zijden bron) | Bt (+ geel in wit) | 28 m (rij 37) beneden winds, 10 m (rij 13) bovenwinds | | | | | | max 82% rij 1 | Ma <i>et al.</i> , 2004 |
| USA, Texas Agricultural Research Station | 7.8 (8 rijen) x 8 m Bt (75% Bt vanuit 2 ouders hemizyoot voor Bt) | 35 (36 rijen) x 8 m isogeen naast bron | Bt | | | | | | | 30-40(max 60)% op 1 m (rij 1), 10% op 8m (rij 8), 5% op 15.5m (rij 16), 1-3% op 31 m (rij 32) | Chilcutt & Tabashnik, 2004 |
| | 7.8 (8 rijen) x 8 m Bt (75% Bt vanuit 2 ouders hemizyoot voor Bt) | 28 (29 rijen) x 8 m isogeen op 15 m van bron | Bt | | | | | | | 20 (max 40%) op 15 m, 1-2% op 31 m | |
| USA, Colorado, 2002 | perceelgrootte onbekend | perceelgrootte onbekend | blauwe korrel | | 46 m | | | | | | Byrne <i>et al.</i> , 2003 |
| | perceelgrootte onbekend | perceelgrootte onbekend | HT | 46 m | | | | | | 46% op 0.8 m (3 ft), 0.23% op 46 m (150 ft), max afstand getest 305 m (1000 ft) 0.75% op 46m | |

Vervolg Tabel 1.

| Plaats | Bron | Receptor | Merker | <0.9% afstand | <0.3% afstand | <0.1% afstand | Vermenging complete veld | Bloei-synchroniciteit | Randrijen / barrières | Overig | Referentie |
|---|---|--|---|---------------|---------------|---------------|--------------------------|-----------------------|--|--|---------------------------|
| USA, Maine, Stillwater | 3454 m ² (0.35ha) heterozygote RR | 282 m ² (0.03 ha) op 30 m benedenwinds | tHT (RR) | | | | | | | 1999: 1% op 30m, 0.11 op 35 m, 0.03% op 40 m; 2000: 1.65% op 30 m, 0.86% op 35 m, 1.14% op 40 m | Jemison & Vayda, 2001 |
| | 3454 m ² (0.35 ha) heterozygote RR | 282 m ² (0.03 ha) op 350 m bovenwinds | | | | | | | | 1999: 0% op 350 m; 2000: 0.65 op 100 m, 1.04 op 105 m, 1.38 op 110 m (afwijkende wind in perceels-richting, maar lage bloei-synchroniciteit, resultaten verstoord door zaadvermenging) | |
| Mexico, Nayarit | 4000 m ² (0.4 ha) | 12.8 m ² plots (4 rijen van 4 m) | purperen blad-of zaadkleur | | | | | | | 1/plot op 100 en 150 m, max 200 m, geen op 300 m | Luna <i>et al.</i> , 2001 |
| USA, Oklahoma, Lake Blackwell nabij Stillwater, 1949-1950 | 125x400 m (25x80 rod, 5 ha) Yellow Surcropper | 125x150m (25x30rod, 0.075ha) Honey June op 25 m benedenwind s. helft met 2 rijen <i>Ulmus americana</i> 9-10.5 m hoog (30-35 ft) met ondergroei, de andere helft met 1 rij tussen bron en receptor | xenia: gele 'dent' korrel i.p.v. witte verschrompel de korrels van witte suikermals | | | | | | bomenrij minder effectief dan gelijk opp. gewas, reductie met 50% in eerste 10 rijen (10 m), op 25 m vergelijkbaar met 75 m isolatie afstand, achter rij 10 minder effectief (mogelijk meer pollen door barrière); inkruising in rij 1-10 (eerste 10 m) hoger met 2 bomenrijen (weg ertussenin) dan 1 bomenrij, rij 11-50: inkruising met 2 bomenrijen lager dan 1 rij, achter rij 50 (50 m) ongeveer gelijk | perceel achter bomenrijen vergeleken met kleine aparte plots zonder bomenrij, mogelijk dus niet representatief | Jones & Brooks, 1952 |

Vervolg Tabel 1.

| Plaats | Bron | Receptor | Merker | <0.9% afstand | <0.3% afstand | <0.1% afstand | Vermenging complete veld | Bloeisynchroniciteit | Randrijen / barrières | Overig | Referentie |
|---|---|---|--|---------------|---------------|---------------|--------------------------|----------------------|--------------------------------------|---|--------------------------------------|
| USA, Oklahoma, Lake Blackwell nabij Stillwater, 1947-1949 | 125x250 m (25x50 rod, 3.1 ha) Yellow Sucropper | plots 9.3 m ² (100 ft ²) Honey June benedenwinds | xenia: gele 'dent' korrel i.p.v. witte verschrompelde korrels van witte suikermajs | 300 m | 500 m | | | | | 29(18-35)% 0 m, 1.19(0.44-2.47)% 200 m, 0.48(0.15-0.99)% 300 m, 0.20(0.12-0.32)% 500 m (1947: warm+droog>inkruising laag voorbij 75 m/1948: regen + weinig wind>inkruising laagst/1949) | Jones & Brooks, 1950 |
| Engeland | 144 planten on 11 ft ² (1 m ²) | loodrecht op bron rij van synchroon bloeiende planten benedenwinds | gele korrel in witte mais | 16 m | 16 m | 52 m | | | op 50-75 m geen invloed van renrijen | 4.5% op 3 m (10ft), 0.9% op 16 m (53 ft), 0.2% op 52 m (170 ft) | Airy 1950 in Jugenheimer, 1976 |
| USSR, N. Kaukasus | 2 ha (5 acres) yellow corn | 10 ha (25 acres) white corn benedenwinds | xenia: gele 'dent' korrel i.p.v. witte verschrompelde korrels van witte suikermajs (30.000 seeds from 50 plants at each afstand) | 50-120 m | 30-700 m | | | | | 70% op 0.6 m (2ft), 1% op 15.8 m (52ft), bovenwinds 54% op 0.6 m (2ft), 1% op 12.2 m (40ft) | Bateman, 1947b |
| Nederland, Groningen, Noordlaren, 1936 | ongeveer 10 m ² Sanjunchi (blauw) | groter perceel NHM (gele korrel) later bloeiend dan bron | xenia: blauwe korrel (varia-bele kleur-intensiteit in kruisbestoven korrels) | 10 m | 15 m | 20 m | | | | 3.3% op 12 m, 0.33% op 50 m, 0.36% op 100 m, 0.25% op 150 m, 0.54% op 200 m, 0.02% op 400 m, 0.79% op 600 m, 0.21% op 800 m | Salamov 1940 in Jones & Brooks, 1950 |
| | | | | | | | | | | 7% 0-5m, 0.6% 5-10m, 0.2% 10-15m, <0.1% 15-20m; kolven hoger aan de plant hogere inkruising dan de lager behalve in randrij | Meijers, 1937 |

Afkortingen: *tHT*, *transgene herbicidetolerantie*; *LL*, *LibertyLink*; *RR*, *RoundupReady*.

Tabel 2. *Uitkruisingspercentages in relatie tot afstand voor koolzaad (Brassica napus) uit de literatuur, afstanden waaronder de drempelwaarden van 0.9, 0.3 en 0.1% bereikt worden zijn voor zover mogelijk apart weergegeven.*

| Plaats | Bron | Receptor | Marker | <0.9% distance | <0.3% distance | <0.1% distance | Vermenging complete perceel | Bloei-synchroniciteit | Overig | Referentie |
|--|---------------------------------|--------------------|--------|----------------|----------------|----------------|---|-----------------------|--|------------------------------------|
| Engeland heranalyse van Timmons <i>et al.</i> , 1995 | 0.8 ha | 0.8 ha (92x92 m) | HT | 2 m | 50 m | | | | Uitkruising gemiddeld: MS: 2 grootte>MF: veel minder gevoelig voor perceelgrootte en afstand; isolatie mogelijk met MF; insecteninvloed <1m (model ongevoelig voor insectverspreiding <7m), dus wind belangrijker over grotere afstand | Walklate <i>et al.</i> , 2004 |
| Engeland heranalyse van Scheffler <i>et al.</i> , 1993 | 0.0064 ha (cirkel doorsnede 9m) | 1.1 ha surrounding | HT | 1 m | 10 m | | | | VA (80% MS) gemiddeld: 20-40% 2m, 5-10% 100m MF | |
| VK/FR/AUSTRA/CAN /USA/DEN/ZWE | ~receptor | diepte tot 200 m | HT | 100 m | >100 m | | 0.2% | | 21.8% 0m; trHT>trHT: dubbel trHT >800m Meta-analyse 95% bovenste confidentielimiet: 1/3< bij 5m randrijen | Damgaard & Kjellsson, 2003 |
| Duitsland | RR | LL | HT | | >50 m | 50 m | | | 1.0m isolatie vermindert inkruising randplanten, niet in rest perceel, dubbel HT meest in rand tussen RR en LL HT-gewassen | Dietz-Pfeilstetter & Zwerger, 2003 |
| VK, Schotland Tayside | | | | | 100 m (0.01%) | | Gemiddeld over percelen: MF 0.01% 100m, <0.0001%10km | | | Ramsay <i>et al.</i> , 2003 |
| Australi landschapsschaal | 63 x 25-100 ha | 63 x 25-100 ha | HT | 1 km | 10 km | | Gemiddeld over percelen: VA 5% 100m, 1% 1km max. 0.197% (7 x >0.03%) | | MS planten 500-2000 m >11.1%(95%confidence8.1-14.7%, 10 MS planten); max. 26 km | Rieger <i>et al.</i> , 2002 |
| VK FSE (Farm Scale Evaluations)A | 10 ha zomer | 10 ha zomer | HT | 10 m gemiddeld | 200 m 0.2% | | | | 63% van percelen met inkruising | Eastham & Sweet, 2002 |
| VK FSE B | 10 ha zomer | 10 ha zomer | HT | 25 m | 200 m | | | | 1.2% op 5m 3.3% op 5m | |

Vervolg Tabel 2.

| Plaats | Bron | Receptor | Marker | <0.9% distance | <0.3% distance | <0.1% distance | Vermenging complete perceel | Bloeisynchroniciteit | Overig | Referentie |
|---|-------------------------------------|--|--|-----------------------|----------------|----------------|---|----------------------|--|-----------------------------------|
| W CAN | | | | | | | | | | |
| W CAN | | | | | | | | | | |
| CAN Manitoba, 1996/1997 (420000 zaailingen totaal getest) | 1,2 m om receptor heen | 3x1.2 m | HT | | | | | | 4% | Cuthbert & McVetty, 2001 |
| | 3m aan beide kanten van receptor | rij 3m | HT | | | | | | 9.5% 40 cm, 5.6% 80 cm, 3.9% 120 cm | |
| | 3x1.2 m om receptor heen | 1 plant | HT | | | | | | 21% | |
| Frankrijk, Dijon, 1998/1999 | 24x72 m | 6x18 - 24x18 m | HT | | | | 40% in eerste m | | 9.1% 0 cm, 5.6% 10 cm, 3.7% 30 cm, rasinvloed | Reboud, 2001 |
| | 24x54 m | 24x54 m, 0-12 m isolatie | | | | | % hoger indien isolatie gevormd door lege ruimte i.p.v. gewas | | % 1m = % 3-4 m | |
| | 24x60 m | 24x60m, 0-12 m isolatie | | | | | | | % 1m = % 3-4 m | |
| Canada, 1998 | perceel met RRHT in voorgaande jaar | perceel met LLHT naast bron en niet-GG imidazolinone verder weg in voorgaande jaar | diverse HT, ouders hybriden vastgesteld met RFLP | | | | Van 34 opslagplanten: 15 met nakomelingen 3/4 RR meest op korte afstand, echter 1 op 500 m; 9 van 9 LL nakomelingen met RR; 10 of 20 imidazolinone nakomelingen met RR; 2 van 924 (0.2%) nakomelingen 'stacked' (gestapeld) LL/RR/imidazolinone | | | Hall <i>et al.</i> , 2000 |
| Canada, Manitoba, Carman & Winnipeg, 1994/1995 | 30x60 m (0.18 ha) centrale plot | rand van 15-30 m rond bron | Htbromoxynil | gemiddeld 0.7% op 0 m | | 0.02% op 30 m | max. 1.56% op 0 m, geen significante variatie tussen jaren | | >80% eerste 10 m | Stanland <i>et al.</i> , 2000 |
| FR Bourgondië | ongeveer 1 ha | ongeveer 1 ha | HT | 30m (0.2-0.6%) | 20 m (0.2%) | 65 m (<0.01%) | | | dubbel trHT-opslagplanten: 1.6-4% 0m, about 2% 1m, 0.8-2.5% 5m, 0.6-1.8% 10m, 0.2% 20m | Champolivier <i>et al.</i> , 1999 |

Vervolg Tabel 2.

| Plaats | Bron | Receptor | Marker | <0.9% distance | <0.3% distance | <0.1% distance | Vermenging complete perceel | Bloei-synchroniciteit | Overig | Referentie |
|---|--|---------------------------------|--------------------------------------|-------------------|------------------|---|---|-----------------------|---|---------------------------------|
| VK veldproeven rassenlijst | 40 m ² | 40 m ² | HT | Cobra 8 m (0.33%) | Lipton 8m (0.16) | Capitol 8m, Apex 14-34m (0.05%), Synergy (VA 20/80) 34->150 m | | | variatie tussen rassen | Simpson <i>et al.</i> , 1999 |
| CAN, 1974,1977 | 65 ha | 46 m ² | Chlorofyl-deficiënte | | | | 2.1% 46 m, 1.1% 137 m, 0.6% 366 m | | | Downey, 1999 |
| CAN Alberta | groot | groot | HT | 100m (0.4%) | 20 m | | 0.16% | | 0.0% op 50m, 0.4% op 100m | Lavigne <i>et al.</i> , 1998 |
| VK, Essex, Cockle Park (CP) & Purley Farm (PF), 1992/3 & 1993/4 | 3m brede randen HEAR in vorm van kruis tussen 4 receptor plots | 10x10 m (0.01 ha) canola | HT (+ MS controle) | | | | | | kruisbestuiving 41% afgeleid; 50% binnen 3m vanuit individuele plant, dan via negatieve exponent van de afstand | Blisborrow <i>et al.</i> , 1998 |
| VK | geïsoleerd perceel van cv Bravo | geëmasculeerde cv Comet planten | ISSR, RAPD | | | | 0-9.9% per m ² random verspreid over plots, 3.7-4% van m ² subplots >2% op CP; 0-4.3% op PF; waarschijnlijkst door insecten | | | Timmons <i>et al.</i> , 1996 |
| VK | | | HT (controle Southern/ kleur assay) | | | | 6.3% (8/126) op 0 m, 0.5% (1/195) op 100 m, 3.7% op 360 m (5/135) | | 0.0156% op 200 m, 0.0038% op 400 m | Scheffler <i>et al.</i> , 1995 |
| VK | | | HT (+ pollen-vallen) | | | | | | zelf-fertielen kruisbestuivend 5/55%; vanuit grote percelen hoger dan verwacht | Timmons <i>et al.</i> , 1995 |
| USA | ruimte met 1GM plant (na ruimte met 4-6 niet-GG planten) | ruimte 4-6 niet-GG planten | HTLL | 5m (0.55%) | | | 91% GM op eerste 4 bloemen, geen na bloem 14 | | | Cresswell, 1994 |
| | Small | Small | Antibioticum tolerantie (Kanamycine) | | | | | | 1% 0.9m | Morris <i>et al.</i> , 1994 |

Vervolg Tabel 2.

| Plaats | Bron | Receptor | Marker | <0.9% distance | <0.3% distance | <0.1% distance | Vermenging complete perceel | Bloei-synchroniciteit | Overig | Referentie |
|--------------|------------------------------|--------------------|--------|-------------------------|-----------------|----------------|--|---|--|--------------------------------|
| VK | cirkel doorsnede 9m centraal | 1.1 ha rondom bron | HT | | | 12 m (0.016%) | | | kruisbestuivend 22/36%; 1.6% 1m | Scheffler <i>et al.</i> , 1993 |
| VK Cambridge | 0.8 ha | 0.8 ha (92x92 m) | | 5 m max. 40 m (0.6%) | 41 m (0.23%) | 81 m (0.12%) | 2-10ha: <1% 1.5m, <0.5% 10m, <0.1% >60m (normally >100m), VA Synergy <1% probably 100m | bloei lang, beste scheiding zomer-/wintervormen | groot aantal plots 0.8>0.8 ha Apex bijen schaars: 1.6% 1.5m, 0.86% 5m, 0.68% 1.5m, 0.23% 41m, 0.12% 81m, max 2.15% 1.5m & 0.6% 40m | |
| VK Cambridge | 0.8 ha | 0.8 ha (92x92 m) | | >91 m | | | | | 20/80 'varietal association' Synergy: 15.5% 1.5m, 5.1% 21m, 1.36% 91m (18*, 27*, 45*, resp., Apex) | |

Afkortingen: HEAR: hoog-erucazuur koolzaad; HT: transgene herbicidetolerantie (RR: RoundupReady, LL: LibertyLink); VA: varietal association (mengsel van mannelijk steriele (MS) en mannelijk fertiele planten (MF)); ISSR: Inter-Simple Sequence Repeat/RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA/RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (moleculaire merkermethoden).

Tabel 3. *Samenvatting van isolatiemaatregelen geadviseerd door de Deense Coëxistentiewerkgroep in een scenario van 50% GG-gewasteelt, zoals weergegeven in de samenvatting van Tolstrup et al. (2003).*

| Gewas | Isolatie-afstand | | Rotatie-interval | |
|--|------------------|--------------|------------------|------------|
| | Conventioneel * | Biologisch** | Conventioneel | Biologisch |
| Mais | 200 m | 300 m | n.v.t. | n.v.t. |
| Koolzaad (volledig fertiele zaadvaste rassen en hybriden) | 100 m | ? | 8 jr | ? |
| Koolzaad ('varietal associations' = mengsels van mannelijk-steriele en fertiele planten) | ? | ? | ? | ? |
| Suikerbiet | 50 m | 100 m | 3 jr | 5 jr |
| Aardappel | 20 m | 20 m | 3 jr | 4 jr |
| Aardappel pootgoedproductie | 20 m | 20 m | 4 jr | 5 jr |

*: max. vermenging in conventioneel 0.9% gebaseerd op toepassing van gecertificeerd zaad (<0.3% GG)

** : max. vermenging in biologisch 0.1% gebaseerd op toepassing van GG-vrij zaad (<0.1% GG)