

Voorstel voor een co-existentie- monitoringsprogramma t.b.v. het naast elkaar bestaan van genetisch gemodificeerde (GG) en niet-GG teelten in toekomstige praktijksituaties

2. Aardappel

C.C.M. van de Wiel¹, E.J. Kok³, I.M.J. Scholtens³, M.J.M. Smulders¹ en L.A.P. Lotz²

¹ Wageningen UR Plant Breeding
Postbus 386, 6700 AJ Wageningen

² Wageningen UR Agrosysteemkunde
Postbus 16, 6700 AA, Wageningen

³ RIKILT - Wageningen UR
Postbus 230, 6700 AE, Wageningen

Voorstel voor een Co-existentie monitoringsprogramma t.b.v. het naast elkaar bestaan van genetisch gemodificeerde (GG) en niet-GG teelten in toekomstige praktijksituaties. 2. Aardappel

C.C.M. van de Wiel¹, E.J. Kok³, I.M.J. Scholtens³, M.J.M. Smulders¹ en L.A.P. Lotz²

¹ Wageningen UR Plant Breeding
Postbus 386, 6700 AJ Wageningen

² Wageningen UR Agrosysteemkunde
Postbus 16, 6700 AA, Wageningen

Tel. +31 317 480556
E-mail bert.lotz@wur.nl

³ RIKILT - Wageningen UR
Postbus 230, 6700 AE, Wageningen

Wageningen UR Plant Breeding

Juni 2015

© 2015 Wageningen UR. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior written permission.

Wageningen UR is not responsible for any damage caused by using the content of this report.

Plant Breeding, part of Wageningen UR

Address : P.O.Box 386, 6700 AJ Wageningen, the Netherlands
: Wageningen Campus, Droevendaalsesteeg 1, Wageningen, the Netherlands
Tel. : +31 317 48 10 36
e-mail : plantbreeding@wur.nl
internet : www.wageningenur.nl/nl/Expertises-Dienstverlening/Wageningen-UR-Plant-Breeding-1.htm

Achtergrond

Ten behoeve van co-existentie van genetisch gemodificeerde (GG) en (bewust) niet-genetisch gemodificeerde primaire productie zijn maatregelen aanbevolen door de Commissie Co-existentie Primaire Sector ("Commissie van Dijk") in 2004, waaronder isolatieafstanden ter voorkoming van vermenging van niet-transgene percelen met transgenen boven een bepaalde drempelwaarde. Deze isolatieafstanden zijn vastgelegd in de Regeling Teelt¹. De Commissie Co-existentie Primaire Sector heeft aanbevolen een monitoring te verrichten tijdens de daadwerkelijke introductie van GG teelt om te evalueren of de maatregelen ook in de agrarische praktijk effectief zijn. Daarbij gaat het concreet om vast te stellen of er geen bovendrempelige vermenging heeft plaatsgevonden. Het gaat niet om controle en handhaving bij het nagaan of de maatregelen effectief zijn uitgevoerd.

Het Ministerie van EZ heeft Wageningen UR opdracht gegeven monitoringsprotocollen voor de gewassen maïs, aardappel en suikerbiet voor te stellen op basis van wetenschappelijke kennis over vermengingsroutes. De protocollen worden voorgesteld op basis van de navolgende doelstelling en randvoorwaarden. Doelstelling is een zo optimaal mogelijk beeld te krijgen van het al dan niet optreden van vermenging boven afgesproken drempelwaarden over het totale areaal op een kostenefficiënte manier. De concrete aanpak is in die zin pragmatisch van aard en dient geen wetenschappelijk onderzoeksdoel. De partijen die betrokken waren bij de afspraken omtrent co-existentie hebben bepaald dat de kosten van deze monitoring (inclusief bemonstering en analyse) deel uitmaken van de apparaatskosten van het restschadefonds (Kamerbrief over Stand van zaken co-existentie restschadefonds, 10 september 2008, DL. 2008/2234). Er wordt zodoende gestreefd naar representativiteit van de beoogde resultaten voor het hele areaal, maar om de uitvoeringskosten van een monitoringsprotocol proportioneel te houden wordt gekozen voor een focus op percelen in gebieden met de hoogste kans op mogelijke vermenging. Daarbij dient er bijzondere aandacht te zijn voor bijzondere teelten, d.w.z. bedrijven die zijn aangemerkt als 'risicovol' betreffende vervolgschade in de keten.

In dit rapport wordt een opzet voor een co-existentiemonitoringprogramma (CMP) voorgesteld voor aardappel. De elementen in dit CMP worden toegelicht en beredeneerd aan de hand van de recente stand van het onderzoek aan (trans)genverspreiding bij aardappel: de keuze van de te bemonsteren percelen op basis van de vastgestelde risicofactoren voor vermenging, de veldinspectie en bemonsteringsstrategie, de meetmethode en de kosten. Bij aardappel zijn de risico's van verspreiding door uitkruising niet alleen kleiner dan bijvoorbeeld bij de sterk uitkruisende windbestuiver maïs, maar de (trans)genverspreiding verloopt ook langs andere wegen. Bij aardappel wordt namelijk het directe product van uitkruising, het zaad, niet geoogst en vermenging kan dus alleen langs indirecte weg of door vermenging elders in de productieketen optreden, hoofdzakelijk via knollen.

¹ Staatscourant 2014 nr. 35163

Doel en opzet van het rapport

In dit rapport is in opdracht van het Ministerie EZ t.b.v. de bij de co-existentie betrokken partijen een voorstel gedaan voor een protocol voor het monitoren van co-existentie in aardappel, inclusief een beschrijving van de opties en de wetenschappelijke kennis die ten grondslag liggen aan de gemaakte keuzen. **Doel** van het monitoren van co-existentie is een zo optimaal mogelijk beeld te krijgen van het al dan niet optreden van vermenging boven afgesproken drempelwaarden over het totale aardappelareaal op een kostenefficiënte manier. Daarvoor dient te worden voldaan aan drie **randvoorwaarden**: 1) basisprincipe is het streven naar representativiteit van de beoogde resultaten voor het hele areaal, echter, 2) op basis van proportionaliteit t.a.v. de apparaatskosten van het Co-existentierestschadefonds dient de concrete aanpak zo pragmatisch mogelijk te zijn, en tenslotte, 3) dient er bijzondere aandacht te zijn voor bijzondere teelten (bedrijven aangemerkt als 'risicovol' betreffende vervolgschade in de keten in de Kamerbrief van 10 september 2008, DL. 2008/2234, en in de meest recente EC aanbeveling 2010/C 200/01), d.w.z. de als GGO-vrij gedefinieerde teelten (bijv. biologisch).

Het rapport is als volgt opgezet. Eerst wordt een voorstel voor een concreet co-existentiemonitoringprogramma (CMP) voor aardappel beschreven dat is aangepast aan de specifieke gewaseigenschappen van aardappel. De gemaakte keuzen t.b.v. een pragmatische invulling van het voorgestelde CMP worden in de opvolgende hoofdstukken toegelicht op basis van de huidige stand van zaken in het wetenschappelijk onderzoek aan (trans)genverspreiding in aardappel. Er is nog geen ervaring met een CMP in aardappel, noch is er een (Europese) standaard voor. Voor het bereiken van een zo pragmatisch mogelijke aanpak wordt zoveel mogelijk aangesloten bij al bestaande evaluatiepraktijken in de aardappelteelt. Dat betekent dat zoveel mogelijk aangesloten is bij de bestaande controlepraktijk zoals die uitgevoerd wordt door de NAK. Dat laat onverlet dat co-existentiemonitoring niet tot de staande praktijk van de NAK gerekend kan worden en dat nu ook nog niet vastligt dat de NAK deze monitoring inderdaad gaat doen. Praktische uitvoering hangt af van besluitvorming over de uiteindelijke invulling van de co-existentiemonitoring zodra GG aardappelteelt geïntroduceerd zou gaan worden.

Dankzegging

De auteurs spreken hun dank uit aan Marcel Puylaert en Miriam Kooman (NAK) voor commentariëring van het concept voorstel voor een protocol.

Inhoudsopgave

Achtergrond.....	5
Doel en opzet van het rapport	6
1. Voorgesteld protocol voor co-existentie-monitoring van aardappel	8
1.1 Mogelijke routes voor vermenging tussen verschillende aardappelteelten	8
2 Inleiding.....	16
3 Vereisten aan een CMP	18
4 Opzet Co-existentie-Monitoringsprogramma (CMP) in aardappel.....	20
4.1 Tijdstip selectie van percelen.....	21
4.2 Keuze van percelen	22
4.3 Te toetsen randvoorwaarden	23
4.4 Veldinspectie en bemonstering.....	24
5 Toelichting op de aanpak van het CMP	27
5.1 Ontwikkelingen in het wetenschappelijk onderzoek aan uitkruising bij aardappel sinds het rapport van de CCPS	27
5.2 Bemonsteringsstrategie.....	28
5.3 Kosten.....	28
6 Referenties	30
Appendix.....	32
i Bemonstering van bulkproducten	32
ii Kwantitatieve metingen van transgenen door real-time PCR.....	34
ii-1 Algemeen	34
ii-2 Specificaties van de meetbetrouwbaarheid.....	35
ii-3 Procedure	35
ii-4 Kosten	35

1. Voorgesteld protocol voor co-existentiemonitoring van aardappel²

1.1 Mogelijke routes voor vermenging tussen verschillende aardappelteelten

Mogelijke routes voor vermenging tussen verschillende aardappelteelten

Wanneer het om een co-existentiemonitoringprogramma (CMP) gaat, is mogelijke (trans)genverspreiding bij aardappel een complexer fenomeen dan bij een ander groot gewas met GG varianten, maïs, en daarom volgt hier eerst een korte toelichting op de mogelijke routes waarlangs vermenging tussen aardappelteelten op kan treden. De normale biologische route voor (trans)genvermenging tussen teelten is die via pollenverspreiding (uitkruising) d.m.v. wind en/of insecten. Bij aardappel is het directe product van uitkruising, het zaad, i.t.t. bijvoorbeeld maïs geen onderdeel van de oogst. In het eerste jaar van GG aardappelteelt kan er dan ook langs deze weg geen sprake van productvermenging zijn. Productvermenging kan alleen optreden in de loop van de tijd, d.w.z. in de eerstvolgende niet-GG aardappelteelt op hetzelfde perceel, waarbij twee routes onderscheiden kunnen worden:

1. Binnen perceel route

De belangrijkste mogelijke route bij aardappel is binnen een perceel waar in het eerste seizoen GG aardappelen geteeld zijn. Bij de oogst achtergebleven knollen op dit perceel kunnen in het navolgende teeltseizoen opslag geven en als deze door herhaalde opslag overleven tot in de volgende aardappelteelt, zou in de loop van de tijd vermenging tussen bij de oogst achtergebleven GG knollen en een eerstvolgende aardappelteelt op hetzelfde perceel kunnen optreden. Voor co-existentie zou dit alleen relevant zijn indien die eerstvolgende aardappelteelt een niet-GG variant betreft. De opslag is onderworpen aan de normale onkruidbestrijding in de andere teelten (en eventuele koude winters). Dit vermindert de kans op overleving tot in de volgende aardappelteelt, vooral in de ruimere rotaties (tenminste 1 op 3).

2. Tussen perceel route

Een andere mogelijke route zou in een niet-GG perceel met een naastliggend GG perceel kunnen optreden indien er uitkruising met dat naastliggende GG perceel plaatsvindt. Daartoe moet echter dat met GG aardappel uitgekruist zaad opkomen, die opgekomen planten moeten vervolgens knollen vormen en deze GG knollen moeten zich in de tussenliggende jaren van de gewasrotatie zodanig handhaven op het perceel dat ze in de oogst van die eerstvolgende niet-GG aardappelteelt terechtkomen.

² Het betreft hier een protocol op basis van de kennis over co-existentie bij aardappel op het moment van opstellen (2015). Tot aan het moment van toepassing na daadwerkelijke introductie van GG aardappelteelt kan tussentijdse aanpassing nodig zijn, indien specifiek van toepassing zijnde EU richtlijnen (zoals 2004/787/EG) of aanbevelingen (zoals 2010/C 200/01) veranderen of nieuwe verschijnen, of door nieuwe publicaties, bijv. best practice documenten vanuit ECoB (European Coexistence Bureau).

De kansen hierop worden erg klein geacht, aangezien gepubliceerde uitkruisingspercentages laag zijn en plantopslag uit zaad relatief zwak is (zwakker dan opslag uit knollen) en onderhevig aan de normale onkruidbestrijding gedurende de gewasrotatie³.

De twee mogelijke routes voor vermenging bij aardappel zijn weergegeven in Figuur 1 en worden voor snelle referentie in de begeleidende tekstbox samengevat. Meer details zijn te vinden in de hierna komende hoofdstukken.

Waarnemen van vermenging tussen verschillende aardappelteelten

Zoals hierboven aangegeven lijken de kansen op vermenging bij aardappel onder normale teeltomstandigheden gering, bijvoorbeeld in vergelijking tot maïs, zodat het belangrijk is een pragmatische en kosteneffectieve methode voor co-existentie monitoring toe te passen. Door de andere aard van de mogelijke vermengingsroutes is het daadwerkelijk waarnemen of vermenging heeft plaatsgevonden bij aardappel pas mogelijk na enige jaren, namelijk in de eerstvolgende aardappelteelt van de gewasrotatie; afhankelijk van de gewasrotatie kan dit van 2 jaar (zetmeelteelt) tot 6 of meer jaar (biologische teelt) uiteenlopen. Verder biedt de “binnenperceel route” relatief de hoogste kans op vermenging. Dat betekent dat de keuze van te bekijken perceel eigenlijk pas bij de eerstvolgende aardappelteelt gemaakt kan worden, omdat het namelijk afhangt van of er op dat moment een niet-GG aardappelteelt plaatsvindt in het oorspronkelijke GG perceel (zie Figuur 1). Een pragmatische benadering in een protocol voor een CMP zou kunnen zijn om zo efficiënt mogelijk waarnemingen te verzamelen in een steekproef van eerstvolgende aardappelteelten. Daarbij zou bespaard kunnen worden op het doen van waarnemingen in jaren voorafgaand aan de eerstvolgende teelt door ervoor te zorgen dat oorzaken voor een eventuele vermenging die in die eerdere jaren liggen gereconstrueerd kunnen worden uit de waarnemingen aan de eerstvolgende teelten. Echter, de Commissie Co-existentie Primaire Sector (CCPS, “Commissie Van Dijk”) gaf in haar advies van 2004 aan te gaan monitoren in de eerste drie jaar van commerciële GG teelt. Idealiter zal men zo vroeg mogelijk zicht willen krijgen op de effectiviteit van de maatregelen t.b.v. de co-existentie met niet-GG teelten, en niet pas wanneer er al jarenlang commerciële teelt heeft plaatsgevonden. Daarom wordt in het nu volgende protocol voorgesteld al vanaf het eerste jaar van introductie van GG teelt te beginnen met het doen van waarnemingen. In de eerdere jaren kan eventuele opslag namelijk al wel een indicatie geven over het mogelijke optreden van vermenging in eerstvolgende teelten. Om dit zo efficiënt mogelijk te doen zou men waarnemingen moeten verrichten aan knolopslag in de binnen perceel route en van zaailingen in de tussen perceel route (zie Figuur 1).

³ Om een idee te geven aan de hand van de hoogste gepubliceerde uitkruisingswaarden van ~2% op 3 m en ~0.02% op 10 m (McPartlan & Dale 1994): deze leiden tot een gemiddelde waarde van ongeveer 0.4% uitkruising in de eerste 7 m van een naastgelegen niet-GG veld, verderop daalt dat naar 0. Gemiddeld staan er in een aardappelteelt 40.000 planten per ha. Voor overschrijding van een drempelwaarde van 0,1% GG vermenging zouden er in de volgende aardappelteelt in principe meer dan 40 GG planten per ha moeten staan, en voor een drempelwaarde van 0,9% ligt de grens in principe bij 360 GG planten. Rekent men bij uit zaad afkomstige opslagplanten met een correctiefactor voor het geval dat 0,4% van deze opslagplanten product van uitkruising met GG is, dan zouden er 10.000 opslagplanten per ha moeten zijn om de drempel van 0,1% GG te bereiken, d.w.z. bij voorbeeld in de 7 m rand zone van het niet GG perceel 1 plant per m² (9 voor de 0,9% drempel). Dat komt alleen in beeld bij goede zaadzetting (beszetting) in combinatie met succesvolle opslag uit dat zaad (zie verder hoofdstuk 5) in een zeer ondiep perceel (de diepte van het perceel verdunt de uitkruising die voornamelijk in de rand plaats vindt).

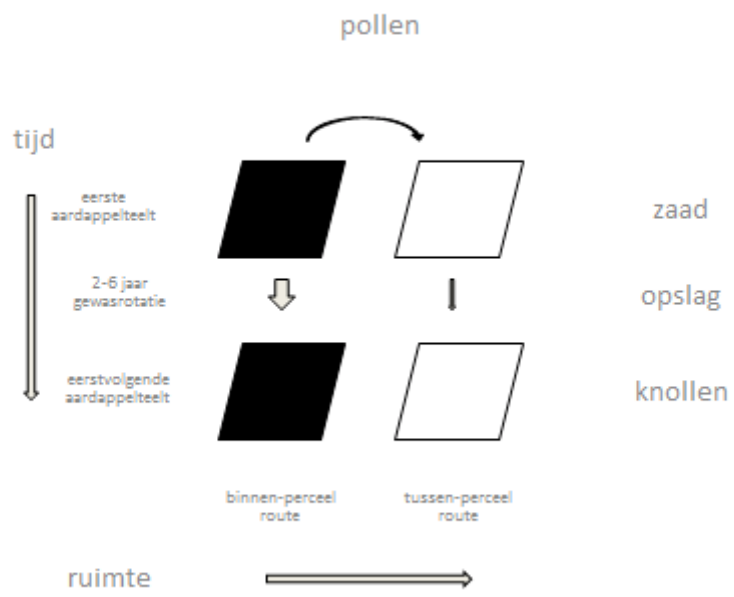
(Trans)genverspreidingsroutes bij aardappel

Bij aardappel zijn er in ruimtelijke zin voor co-existentïemonitoren twee mogelijke routes waarlangs in de loop der tijd vermenging op zou kunnen treden:

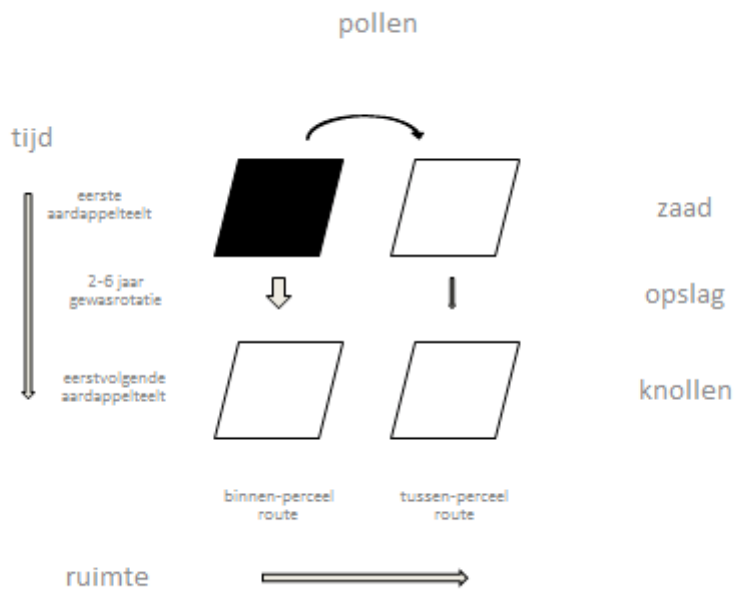
- "*Binnen-perceel route*": na een GG aardappelteelt wordt voor de eerstvolgende aardappelteelt van de gewasrotatie op hetzelfde perceel een niet-GG variant gekozen; vermenging is dan mogelijk door na de eerste teelt achtergebleven GG knollen wanneer die in principe elk tussenliggend jaar terugkeren als opslag met knolvorming.

- "*Tussen-perceel route*": een transgen kan vanuit een naastgelegen GG aardappelperceel door uitkruising in zaad terechtkomen op een niet-GG aardappelperceel en zou dan vervolgens via kieming van het met een transgen uitgekruiste zaad en daarop volgende plantontwikkeling met knolvorming en overleving gedurende één of meerdere jaren terecht kunnen komen in de eerstvolgende niet-GG aardappelteelt van de gewasrotatie (in het vervolg "eerstvolgende teelt" te noemen). Aangezien uitkruisingspercentages laag zijn en plantopslag uit zaad zwakker is dan opslag uit knollen, heeft deze route een erg kleine kans.

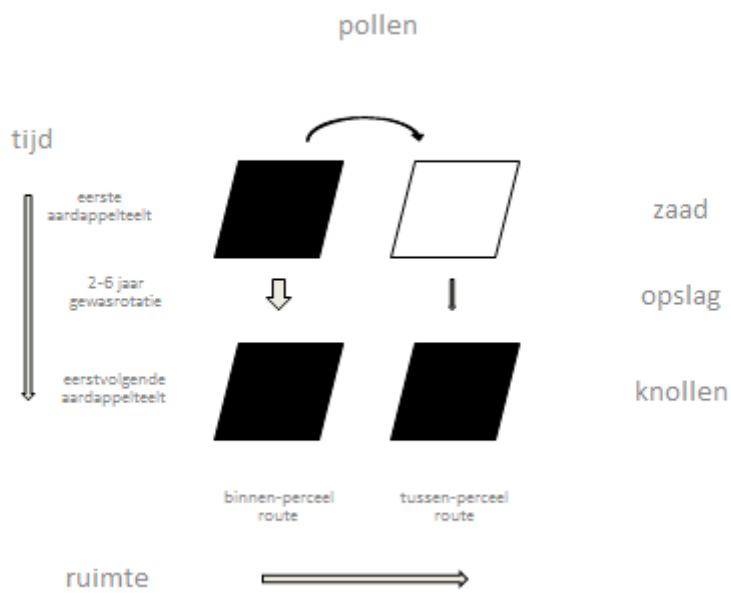
Voor beide gevallen geldt dat het al dan niet optreden van vermenging boven een bepaalde drempelwaarde pas op kan treden in de oogst van de opvolgende aardappelteelt na een GG teelt op of nabij het desbetreffende perceel.



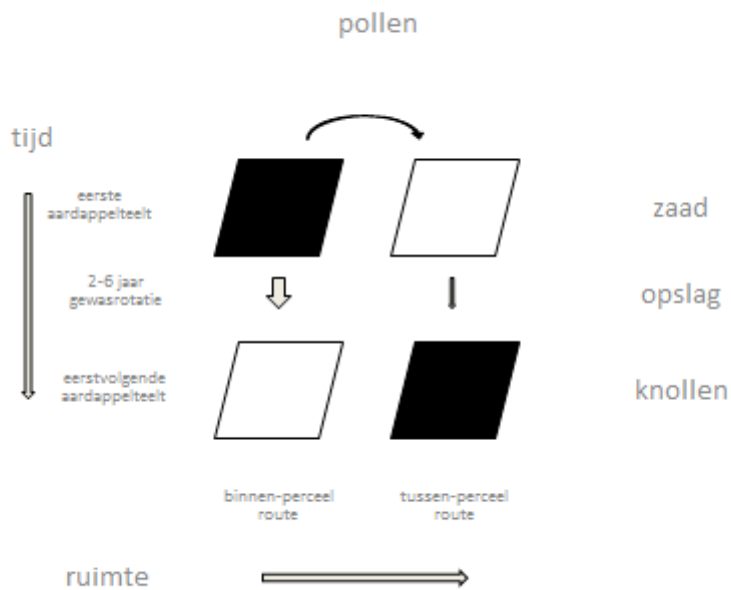
a



b



c



d

Figuur 1: Relatie tussen aardappelpercelen in ruimte en tijd bij een co-existentie monitoring programma. Legenda percelen: gevuld = GG teelt, open = niet-GG/GG-vrije teelt. Vier mogelijke verschillende opeenvolgingen van aardappelteelten met verschillende monitoringsbehoeften worden getoond: a) GG teelt gevolgd door GG teelt naast niet-GG teelt gevolgd door niet-GG teelt, monitoring van tussen perceel route; b) GG teelt gevolgd door niet-GG teelt naast niet-GG teelt gevolgd door niet-GG teelt, monitoring van binnen perceel route en tussen perceel route; c) GG teelt gevolgd door GG teelt naast niet-GG teelt gevolgd door GG teelt, geen monitoring; d) GG teelt gevolgd door niet-GG teelt naast niet-GG teelt gevolgd door GG teelt, monitoring van binnen perceel route.

Concreet dienen de volgende stappen genomen te worden:

- 1 *Selecteren te monitoren percelen na introductie van GG teelt.*
 - a. GG percelen worden geselecteerd uit het 'Register GGO-teelt' bij DR (Dienst Regelingen) vanaf 1 juni.
 - b. Naastliggende percelen binnen twee maal de maximale isolatieafstand (20 m). Om deze percelen te selecteren wordt gebruik gemaakt van perceelkaarten en adresgegevens van telers uit de Gecombineerde Opgave GDI ("metellingen") van DR, gecontroleerd door veldonderzoek ter plaatse (waarbij ook overige informatie verzameld wordt, zie onder 2).
 - c. Bij geleidelijke introductie is het totale aantal GG percelen waarschijnlijk laag genoeg, zodat binnen het beschikbare budget alle combinaties van een GG perceel met een geschikt als GG-vrij gedefinieerd/niet-GG perceel kunnen worden geselecteerd voor monitoring. Het voorstel is een maximum van 10 GG percelen aan te houden. Concreet worden dan per jaar alle combinaties van een GG en een als GG-vrij gedefinieerd/niet-GG perceel binnen 20 meter geselecteerd tot een maximum van tien t.b.v. monitoring. Zodra bij een meer grootschalige teelt van hogere aantallen combinaties GG en GG-vrij/niet-GG dan het geplande maximum van 10 sprake is (in principe vanaf ≥ 11 GG percelen), vindt een selectie van de perceelcombinaties plaats:
 - i. Alle GG percelen met GG-vrij gedefinieerde teelten binnen een afstand van 20 m. Bij aanwezigheid van zulke teelten binnen genoemde afstand van 20 m wordt voor elk GG perceel één bijhorend GG-vrij perceel meegenomen in de monitoring (tot een maximum van 10 zulke perceelcombinaties). Indien er binnen 20 m van een geselecteerd GG perceel meerdere GG-vrije percelen voorkomen, wordt voor monitoring één perceelcombinatie uitgekozen volgens de volgende criteria (tenzij alle combinaties meegenomen kunnen worden onder het bovenstaande criterium van maximaal 10 percelen):
 1. Het niet-GG perceel met de kortste afstand tot het GG perceel
 2. Indien meerdere percelen op gelijke afstand, de kleinste in oppervlak en/of het minst diepe perceel t.o.v. het GG perceel en/of degene die nog één of meerdere andere GG percelen binnen 20 m heeft liggen.
 - ii. Indien er minder dan 10 combinaties met als GG-vrij gedefinieerde teelten onder i) te vinden zijn, worden vervolgens combinaties van elk een GG perceel met een (gangbare) niet-GG teelt binnen een afstand van 20 m geselecteerd, tot in totaal het maximum van 10 perceelcombinaties bereikt is. Indien er binnen 20 m van een GG perceel meerdere niet-GG percelen voorkomen, wordt voor monitoring een perceelcombinatie uitgekozen volgens de volgende criteria:
 3. Het niet-GG perceel met de kortste afstand tot het GG perceel
 4. Indien meerdere percelen op gelijke afstand, de kleinste in oppervlak en/of het minst diepe perceel t.o.v. het GG perceel en/of degene die nog één of meerdere andere GG percelen binnen 20 m heeft liggen.
 - iii. Bij verdere keuze kan rekening gehouden worden met spreiding over verschillende teelttypen (en aardappelrassen). Bij het ontbreken van naastliggende niet-GG percelen kan gekozen worden voor het monitoren van GG percelen voor de binnen-perceel route.
- 2 *In eerste jaar uit te voeren acties.*
 - a. Toestemming vragen aan telers voor monitoring.
 - b. Vastleggen van geteelde rassen in de GG percelen en de geselecteerde niet-GG percelen.

- c. Optioneel: vaststellen aanwezigheid van GG in pootgoed. Niet-GG percelen inspecteren conform de aanpak door NAK Keurmeesters in de pootgoedteelt, d.w.z. controle op afwijkende planten binnen de rijen die wijzen op vermenging van het pootgoed of vermenging tussen aangrenzende percelen tijdens het poten (zie indicatie plantenaantallen onder 5).
- 3 *Monitoren van opslag in eerste twee tussenliggende jaren van gewasrotatie tot eerstvolgende aardappelteelt.*
Over de periode van een gewasrotatie tot aan een eerstvolgende aardappelteelt de geselecteerde percelen volgen op opslag conform aanpak NAK controleurs (rotatie doorgaans 1 op 3-4 conventioneel (1 op 2-3 bij zetmeelaardappelen) en 1 op 6 Biologisch). Bij een 1 op 2 rotatie wordt al de eerstvolgende teelt meegenomen indien niet-GG (zie onder punt 5).
- a. “Binnen perceel route”: Opslag inventariseren over het hele perceel.
b. “Tussen perceel route”: Opslag inventariseren in het perceelsdeel dat het dichtst bij het oorspronkelijke GG buurperceel ligt, te onderscheiden in zaad- of knolopslag.
- In geval van vermoeden dat niet aan de norm wordt voldaan (zie plantaantallen onder punt 5) worden 3 tellingen, elk op een oppervlakte van 1 are uitgevoerd, waarbij het aantal planten wordt vastgesteld. Uiterlijk en aard (bijv. zaadopslag) van de planten wordt zo goed mogelijk beschreven.
- 4 *Na drie jaar tussentijdse rapportage over waarnemingen aan opslag.*
De uitvoerder van de monitoring rapporteert de resultaten aan de financier van de monitoring en/of het Ministerie van EZ, met een aanbeveling voor al dan niet voortzetten van het CMP. Een indicatie voor beëindiging van de monitoring is het ontbreken van opslag of het optreden ervan beneden de drempelwaarden in de twee tussenliggende jaren van de gewasrotatie (zie 5 hieronder voor indicaties van aantallen planten).
Alleen indien het besluit genomen wordt tot voortzetten van het CMP, volgen uiteindelijk de stappen 5 en verder hieronder. Alleen bij een 1 op 2 rotatie kan al een eerstvolgende aardappelteelt meegenomen zijn (zie hierna, onder 5).
- 5 *Bij monitoring na drie jaar en eerder bij een 1 op 2 rotatie: Eerstvolgende aardappelteelt inspecteren.*
In de onder punt 3 en 4 geselecteerde combinaties van GG en GG-vrije/ niet-GG percelen worden waarnemingen verricht aan de eerstvolgende aardappelteelt indien deze een GG-vrije/niet-GG variant betreft.
- a. In een optimaal groeistadium percelen inspecteren conform de aanpak door NAK Keurmeesters in de pootgoedteelt, d.w.z. controle op afwijkende planten binnen de rijen en planten die daarbuiten vallen en daarmee minder waarschijnlijk tot de aanplant van dat jaar behoren⁴.
b. Bij het aantreffen van afwijkende (mogelijk transgene) planten dient gerapporteerd te worden aan de financier en/of het Ministerie van EZ, met een aanbeveling of er al dan niet bemonsterd zou moeten worden om de uiteindelijke aardappeloogst te testen op vermenging m.b.v. de real-time

⁴ Onderscheiding van afwijkende planten op uiterlijk zou problematisch kunnen zijn indien de betreffende aardappelteelt plaatsvindt met een iso-lijn van het transgene aardappelras op de mogelijke vermenging waarmee gemonitord wordt, bijv. GG Modena dat via transformatie van de transgene “gebeurtenis (event)” AV43-6-G7 van het conventionele Karnico afgeleid is. In geval van twijfel kunnen afwijkende/misplaatste planten getest worden op transgene gebeurtenissen; bij een amylopectineaardappel zoals Amflora of Modena zou dat zelfs al kunnen met een simpele kleurreactie op zetmeeltype.

qPCR methode conform EU standaarden, zoals hierna behandeld onder (6).

Indicatie voor aantal planten voor de “binnen perceel route”: 360 dan wel 40 planten per ha representeren drempelwaarden van 0,9%, resp. 0.1% van een gemiddelde van 40.000 planten per ha in een normale aardappelteelt, ervan uitgaande dat die in dit geval naar verwachting alle transgeen zijn. Voor tussen perceel route is een aanpassing van deze aantallen naar boven nodig, zie voetnoot 3 (pag. 9).

- 6 *Testen van aardappeloogst. Indien van toepassing volgens (5), eerstvolgende aardappelteelt tijdens oogst (afhankelijk van vroegheidstype juli-oktober) bemonsteren*
 - a. Conform de aanpak van bemonstering voor ziekte-toetsen door de NAK uit de oogstopslag, of eventueel door met regelmatige intervallen monsters te nemen uit de oogststroom, bijv. van de lopende band die bij verwerking gebruikt wordt, conform EU richtlijn 2004/787/EG (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?qid=1422363836814&uri=CELEX:32004H0787>).
 - b. Monsters verpakken en labelen voor overdracht aan analyselaboratorium.
 - c. GG gehalte in monsters kwantificeren met voor de toegelaten transgene “events” van toepassing zijnde real-time PCR methodes conform EU standaarden (RIKILT)⁵.

- 7 *Rapportage aan de financier van het CMP en/of Ministerie van EZ.*

⁵ De normale aantallen biologische eenheden voor transgenkwantificering (~300 voor een 1% detectielimiet en ~3.000 voor 0.1% detectielimiet met 95% betrouwbaarheid; ~1500 zaden standaard monstergrootte voor GG kwantificering in maïs) leiden bij aardappel tot een aanzienlijk moeilijker hanteerbaar monstervolume en gewicht dan bij zaden zoals maïs (3.000 aardappelen ~400 kg). Een mogelijkheid om dit hanteerbaarder te maken voor DNA extractie is gebruik te maken van monsterverwerking conform die voor ziekte-toetsen bij de NAK, d.w.z. van elke aardappel een klein submonster nemen en dat samenvoegen tot een monster voor DNA-extractie. Hierbij zijn monstereenheden van 200 aardappelen gebruikelijk, ook vanuit praktische overwegingen zoals hanteerbaarheid (tilgewicht). Voor de 0.9% drempelwaarde zou men dan aan de veilige kant zitten met twee monsters van 200 aardappelen samenvoegen tot één monster voor DNA extractie en qPCR conform de gevalideerde methode uit de EU ringtest. Een mogelijk alternatief is gebruik te maken van apparatuur uit de aardappelverwerkende industrie.

2 Inleiding

In 2003 kwam de Europese Commissie (EC) met een aanbeveling dat co-existentie van GG en niet-GG teelten geregeld zou moeten worden, zodanig dat keuzevrijheid voor telers zowel als voor consumenten gegarandeerd is (2003/556/EG). Het opstellen van maatregelen hiervoor is vervolgens aan de lidstaten overgelaten. Afhankelijk van plaatselijke omstandigheden dienen de lidstaten zorg te dragen dat alle teelten ook praktisch uitvoerbaar blijven onder de garantie van het in stand houden van een GG-vrije productieketen. Voor het definiëren van een GG-vrije productieketen wordt een drempelwaarde in acht genomen waarboven een product als GG-houdend gelabeld dient te worden. Op dit moment is de officieel door de EU gehanteerde drempelwaarde waarboven een product als GGO moet worden aangemerkt 0,9% (1829/2003/EG, <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?qid=1422356807641&uri=CELEX:32003R1829>). In 2007 is door de Europese Raad van Ministers de 0,9% drempel waarde ook van toepassing verklaard op de bewust niet-GG teelten, zoals de Biologische teelt. Vervolgens heeft in 2010 de EC een nieuwe aanbeveling (2010/C 200/01, <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=OJ:C:2010:200:TOC>) uitgebracht (waarmee 2003/556/EG herroepen werd), waarin de Lidstaten flexibiliteit wordt geboden m.b.t. aan te houden drempelwaardes in relatie tot te verwachten economische schade. Dit kan betekenen dat er geen reden voor extra maatregelen is voor het halen van een bepaalde drempelwaarde in het geval labeling als GG geen economische consequenties heeft. Voor als “GM-vrij” gedefinieerde teelten (bijv. Biologisch) kan het betekenen dat op economische gronden naar lagere drempelwaardes gestreefd wordt dan voor conventionele teelten, afhankelijk van lokale regelgeving en omstandigheden, en van consumentenverwachtingen, dit alles onder behoud van proportionaliteit t.a.v. lastenverhogingen voor andere telers.

Voor Nederland heeft de **Commissie Co-existentie Primaire Sector (CCPS)** onder voorzitterschap van de heer J. van Dijk, die de diverse belanghebbenden uit de primaire sector omvatte, in 2004 advies uitgebracht voor drie gewassen, te weten aardappel, suikerbiet en maïs (Rapport Commissie Co-existentie Primaire Sector, <https://zoek.officielebekendmakingen.nl/kst-29404-6-b1>). Behalve algemene aanbevelingen, zoals het tijdig aanmelden van GG teelten en het informeren van burens, is in het rapport van de CCPS specifiek voor aardappel aanbevolen een isolatieafstand van 3 m tot gangbare teelten en 10 m tot bewust niet-GG teelten (bijv. Biologische) in acht te nemen. Bij het vaststellen van deze afstanden is mede gebruik gemaakt van een aan het rapport van de CCPS toegevoegd literatuuroverzicht over uitkruising door Van de Wiel & Lotz (2004).

Om de co-existentieafspraken zeker te stellen heeft de CCPS ook aanbevolen om te gaan “*monitoren*” zodra door introductie van GG teelt reëel bestaande situaties van co-existentie zouden ontstaan. Risico’s op verspreiding door uitkruising zijn bij aardappel aanzienlijk kleiner dan bij maïs en de mogelijke (trans)genverspreiding verloopt ook langs andere wegen:

- Afstammelingen van na de oogst achtergebleven knollen zouden in latere aardappelteelten terecht kunnen komen, mits planten zich via jaarlijkse opslag weten te handhaven. Deze planten zijn echter onderhevig aan de normaal vereiste onkruidbestrijding.
- Aardappel is vooral zelfbestuivend, beperkte pollenverspreiding vindt over vrij korte afstanden plaats via insecten.
- Door uitkruising geproduceerd zaad wordt niet geoogst, maar kan in de bodem terecht komen en zou via opslag in latere jaren, mits gevolgd door knolvorming,

eventueel ook in latere aardappelteelten op hetzelfde perceel terecht kunnen komen. De kansen hierop worden erg klein geacht, aangezien waargenomen uitkruisingspercentages laag zijn (zie hoofdstuk 5) en plantopslag uit zaad relatief zwak is en onderhevig aan de normale onkruidbestrijding gedurende de gewasrotatie.

Ter onderbouwing van het voorgestelde protocol voor een co-existentie-monitoringsprogramma van aardappel en voor het inzichtelijk maken van de gemaakte keuzen hierbij wordt hier informatie besproken over de in dit verband van belang zijnde bijzondere kenmerken van dit gewas. In het navolgende wordt doelbewust de kale term “monitoring” vermeden, aangezien deze ook reeds gebruikt wordt i.v.m. het evalueren van biologische veiligheid van GG gewassen onder EU richtlijn 2001/18/EG. Als nauwkeuriger omschrijving zal daarom gesproken worden van **Co-existentie-MonitoringsProgramma (CMP)**.

3 Vereisten aan een CMP

In dit rapport wordt een monitoringsprotocol voorgesteld dat zo goed mogelijk aansluit bij het oorspronkelijk door de CCPS ("Commissie Van Dijk") geschetste kader voor de opzet van een CMP. Voor alle duidelijkheid wordt in het onderstaande kader de vereisten aan een dergelijk programma uit het Rapport van de CCPS geciteerd (Paragraaf 3.6). Bij het opstellen van het voorgestelde monitoringsprotocol is voor een pragmatische invalshoek gekozen. Doelstelling is namelijk een zo optimaal mogelijk beeld te krijgen van het al dan niet optreden van vermenging boven afgesproken drempelwaarden over het totale areaal op een kostenefficiënte manier. De concrete aanpak dient verder geen wetenschappelijk onderzoeksdoel. De partijen die betrokken waren bij de afspraken omtrent co-existentie hebben bepaald dat de kosten van deze monitoring (inclusief bemonstering en analyse) deel uitmaken van de apparaatskosten van het restschadefonds (Kamerbrief over Stand van zaken co-existentie restschadefonds, 10 september 2008, DL. 2008/2234). Het combineren van een wetenschappelijk verantwoorde onderzoeks aanpak met voldoende kosteneffectiviteit is leidend in dit rapport, waarbij ook de aanbevelingen van de CCPS specifiek besproken worden.

Coëxistentie monitoring (uit CCPS "Commissie Van Dijk" rapport, 3.6)

Monitoring van de coëxistentiemaatregelen heeft tot doel de effectiviteit van de maatregelen, te toetsen om deze indien nodig te kunnen bijstellen⁹.

3.6.1 Principe van monitoring

Monitoring van de coëxistentie maatregelen vereist

- Vaststellen zuiverheid uitgangsmateriaal (beginsituatie)
- Vaststellen welke coëxistentie maatregelen zijn uitgevoerd (controle naleving)
- Vaststellen wat het totaaleffect is van de maatregelen; eventuele vermenging in het geogoste product meten (eindsituatie)

Indien het gewenste resultaat is bereikt (geen extra vermenging) kunnen de maatregelen behouden worden of na verloop van tijd worden versoepeld.

Indien onbedoeld toch vermenging is opgetreden is het noodzakelijk na te gaan of de oorzaak kan worden vastgesteld. Bijvoorbeeld:

- via onzuiver uitgangsmateriaal
- via uitkruising; de isolatieafstanden en/of bufferzones zijn onvoldoende groot
- via versleping; tijdens teelt, oogst, transport of opslag van het product of door opslagplanten

Wanneer de oorzaak van vermenging is vastgesteld wordt(en) de betreffende maatregel(en) aangepast.

3.6.2 Protocol voor monitoring

Voor het protocol voor monitoring doet de commissie onderstaande aanbevelingen.

Daarnaast verwijzen we naar het memo van VROM over monsternamen en detectie (bijlage 8).

a) Tijdstip monsternamen

Zowel vóór, tijdens, als na de teelt dienen monsters genomen te worden.

⁹ Dit is iets anders dan controle en handhaving waarbij wordt nagegaan of de maatregelen naar behoren zijn uitgevoerd.

Het tijdstip van monsternamen bouwt op dit moment genoeg waarborgen in dat monitoring op een juiste manier plaatsvindt. Ook kan beter worden nagegaan wat de mogelijke oorzaak is van vermenging.

b) Detectie/analyse

Om de kosten van de analyses zoveel mogelijk in te perken wordt geadviseerd om eerst het geogste product te analyseren. Indien uit analyse van het geogste product blijkt dat ongewenste vermenging is opgetreden, kunnen de overige monsters geanalyseerd worden om zo de oorzaak van de vermenging vast te stellen.

c) Frequentie

In de introductiefase (3 jaar) van de ggo teelt frequent monitoren en controleren (een representatieve steekproef). De frequentie kan afnemen als blijkt dat de maatregelen het gewenste effect hebben.

d) Rapportage

De resultaten van de monitoring worden jaarlijks gerapporteerd aan de betrokken partijen.

e) Consequenties van de uitkomst

Indien nodig worden de coëxistentiemaatregelen bijgesteld.

4 Opzet Co-existentie-Monitoringsprogramma (CMP) in aardappel

Hieronder worden de diverse mogelijke stappen voor een CMP protocol geïnterpreteerd aan de hand van de (trans)genverspreidingsroutes in aardappel en wordt bediscussieerd hoe of in welke mate ze aanbevolen worden in het uiteindelijk voorgestelde protocol dat hierboven beschreven is. Het gaat om de keuze van te bemonsteren percelen, te testen randvoorwaarden zoals pootgoedzuiverheid, en de veldinspectie- en bemonsteringsstrategie.

Vermenging in het veld is bij aardappel een ander verhaal dan bij bijvoorbeeld maïs. Daarom wordt hier als achtergrond voor het navolgende eerst nog kort op een rij gezet langs welke weg vermenging bij aardappel op kan treden en welke rol uitkruising hierbij speelt (zie ook Figuur 1):

- Uitkruising tussen in elkaars nabijheid gelegen percelen leidt slechts tot zaad dat geen onderdeel van het geoogste product (de aardappel) vormt en dus als zodanig geen bron van vermenging in deze oogst oplevert.
- Dit zaad kan wel onderdeel van de zaadbank van het perceel worden en als zodanig gedurende meerdere jaren overleven.
- Het uitgekruiste zaad zou vervolgens als bron voor vermenging in een opvolgende aardappelteelt in de gewasrotatie op hetzelfde perceel kunnen fungeren, maar alleen als aan de volgende voorwaarden wordt voldaan:
 - Na kieming dient de plant ver genoeg uit te groeien om zelf weer knollen te vormen.
 - Deze knollen hebben vooral een kans om te overleven tot ze in de oogst van een opvolgende aardappelteelt in de gewasrotatie meegenomen zouden kunnen worden, als ze in tussenliggende groeiseizoenen weer uitlopen (als onkruid in andere tussenliggende teelten zoals bijv. tarwe of suikerbiet) en verse knollen van voldoende grootte vormen. De kansen hierop worden erg klein geacht, aangezien waargenomen uitkruisingspercentages laag zijn (zie hoofdstuk 5) en plantopslag uit zaad relatief zwak is en onderhevig aan de normale onkruidbestrijding gedurende de gewasrotatie.
- Belangrijkere mogelijke route bij aardappel loopt via achtergebleven knollen uit een eerdere teelt: in principe is de verwachting dat alleen door herhaalde opslag (uitgroeien tot volwassen planten die weer zelf knollen vormen) ze een kans hebben het te brengen tot een volgende aardappelteelt in de gewasrotatie. Ook deze planten zijn onderhevig aan de normale onkruidbestrijding.

Om verwarring te vermijden zal in het navolgende zoveel mogelijk systematisch van “eerstvolgende teelt” gesproken worden als het om de teelt gaat waarin vermenging in de knollenoogst zou kunnen optreden langs de bovengenoemde routes. Ter onderscheiding wordt voor de oorspronkelijke situatie waarin de basis voor een eventuele vermenging gelegd kan zijn zoveel mogelijk van “eerste teelt” gesproken. Een eerste teelt kan betrekking hebben op een GG teelt op hetzelfde perceel of op een niet-GG aardappelteelt naast een GG teelt (zie Figuur 1).

Op grond van bestaande kennis lijkt de kans op vermenging bij aardappel gering, d.w.z. knollen moeten via herhaalde opslag meerdere seizoenen van bestrijding en winters overleven om in de eerstvolgende aardappeloogst te eindigen (zie hoofdstuk 5 voor details en referenties). Daarbij dient verder bedacht te worden dat bestrijding van aardappelopslag gedurende de gewasrotatie tot de normale teeltpraktijk hoort, niet

alleen vanuit het oogpunt van onkruidbestrijding, maar ook i.v.m. fytosanitaire regels (tegenaan van *Phytophthora*, Coloradokever e.d.); m.a.w. of aardappelopslag nu al dan niet transgeen is en los van de vraag over de herkomst van eventuele transgene opslag, hoort voor een teler aardappelopslagbestrijding op zijn perceel bij de Goede Landbouwpraktijk (GAP). Een co-existentie monitoringplan waarin alle aspecten van (trans)genverspreiding in detail over alle jaren van een gewasrotatie gevolgd zouden worden, zou relatief complex worden en hogere kosten met zich meebrengen dan bijvoorbeeld een gewas als maïs waar de kansen op vermenging via windbestuiving in principe hoger liggen en waar tegelijkertijd een beperkter aantal benodigde aspecten in één groeiseizoen bekeken kan worden. Op pragmatische gronden kunnen de volgende prioriteiten gesteld worden:

1. In een meest basale opzet zou men zich kunnen beperken tot veldinspecties van de voor co-existentie direct relevante teelt en oogst (namelijk de eerstvolgende teelt), inclusief eventuele bemonstering op aanwezigheid van transgen(en). Dit zou echter betekenen dat pas na verloop van een complete gewasrotatie tot aan die eerstvolgende aardappelteelt duidelijkheid over het optreden van vermenging verkregen zou worden. In de praktijk kan dat oplopen tot wel zes jaar in het geval van een biologische rotatie. Men zal idealiter echter al in de eerste jaren van commerciële GG teelt zicht op de effectiviteit van co-existentie maatregelen wensen te verwerven en dan is het geboden om:
2. In de eerste jaren waarnemingen aan opslag te verrichten, zodat na drie jaar een eerste indicatie van kansen op vermenging verkregen kan worden, waarover aan betrokken partijen gerapporteerd kan worden, zoals indertijd voorgesteld door de CCPS (“Cie van Dijk”).

De langs deze lijn voorgestelde opzet van het hiervoor beschreven protocol zal hierna eerst toegelicht worden en gelegd worden naast de aanbevelingen van de CCPS (“Cie van Dijk”, zie hoofdstuk 2). Vervolgens zullen de mogelijke uitgebreidere varianten behandeld worden. Een nadere toelichting op wetenschappelijke achtergronden wordt in het volgende hoofdstuk 5 gegeven.

4.1 Tijdstip selectie van percelen

GG percelen kunnen 30 dagen na aanvang van de teelt geselecteerd worden, aangezien vanaf dat moment de teler volgens de geldende regelgeving (artikel 12 van het Besluit GGO) alle GG percelen moet hebben aangemeld en deze GG percelen vervolgens openbaar worden gemaakt in een centraal register (http://www2.hetInVloket.nl/Kaarten_VROM/index.html). De meest uitgebreide inventarisatie van omliggende gewaspercelen die in aanmerking komen voor een CMP is mogelijk met de gegevens uit de Gecombineerde opgave aan de Dienst Regelingen (DR) die tussen 1 april en 15 mei plaatsvindt (de zogenaamde “meitellingen”). Op basis van deze databronnen zou in juni een GG perceelselectie inclusief de naastliggende aardappelteelten kunnen worden uitgevoerd. Deze perceelselectie zou meteen ook gecontroleerd kunnen worden via een eigen veldinspectie, die dan tegelijk gecombineerd kan worden met vragen van toestemming voor perceelbezoek aan de betrokken telers en de overige te verrichten waarnemingen (zie hieronder). Veldinspectie zou ook eventueel het niet op tijd voor de uit te voeren waarnemingen beschikbaar komen van de perceelgegevens kunnen ondervangen. Een beperking van het gebruik van de “meitellingen” is het niet kunnen monitoren vanaf de start van de teelten (zie verder hieronder, 4.3), d.w.z. de pootfase.

Conclusie voor het protocol

In aanmerking komende combinaties van GG en niet-GG/GG-vrije percelen worden zo spoedig mogelijk na 1 juni geïnventariseerd, zo veel mogelijk aan de hand van de “meitellingen”.

4.2 Keuze van percelen

De voorgestelde keuze van percelen hangt met een aantal factoren samen:

1. Het introductiescenario van de desbetreffende GG teelt. Bij een bescheiden start is het voorstelbaar dat alle percelen in de directe nabijheid van een GG perceel eventueel bemonsterd kunnen worden; bij een snelle opbouw zoals in Noord-Amerika bij bijv. de introductie van herbicide-tolerante (HT) GG gewassen heeft plaatsgevonden zou een keuze gemaakt moeten worden teneinde kosteneffectief te blijven. Bij introductie van GG varianten in aardappel zal overigens eerst pootgoedteelt plaatsvinden, zodat de teelt in eerste instantie kleinschaliger zal zijn.
2. Of het een (conventioneel) niet-GG dan wel een GG-vrij (Biologisch) perceel betreft, maakt in ruimtelijke zin voor aardappel minder uit dan voor bijvoorbeeld maïs met de verder reikende pollenspreiding via de wind: in beide gevallen worden in absolute zin lage isolatieafstanden gehanteerd, 3 dan wel 10 m. De voor co-existentiemonitoring in aanmerking komende percelen zullen dan ook direct naast elkaar gelegen of alleen door lijnvormige elementen gescheiden GG en niet-GG percelen zijn. Aangezien de kans op uitkruising en de afstand waarover dit plaatsvindt bij aardappel erg klein zijn en het hier ook om het optimaal ruimtelijk scheiden van pootactiviteiten gaat, zou in principe volstaan kunnen worden met het selecteren van percelen die binnen 10 m van elkaar liggen. Om een redelijke keuze van GG-vrije percelen mogelijk te kunnen maken lijkt het aan te bevelen dit uit te breiden naar twee keer de afstand, 20 m, zoals ook bij maïs en suikerbiet gedaan is. Volgens deze criteria worden uitgaande van kosteneffectiviteit voornamelijk niet-GG/GG-vrije percelen bekeken met de relatief grootste kans op vermenging. Dat betekent wel dat er dus in strikt wetenschappelijk-statistische zin geen volledig representatieve meting gedaan wordt, laat staan een nul(achtergrond)meting van het conventionele areaal, d.w.z. het random bemonsteren van alle conventionele teelten los van de aanwezigheid van GG teelten in de directe omgeving. Voor een pragmatisch en kosteneffectief monitoren van de co-existentiepraktijk lijkt het echter het meest effectief de percelen met de relatief grootste kans op vermenging te volgen.
3. Naast dit ruimtelijke aspect is er in tegenstelling tot de situatie bij bijvoorbeeld maïs met pollenspreiding tussen percelen als enige vermengingsbron in Nederland, bij aardappel een tijdsaspect: vermenging kan pas optreden in de eerstvolgende teelt, wanneer transgene knollen erin slagen de gewasrotatie te overleven. Dit betekent dat er op hetzelfde perceel eigenlijk alleen aanleiding voor monitoring is indien een niet-GG ras in de gewasrotatie volgt op een GG ras. In hoeverre deze laatste situatie van belang zal zijn is de vraag, aangezien men na introductie van GG teelt met enige waarschijnlijkheid GG rassen op hetzelfde perceel zal blijven telen, bijvoorbeeld in de zetmeelteelt. In de zetmeelteelt wordt overigens nog regelmatig een relatief strakke gewasrotatie van 1 op 2 gevolgd, waarbij de kans op overleving van opslagknollen uit de voorgaande teelt groter is dan bij consumptieteelten die van 1 op 3 (gangbaar) tot 1 op 6 (Biologisch) kunnen variëren. Voor een CMP dient dus de relatie tussen GG en niet-GG percelen over de jaren heen tenminste administratief bijgehouden te worden bij het plannen van de co-existentiemonitoringactiviteiten, d.w.z. de geteelde gewassen van jaar op jaar (vgl. Figuur 1).
4. De stand van zaken in het wetenschappelijke onderzoek aan uitkruising en vermenging in aardappel (zie hoofdstuk 5).

Conclusie voor het protocol

Afhankelijk van het aantal voorkomende combinaties van naburige GG en niet-GG aardappelpercelen wordt een inperking gemaakt door te kiezen voor direct naast elkaar

liggende combinaties, met prioriteit voor GG-vrije teelten (d.w.z. voor een bewust niet-GG markt) tot op 20 m van een GG perceel.

4.3 Te toetsen randvoorwaarden

Om oorzaken van ongewenste vermenging in praktijkpercelen vast te kunnen stellen heeft de CCPS ("Cie van Dijk") een aantal aanbevelingen gedaan (zie hoofdstuk 3):

- a. Het GG gehalte van het pootgoed voor de te toetsen velden dient vastgesteld te worden.

De zorgvuldige manier waarop pootgoed vermeerderd en geteeld wordt onder toezicht van de NAK garandeert al een bijzonder lage kans op vermenging. Daarbij komt dat moeilijk volledig te vermijden aspecten van uitkruising, zoals bij windbestuivers (maïs), geen rol spelen bij het tot stand komen van pootgoed dat immers uit aardappelknollen en niet uit dito zaden bestaat. Deze toets lijkt dan ook een minder hoge urgentie te hebben.

- b. Er moet gecontroleerd worden op de mogelijkheid van vermenging tijdens het poten doordat de pootmachinerie niet gescheiden is gehouden tussen GG en niet-GG velden, of tussendoor niet goed is schoongemaakt.

Gezien de grootte van de knollen zal vermenging via machinerie makkelijker gecontroleerd kunnen worden en dus minder waarschijnlijk zijn dan bij zaaizaad. Niettemin zou voor extra robuustheid van het protocol deze weg steekproefsgewijs geëvalueerd kunnen worden. Een indicatie voor het optreden van enigerlei vermenging i.v.m. beide hier genoemde punten kan verkregen worden door een veldinspectie te doen conform de aanpak door NAK Keurmeesters in de pootgoedteelt, d.w.z. controle op afwijkende planten binnen de rijen. Daarbij kan ook gekeken worden naar afwijkingen in de randrij die het dichtst langs het GG perceel ligt. Dit kan efficiënt gecombineerd worden met het overige veldwerk van controleren op de aanwezigheid van de relevante aardappelpercelen en vragen van toestemming voor monitoring (3.1) en het inventariseren van de gebruikte aardappelrassen.

- c. Er dient gemonitord te worden in de eerste drie jaren na introductie van commerciële GG teelt.

Vanwege de noodzaak bij aardappel tenminste één gewasrotatie te volgen om uiteindelijke vermenging in een oogst vast te kunnen stellen zou een CMP voor aardappel tenminste zes jaar beslaan in het licht van de lange rotaties in de biologische teelt. Zoals al in de inleiding van dit hoofdstuk aangegeven, zal er anderzijds juist in de eerste jaren van de opbouw van de GG teelt behoefte bestaan aan inzicht over de effectiviteit van de co-existentiemaatregelen. Om die reden gaat het voorgestelde protocol in eerste instantie uit van veldinspecties op opslag in de eerste drie jaar. Aan de hand van de rapportage daarover kunnen beslissingen worden genomen over volgende stappen in latere jaren, i.h.b. de inspectie van de eerstvolgende aardappelteelten. Zie verder hieronder.

- d. Wat betreft inspecties/bemonsteringen zijn tijdstippen "voor, *tijdens* en na de teelt" aangegeven.

Bij een pragmatische aanpak zou inspectie en monsternamen van de eerstvolgende teelt in de gewasrotatie op een zodanige wijze moeten worden uitgevoerd dat zo goed mogelijk oorzaken van eventuele vermenging onderscheiden kunnen worden, zonder onnodige kostenverhogende handelingen. Voor de eerste zowel als de eerstvolgende teelt geldt dat monsternamen voor de teelt in feite al goeddeels wordt gedekt door regelingen betreffende het pootgoed en een eerste veldinspectie (zie punt 2 hierboven). Bij aardappel moet voor alle teelten monsternamen zowel *tijdens* als na de teelt als minder praktisch aangemerkt worden vanwege veel te verwerken volumes en daaraan gerelateerd hoge kosten. Eén van beide waarnemingsmomenten zou in principe moeten voldoen om ook oorzaken van eventuele vermenging te reconstrueren en men kan dan het beste opteren voor resultaten die het meest representatief zijn voor het uiteindelijke geogste product, dus gedurende of na de normale oogst. Waar bij

aardappel wel *tijdens* de eerstvolgende teelt winst in de zin van kostenefficiëntie valt te behalen is veldinspectie op afwijkende planten, d.w.z.. potentiële producten van vermenging. Een dergelijke inspectie analoog aan pootgoedkeuring zou in principe bemonstering kunnen vervangen, tenzij daadwerkelijk afwijkers geconstateerd worden. Vastleggen van de geteelde rassen in de eerste teelt zal behulpzaam zijn bij reconstructie van oorzaken van eventueel waargenomen vermenging. Zie verder hieronder, 4.4.

Conclusies voor protocol

Voor het gewas aardappel kan gezien de relatief lage kansen op vermenging controle hierop, hetzij vanuit het pootgoed dan wel tijdens het poten, gecombineerd worden in een veldinspectie van het gewas in juni. Aan de eis van monitoring gedurende de eerste drie jaar kan voldaan worden door veldinspecties op opslag en tussentijdse rapportage. Op grond van evaluatie van die rapportage kan besloten worden tot verdere stappen, waaronder inspectie en bemonstering van de eerstvolgende aardappelteelten. Het is aan te bevelen de geteelde rassen in zowel GG als niet-GG/GG-vrije percelen vast te leggen. Zie voor de uitwerking verder hieronder.

4.4 Veldinspectie en bemonstering

Gezien de tijdsaspecten van vermenging tussen aardappelteelten vereisen de inspectiemomenten en tijdstippen van eventuele monsternamen een uitgebreidere afweging dan bijvoorbeeld bij maïs waar kwantificering van uitgekruiste zaden (korrels) volstaat. In principe strekt een bemonsteringsprogramma voor een CMP aan aardappel zich namelijk over opeenvolgende aardappelteelten in een gewasrotatie uit. Voor mogelijke vermenging gaat het om de oogst van de eerstvolgende niet-GG teelt. Voor een eventuele monsternamen ligt de primaire focus op deze oogst zelf. Relevant voor vermenging is namelijk uitsluitend wat wordt aangetroffen in daadwerkelijk bij het oogsten opgediepte knollen. De kansen op het daadwerkelijk aantreffen van vermengingen worden echter bepaald door de ontwikkelingen in opslag van GG planten in de voorgaande jaren en in de eerstvolgende niet-GG aardappelteelt zelf en die kunnen in principe door veldinspecties relatief kostenefficiënter gevolgd worden dan door bemonstering en GG analyse.

Zoals in het voorgaande hoofdstuk al aangegeven kunnen om zo spoedig mogelijk zicht op de effectiviteit van co-existentiemaatregelen te krijgen in de eerste drie jaar veldinspecties op opslag plaatsvinden:

- 1) **Persistentie van GG aardappelopslag tot in een volgende niet-GG teelt op hetzelfde perceel:** Voor het inventariseren van aardappelopslag i.v.m. co-existentie bestaan geen EU standaardmethoden. Er is echter al een verordening voor het tegengaan van opslag i.v.m. de bestrijding van *Phytophthora*, waarbij maximaal toegestane hoeveelheden opslag zijn aangegeven. Het inventariseren van de opslag van aardappelplanten dient te geschieden na de laatste standaard onkruidbestrijding in het gewas, na 1 juli volgens fytosanitaire richtlijnen (sinds 2015 opgenomen in de Plantenziektenwet). Hierop wordt gecontroleerd door de NAK, en een pragmatische benadering zou dan ook kunnen zijn om de voor een CMP geselecteerde percelen mee te nemen in een standaardcontrole op opslag door de NAK. Daarbij dient bedacht te worden dat richtlijnen een maximum van gemiddeld 2 opslagplanten per m² toelaten alvorens verbodsbepalingen in werking treden. Dat betekent 20.000 planten per ha, waar een doorsnee aardappelteelt er 40.000 heeft, m.a.w. een aantal dat potentieel relevant is voor vermenging. Voor een CMP zou er dus preciezer gekwantificeerd moeten worden dan slechts het vaststellen van een overschrijding van de fytosanitaire standaardnorm. Daarnaast moet in percelen met een eerste niet-GG teelt naast een GG teelt de nadruk liggen op opslag uit zaad, aangezien dat het enig mogelijke product van vermenging (uitkruising) met de GG

teelt is. Het verdient dan ook aanbeveling een aparte inventarisatie uit te voeren, waarbij men gebruik zou kunnen maken van allerlei varianten met transecten of gridbemonstering zoals ook in onkruidonderzoek wordt toegepast. De NAK voert in geval van een vermoeden dat niet aan de norm wordt voldaan 3 tellingen uit, elk op een oppervlakte van 1 are, waarbij het aantal planten wordt vastgesteld en aantal afwijkende planten. De aard van de afwijking wordt zo goed mogelijk beschreven. De kansen op uitkruising en handhaven van zaadopslag zijn erg laag. In het algemeen zouden indicaties voor het belang van opslag als volgt kunnen luiden: 360 dan wel 40 planten per ha representeren 0,9%, resp. 0.1% van een gemiddelde van 40.000 planten per ha in een normale aardappelteelt. Voor de tussen perceel route is een aanpassing van deze aantallen nodig om rekening te houden met de mogelijke percentages uitkruising, zie voetnoot 3 (pag. 9).

- 2) **Inspectie op afwijkende planten (opslag) in de eerstvolgende niet-GG teelt:** Na evaluatie van de opslagwaarnemingen in de eerste drie jaar kan eventueel verder monitoring plaatsvinden tot in de eerstvolgende aardappelteelten. De meest pragmatische benadering is om in een daarvoor optimaal groeistadium percelen te inspecteren conform de aanpak door NAK Keurmeesters in de pootgoedteelt, d.w.z. controle op afwijkende planten binnen de rijen en planten die daarbuiten vallen en daarmee minder waarschijnlijk tot de aanplant van dat jaar behoren. In het algemeen zal de eerste GG aardappelteelt in Nederland logischerwijs naar alle waarschijnlijkheid ook pootgoed met bijbehorende keuringen betreffen. Onderscheiding van afwijkende planten op uiterlijk zou problematisch kunnen zijn indien de betreffende aardappelteelt plaatsvindt met een iso-lijn van het transgene aardappelras op de mogelijke vermenging waarmee gemonitord wordt, bijv. GG Modena dat via transformatie van het transgene "event" AV43-6-G7 van het conventionele Karnico afgeleid is. In geval van twijfel kunnen afwijkende/misplaatste planten getest worden op transgene gebeurtenissen; bij een amylopectineaardappel zoals Amflora of Modena zou dat zelfs al kunnen met een simpele kleurreactie op zetmeeltype. Vervolgens kan men bij het aantreffen van transgene planten beslissen of het nodig is om de uiteindelijke aardappeloogst te testen op vermenging m.b.v. de real-time qPCR methode conform EU standaarden, zoals behandeld onder het volgende punt. Daarbij dient bedacht te worden dat er een vertaalslag nodig is om van percentages afwijkende planten te komen op waarschijnlijke uitslagen (percentages) conform de kwantitatieve PCR (qPCR) methode op knollen. Zo kunnen aantallen oogstbare knollen tussen de verschillende typen planten verschillen. Verder hangt een omrekening af van een aantal factoren die de uitkomsten van de qPCR kunnen beïnvloeden, zoals ras en transgeen "event". Zo heeft de amylopectineaardappel een samenstelling die zodanig afwijkt van de conventionele aardappel dat DNA-extractie en daarmee uitkomsten van de qPCR significant beïnvloed worden. Qua indicaties voor plantenaantallen geldt, zoals in het voorgaande punt 1 aangegeven, dat 360 dan wel 40 planten per ha 0,9%, resp. 0.1% representeren van een gemiddelde van 40.000 planten per ha in een normale aardappelteelt. Aangezien verder op voorhand niet zoveel valt te zeggen over de factoren die de qPCR beïnvloeden in concrete veldsituaties, zou men om een marge in te bouwen kunnen bemonsteren zodra men een kwart of meer van de bovenstaande aantallen aantreft, d.w.z. 90 dan wel 10 planten per ha bij drempelwaarden van respectievelijk 0,9% en 0,1%. Heel basaal zou men kunnen besluiten tot bemonstering zodra men afwijkers aantreft.
- 3) **Bemonstering van de oogst van de opvolgende niet-GG teelt:** Evenals bij maïs zou kunnen worden aangesloten bij de huidige praktijk van bemonsteringen van partijen en scheepsladingen etc. die in principe ook is toe te passen op allerlei soorten oogsten. Een mogelijkheid is om op gezette tijden een monster te trekken uit de oogststroom op het veld naar analogie van bestaande richtlijnen voor monsternamen uit goederenstromen tijdens overlading, wat aansluit bij EU aanbeveling 2004/787/EG. Het meest kostenefficiënt zal echter zijn te werken

conform de aanpak van bemonstering voor ziekte-toetsen door de NAK, door inspecteurs uit oogstopslag. Meer details over bemonstering staan beschreven in de annex.

- 4) **(Trans)genverspreiding via uitkruising:** Voor het waarnemen van uitkruising van een niet-GG perceel met een GG perceel zouden zaden verzameld moeten worden in het niet-GG perceel in het eerste jaar, zoals bijvoorbeeld in maïs uitvoerig gebeurd is. Echter, de GG uitgekruiste zaden moeten het door opslag in opvolgende jaren brengen tot knollen die in de oogst van de eerstvolgende niet-GG aardappelteelt terecht komen om tot significante GG vermenging te komen, hetgeen een erg kleine kans heeft. Het is dan kostenefficiënter om zich te beperken tot het volgen van de ontwikkelingen in het voorkomen van opslagplanten.

Conclusie voor het protocol

De meest pragmatische manier om een indicatie van de kans op vermenging te krijgen is een veldinspectie op afwijkende planten in de eerstvolgende niet-GG aardappelteelt. Op zijn beurt kan een indicatie voor de noodzaak van deze veldinspectie verkregen worden door te monitoren in hoeverre aardappelopslag in de tussenliggende jaren (teelten) voorkwam. Hiermee kan voldaan worden aan de wens om een CMP in eerste instantie te beperken tot de periode van de eerste drie jaar na introductie en kan over de resultaten van het CMP al na die eerste drie jaar gerapporteerd worden aan de opdrachtgever.

Indien men vervolgens besluit tot voortzetting van de co-existentie-monitoring kan men bij een te hoog aantal afwijkers in de veldinspectie van de eerstvolgende niet-GG aardappelteelt een beslissing nemen tot bemonstering en qPCR van de oogst van de opvolgende niet-GG aardappelteelt om vast te stellen of er een bovendrempelige vermenging met transgen aantoonbaar is.

5 Toelichting op de aanpak van het CMP

5.1 Ontwikkelingen in het wetenschappelijk onderzoek aan uitkruising bij aardappel sinds het rapport van de CCPS

Sinds het uitkomen van het rapport van de CCPS (“Commissie van Dijk”) in 2004 is er betrekkelijk weinig nieuw onderzoek aan aardappel gepubliceerd, naar alle waarschijnlijkheid doordat het als een relatief klein probleem gezien wordt in vergelijking met gewassen zoals maïs en koolzaad. De meest recente samenvatting van de ontwikkelingen kan gevonden worden in het RIVM/BGGO rapport door Van den Brink *et al.* (2008). In het navolgende zullen alleen de voor co-existentie monitoring direct van belang zijnde aspecten besproken worden.

In Ierland is een uitkruisingsexperiment met een “worst case”-opzet uitgevoerd waarin een goed fertiel ras als pollendonor werd geteeld naast een mannelijk steriel ras als pollenontvanger. In deze situatie kon uitkruising tot op de maximaal geteste afstand van 21 m worden vastgesteld (Petti *et al.* 2007). Het ging daarbij om 140 bessen, gevormd op 120 receptorplanten, waarvan er 4 (2,8%) zaden bevatten en van die zaden bleken er 23 (36%) kiemkrachtig. De 21 m betreft een grotere afstand dan tot dan gepubliceerd was (maximaal 10 m met 0,017% uitkruising, cf. Van de Wiel & Lotz 2004 & 2006), maar bij deze mannelijk steriele planten is de zaadproductie ook navenant lager (normaal fertiele planten kunnen zo’n 20 bessen met elk in de orde van 150 zaden (0-500, doorgaans 20-150) produceren, totaal 3000 per plant, Roy *et al.* 2007). Verder constateerden Petti *et al.* (2007) in hun experiment zaadverspreiding tot op 20 m vanuit hun bronpopulatie. Hoe dit door zou werken in uiteindelijke vermenging in de landbouwkundige praktijk is niet helemaal duidelijk, want in aardappel zijn geen grootschaliger proeven gedaan. Het geeft wel aan dat het voor de co-existentie monitoring nuttig kan zijn de fertiliteit van geteelde rassen te controleren. In Ierland vindt verder onderzoek plaats. In het algemeen heeft zaadopslag weinig kans in opvolgende teelten in de gewasrotatie. Granen onderdrukken de opkomst sterker dan bijvoorbeeld bieten of uien, maar in de normale onkruidbestrijding, zowel mechanisch als met herbiciden, leveren aardappelzaailingen doorgaans geen problemen op (Van den Brink *et al.* 2008).

Over de overlevingskansen van bij de oogst achtergebleven knollen gedurende de gewasrotatie tot in een opvolgende aardappelteelt is nog steeds heel weinig in wetenschappelijk gerefereerde literatuur gepubliceerd. Er is wel ervaringskennis die aangeeft dat bij de kortst bekende rotatie, die in de zetmeelteelt van 1:2, er kansen zijn op vermenging, maar bij de normale consumptieteelt rotatie van 1 op 3 à 4 zou dit uiterst onwaarschijnlijk zijn (Van den Brink *et al.* 2008). Recent hebben Phelan *et al.* (2015) gepubliceerd over het volgen van opslag in een aantal Ierse percelen gedurende twee jaar na een aardappelteelt in rotatie met granen. Dit onderzoek liet zien dat in het tweede en laatste onderzoeksjaar na de aardappelteelt nog voor co-existentie relevante aantallen opslagplanten aanwezig waren die nog knollen produceerden, zij het minder dan in het eerste jaar na de aardappelteelt. De auteurs benadrukken in dit verband het belang van goede bestrijding in de gewasrotatie. Veldomstandigheden en klimaat in Ierland verschillen van de Nederlandse teeltomstandigheden; de eerste winter na de teelt was echter relatief nat en koud voor Ierse omstandigheden. Voor het verkrijgen van meer inzicht in oorzaken van eventuele vermengingen zou tenminste in het laatste jaar voor een nieuwe teelt op opslag uit de voorgaande teelt gecontroleerd kunnen worden.

5.2 Bemonsteringsstrategie

Voor de bemonsteringsstrategie van de aardappeloogsten geldt in het algemeen mutatis mutandis hetzelfde als voor maïs, waarbij “kolven” dan wel “korrels” vervangen dient te worden door “knollen”. Bij aardappel kan echter eerst een veldinspectie uitgevoerd worden zoals in pootgoedteelt voor o.a. het controleren op raszuiverheid gebruikelijk is. Het al dan niet aantreffen van afwijkende planten kan dan als een indicatie voor al dan niet bemonsteren van de oogst gebruikt worden.

Bij de voorafgaande veldinspectie zullen duidelijk afwijkende (GG) planten uit een eerdere teelt relatief makkelijk gevonden worden. Niet-GG en GG isolijnen (zelfde ras als basis voor de GG variant) zullen anderzijds makkelijk gemist worden, tenzij ze op afwijkende plekken in het veld staan (buiten de rij). Uiteindelijk zal men bij een indicatie om tot monsternamen over te gaan een marge aan moeten houden omdat het uiteindelijk gaat om de knollen die in de oogst terechtkomen en niet om de knollen van planten die bovengronds zichtbaar zijn, en hoe het geheel vervolgens uitwerkt in de qPCR GG kwantificering.

Voor het bemonsteren komt een methode in aanmerking die aansluit bij een goed omschreven pragmatische bemonsteringspraktijk volgens EU aanbeveling 2004/787/EG, die uit de oogstopslag of uit de oogststroom genomen kan worden. Voor een pragmatische aanpak zou dit echter te ver voeren. Voor reconstructie van oorzaken voor een eventueel gevonden vermenging door een bemonstering die zich beperkt tot de richtlijnen van 2004/787/EG zie volgende sectie 5.3.

Aan verdere optimalisering van bemonsteringsmethoden is en wordt in Europees verband onderzoek gedaan: EU projecten SIGMEA en COEXTRA, en momenteel PRICE, en bij het Joint Research Centre (JRC) van de EU te Ispra, Italië. Ook hier geldt dus de aanbeveling om de mogelijkheid van de aanpassing van het CMP aan ontwikkelingen in de wetenschap open te laten.

5.3 Kosten

Qua kosten zijn aardappelmonsters in principe bewerkelijker doordat de eenheden aanzienlijk groter zijn dan de zaden die bijv. bij zaadgewassen zoals maïs het testdoel zijn. Daarnaast zullen de totale kosten van een programma oplopen naar mate er ook meer aspecten in de tussenliggende jaren bekeken worden. Voor het verkrijgen van gedetailleerd wetenschappelijk inzicht in achterliggende oorzaken voor vermenging zou additioneel gemonsterd kunnen worden in de jaren tussen de eerste aardappelteelt in contact met GG teelt en het jaar van de opvolgende teelt met de uiteindelijk te controleren oogst. Vooral nog is het echter moeilijk aan te geven in welke mate deze bemonsteringen voorspellende waarde hebben. De volgende aspecten zijn van belang:

- **Inventariseren van opslagplanten:** Behalve dat de NAK al wel controleert op het niet te boven gaan van aardappelopslag van bepaalde drempelwaardes (sinds 2015 opgenomen in de Plantenziektenwet), zijn er geen standaardmethodes voor opslaginventarisatie i.v.m. GG vermenging bekend. De opslag van aardappelen op een perceel kan gemeten worden door transecten te volgen die parallel aan de gewasrij lopen. Alle opslagplanten, die zich binnen een bepaalde afstand van de transect bevinden, worden geteld. Die afstand kan afhangen van de rijafstand van het gewas en het type gewas, maar is uit praktische overwegingen niet meer dan 2 m. Het aantal transecten in een akker die nodig zijn om een betrouwbare schatting van de hoeveelheid aardappelopslag te maken is o.a. afhankelijk van de variatie in het voorkomen over het perceel heen. Naarmate de spreiding groter is zijn er meer transecten nodig voor een betrouwbare schatting. Uit praktische overwegingen kan

gedacht worden aan een tweetrapsaanpak, d.w.z. eerst een globale inventarisatie op aanwezigheid van opslag, en alleen indien dit in relevante mate het geval is, kwantificeren m.b.v. tellen langs enige transecten over het hele perceel. De onder 4.4 beschreven aanpak van de NAK zou tot kosten in de orde van € 256 per perceelcombinatie leiden.

- **Uitkruising in een niet-GG perceel naast een GG perceel in het eerste jaar:** Het bemonsteren van zaden (bessen) brengt extra complexiteit met zich mee en lijkt gezien de geringe kansen op vermenging via deze route geen kostenefficiënte actie. Er is behoorlijke variatie in fertiliteit tussen rassen, zodat het noteren van geteelde rassen hier al zinvolle informatie oplevert (zie verder hieronder).

Hoewel niet volledig in te schatten, kan men de kansen op vermenging bij aardappel vooralsnog als relatief gering beschouwen. In dat licht is het zeer de vraag of een CMP dat zich in groot detail uitstrekt over alle jaren van een complete gewasrotatiecyclus voldoende in verhouding staat tot te verwachten risico's. Meer precies is het dan de vraag welk minimaal programma nog voldoende informatie kan genereren om ook uitspraken over de oorzaken van eventuele vermengingen te kunnen doen, mochten ze überhaupt gevonden worden. Het boven voorgestelde programma van veldinspecties lijkt daartoe voldoende mogelijkheden te bieden. Om tot het vaststellen van oorzaken te komen, indien vermenging met GG geconstateerd wordt, is de volgende informatie van primair belang:

- Het aardappelras dat in de eerste ronde op het perceel stond; indien van toepassing, het aardappelras/rassen die in de omliggende percelen stonden (ras geeft indicatie van kans op uitkruising op grond van fertiliteitseigenschappen en verschaft in principe zelf ook merkers die een indicatie van het herkomststras van het transgen vormen, zie onder); de gewassen die in de jaren tussen de eerste en tweede aardappelverbouw op het perceel stonden (want van invloed op de efficiëntie waarmee opslag bestreden kan worden).
- In de situatie dat in de eerste teelt een transgene aardappel op het perceel stond, kan er gevoeglijk van worden uitgegaan, dat eventuele transgene vermenging in de opvolgende teelt daarin zijn herkomst vindt.
- In de situatie dat er alleen een transgene aardappel op één of meerdere naastgelegen percelen stond, zou daar ergens de bron van een transgene vermenging kunnen zijn. Bij twijfel zou nadere controle mogelijk zijn door met andere moleculaire (DNA) merkers dan de transgene te controleren op aanwezigheid van aanwijzingen voor hybridisatie met het ras uit het naastgelegen perceel. Er is al het nodige werk gedaan aan het herkennen van aardappelrassen m.b.v. moleculaire merkers, zogenaamde microsatelliet merkers (Reid *et al.* 2011). Dit is in geogste knollen alleen mogelijk indien voldoende vermenging aanwezig is in verhouding tot de gevoeligheid van de toegepaste merkermethode in termen van benodigde hoeveelheden DNA. Een alternatieve mogelijkheid om voldoende DNA voor merkeranalyse op het eventuele hybride karakter te verkrijgen is het bemonsteren van afwijkende planten in het veld.

6 Referenties

- Anonymus (2010) The Dutch General Inspection Service for Agricultural Seed and Seed Potatoes (NAK) is aware of importance of PCR technology. *Potato World Magazine* 2010-1:7.
- Broothaerts W, Corbisier P, Emons H, Emteborg H, Linsinger TPJ, Trapmann S (2007) Development of a certified reference material for genetically modified potato with altered starch composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:4728-4734.
- Community Reference Laboratory for GM Food and Feed (2006a) Event-specific method for the quantification of amylopectin potato event EH92-527-1 using real-time PCR. Protocol. European Commission, DG Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Biotechnology and GMOs Unit - Community Reference Laboratory, Ispra, Italy, CRLVL09/05VP, 12 pp.
- Community Reference Laboratory for GM Food and Feed (2006b) Event-specific method for the quantification of event EH92-527-1 potato using real-time PCR. Validation report. European Commission, DG Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Biotechnology and GMOs Unit - Community Reference Laboratory, Ispra, Italy, CRLVL09/05VR, 20 pp.
- Kay S, Paoletti C (2001) Sampling strategies for GMO detection and/or quantification. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, Ispra, Italy, 16 pp.
- McPartlan HC, Dale PJ (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
- Petti C, Meade C, Downes M, Mullins E (2007) Facilitating co-existence by tracking gene dispersal in conventional potato systems with microsatellite markers. *Environmental Biosafety Research* 6:223-235.
- Phelan S, Fitzgerald T, Grant J, Byrne S, Meade C, Mullins E (2015) Propensity for seed-mediated gene flow from potato crops and potential consequences for the coexistence of GM and non-GM potato systems. *European Journal of Agronomy* 67:52-60.
- Reid A, Hof L, Felix G, Rucker B, Tams S, Milczynska E, Esselink D, Uenk G, Vosman B, Weitz A (2011) Construction of an integrated microsatellite and key morphological characteristic database of potato varieties on the EU common catalogue. *Euphytica* 182:239-249.
- Roy TS, Nishizawa T, Ali MH (2007) Flower, berry and true potato seed productions in potato mother plants (*Solanum tuberosum* L.). 1. Effects of nitrogen and phosphorus fertilizers. *Journal of Agronomy* 6:106-112
- Van de Wiel CCM, Groeneveld RMW, Dolstra O, Kok EJ, Scholtens IMJ, Thissen JTNM, Smulders MJM, Lotz LAP (2009) Pollen-mediated gene flow in maize tested for coexistence of GM and non-GM crops in the Netherlands: effect of isolation distances between fields. *NJAS Wageningen Journal of Life Sciences* 56:405-423.
- Van de Wiel CCM, Lotz LAP (2004) Inventarisatie van de wetenschappelijke kennis over uitkruising in maïs, koolzaad, aardappel en suikerbiet voor het co-existentieoverleg 2004. Plant Research International - Wageningen UR, Wageningen, Nota 322, 36 + X pp.
- Van de Wiel CCM, Lotz LAP (2006) Outcrossing and coexistence of genetically modified with (genetically) unmodified crops: a case study of the situation in the Netherlands. *NJAS Wageningen Journal of Life Sciences* 54:17-35.
- Van den Brink L, Bus CB, Groten JAM, Lotz LAP, Timmer RD, Van de Wiel C (2008) Gewas- en teeltbeschrijving van suikerbiet, maïs en aardappel in relatie tot verspreiding van genetisch materiaal. Mate van verspreiding van genetisch materiaal in de landbouwpraktijk naar andere rassen, verwante soorten of naar

het milieu. Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Wageningen, PPO
3250099300, 52 pp.

Weber WE, Bringezu T, Broer I, Eder J, Holz F (2007) Coexistence between GM and Non-GM maize crops - Tested in 2004 at the field scale level (Erprobungsanbau 2004). *Journal of Agronomy and Crop Science* 193: 79-92.

Appendix

i Bemonstering van bulkproducten

Verordening 1830/2003 waarin de traceerbaarheid van genetisch gemodificeerde organismen (GGO's) in voedings- en diervoederketens is gereguleerd (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?qid=1422363836814&uri=CELEX:32004H0787>) bepaalt onder meer dat lidstaten er op toe moeten zien dat passende inspecties en controlemaatregelen, met inbegrip van steekproeven en (kwalitatieve en kwantitatieve) tests, worden uitgevoerd om de naleving van de verordening te garanderen. Officiële controles moeten worden uitgevoerd in alle fasen van productie of invoer, verwerking, opslag en distributie van GGO's of afgeleide producten. De bepalingen hebben betrekking op partijen zaad en ander plantaardig teeltmateriaal, levensmiddelen, diervoeders en basisproducten afkomstig uit de landbouw.

Voor zaadpartijen en ander plantaardig teeltmateriaal moeten de bemonsteringsstrategieën voldoen aan gangbare internationale methoden, aan Europese voorschriften die op partijen van bepaalde omvang van toepassing zijn en in overeenstemming zijn met de ISTA-regels (International Seed Testing Association) voor bemonstering. Er worden 10 verschillende Europese richtlijnen aangehaald die van toepassing kunnen zijn op een bepaalde partij.

Voor basisproducten 'in bulk' afkomstig uit de landbouw is het voorgestelde bemonsteringsprotocol gebaseerd op een tweestapsprocedure die het mogelijk maakt om een schatting te maken van het percentage GGO's in een partij met het bijbehorende onzekerheidsniveau (standaardafwijking), zonder dat aannames hoeven te worden gemaakt ten aanzien van de heterogeniteit van de bulk. De eerste stap hierbij is dat er een bulkmonster wordt samengesteld. Het daarvan afgeleide analysemonster wordt gebruikt voor een kwantitatieve GGO-bepaling. Wanneer het resultaat van de analyse in de buurt ligt van, i.e. 50% boven of beneden, de vastgestelde drempelwaarde (=0.9%), dan wordt aanbevolen om de gearchiveerde basismonsters afzonderlijk te analyseren om een schatting van de desbetreffende onzekerheid te kunnen maken. Ook in dit verband worden vijf ISO-normen genoemd waarmee rekening gehouden moet worden.

Het aantal benodigde basismonsters, die opgedeeld worden in te archiveren basismonsters en het monster dat meegenomen wordt in het bulkmonster, wordt vastgesteld overeenkomstig de omvang van de partij. Hiervoor is een tabel opgenomen in de aanbeveling (EU recommendation 2004/787/EC):

Omvang van de partij (in t)	Omvang van het bulkmonster (in kg)	Aantal basismonsters
≤ 50	5	10
100	10	20
250	25	50
≥ 500	50	100

Verdere bepalingen zijn dat het bulkmonster 0.01% van de totale omvang van de partij moet bedragen bij partijen tussen de 50 en 500 ton. Bij kleinere partijen dient het bulkmonster 5 kg te zijn en bij grotere partijen is het bulkmonster 50 kg. Er kan gekozen worden voor systematische bemonstering (periodieke bemonstering waarbij het tijdsinterval gelijk is aan totale lostijd/totaal aantal basismonsters) of statische bemonstering (specifieke bemonsteringspunten). Bij iedere monsternamen wordt een

monster van 1 kg genomen, dat wordt gesplitst in twee delen van 0.5 kg: één deel wordt gebruikt als basismonster voor het samenstellen van het bulkmonster en het andere deel als gearhiveerd basismonster.

In EU aanbeveling 2004/787/EC wordt voor aardappelen verder verwezen naar de bemonsteringsstrategieën volgens ISO norm 2859. Dit is een stelsel van normen voor bemonstering voor inspectiedoeleinden, waarbij de bemonsteringsstrategie gekozen kan worden die aansluit bij het doel van de bemonstering. Voor handhaving van GGO-etiketteringsvoorschriften kan procedure 2859-1 worden gebruikt. Deze procedure is ontwikkeld voor inspectie-doeleinden van een serie monsters afkomstig van een enkele productie of proces, in dit geval van één veld bij de oogst. Wanneer er al een uitspraak is gedaan over het GGO-percentages van een oogst, kan ook procedure 2859-4 worden toegepast. Dit is een procedure waarbij de kans verkleind is dat het resultaat van de bemonstering onterecht aangeeft dat de partij als GGO-partij geëtiketteerd moet worden of andersom, dat het resultaat onterecht aangeeft dat de partij niet geëtiketteerd hoeft te worden. Om de grootte van individuele monsters terug te brengen, kan ook procedure 2859-5 nog gebruikt worden. Dit zou in samenhang met de selectie voor de juiste procedure nader moeten worden bezien per te bemonsteren oogst. Voor een niet-GG teelt volgend op een GG teelt in de gewasrotatie op hetzelfde perceel spelen afstanden tot een GG vermengingsbron een geringe rol en komt vooral deze methode in aanmerking.

Bij aardappel gaat het om opbrengsten van 50-60 ton per hectare. Dit zou zich vertalen in een bulkmonster van 10 kg opgebouwd uit 20 basismonsters. Echter, voor het bepalen van het al dan niet overschrijden van een drempelwaarde in de orde van 1% is een aantal van 300 eenheden (aardappels) vereist, en voor 0.1% ligt dit op 3.000 eenheden (95% betrouwbaarheid uitgaande van binomiaal distributie, Kay & Paoletti 2001). Bij maïs wordt voor transgenkwantificering met real time qPCR (zie annex ii) volgens EU standaard uitgegaan van monstergroottes van een halve kg (~1500 korrels). Voor aardappel betekent dat monstergroottes in de orde van 40, resp. 400 kg (of 200 kg bij 1500 eenheden). Hier is een aanpassing mogelijk door van elke bemonsterde aardappel standaard een klein stukje te nemen conform de monsterverwerking voor ziekte-toetsen bij de NAK, d.w.z. van elke aardappel een klein submonster nemen en dat samenvoegen tot een monster voor DNA-extractie (Anonymus 2010). Hierbij zijn monstereenheden van 200 aardappelen gebruikelijk, ook vanuit praktische overwegingen zoals hanteerbaarheid (tilgewicht). Voor de 0.9% drempelwaarde zou men dan aan de veilige kant zitten met twee monsters van 200 aardappelen samenvoegen tot één monster voor DNA extractie en qPCR conform de gevalideerde methode uit de EU ringtest. Voor monsters van 3000 eenheden zou dit erg bewerkelijk worden en zou men zijn toevlucht moeten nemen tot monsterverwerkingsapparatuur uit bijv. de zetmeelindustrie.

ii Kwantitatieve metingen van transgenen door real-time PCR

ii-1 Algemeen

Voor de bepaling van het percentage GG aardappel in een monster wordt gebruik gemaakt van een event-specifieke real-time (TaqMan) PCR test. Dit wil zeggen dat een DNA sequentie geamplificeerd wordt die uniek is voor het transgene event, bijv. voor EH92-527-1 aardappel een 134 bp (basenparen) fragment van de single copy DNA integratie border regio waar de genomische sequentie van aardappel grenst aan het geïntegreerde genetische construct. Voor relatieve kwantificering wordt ook een 88 bp fragment van het universeel in het normale aardappelgenoom voorkomende “single copy” UGPase (UDP-glucose pyrophosphorylase) geamplificeerd.

Met behulp van twee kalibratielijnen, één voor het endogene gen en één voor de unieke transgensequentie, worden de hoeveelheid kopieën van het endogene gen en de transgensequentie in het monster bepaald. De hoeveelheid transgen wordt gedeeld door de hoeveelheid endogeen gen en dit getal wordt vermenigvuldigd met 100, om het percentage te berekenen. De uitslag is een percentage transgen op gewichtsbasis (w/w), omdat de ratio wordt gerelateerd aan kalibratielijnen van referentiemonsters op gewichtsbasis. Dit is binnen Europa nu de standaardprocedure in afwachting van nieuwe referentiematerialen waarmee daadwerkelijk het haploïd genoomgehalte kan worden bepaald. Voor de aardappel zou dat kunnen betekenen dat gehalten in de orde van vier keer zo laag worden in de tetraploïde aardappel in het geval er één transgeen event aanwezig is. Bij de amylopectineaardappels kan ook door de verandering van de zetmeelsamenstelling de matrix waaruit DNA geëxtraheerd wordt dusdanig veranderd zijn dat verschillen optreden in DNA-extractie en daarmee uitkomsten van de qPCR t.o.v. aardappels met een conventionele zetmeelsamenstelling (Broothaerts *et al.* 2007). Om die reden wordt voor het samenstellen van calibratiemonsters geadviseerd mengsels van GG en niet-GG op gewichtsbasis te maken uitgaande van DNA extracten uit GG respectievelijk niet-GG aardappelmateriaal (Broothaerts *et al.* 2007).

De reproduceerbaarheid en de juistheid van de methode voor de EH92-527-1 aardappel zijn gevalideerd door het Europese Joint Research Centre in Ispra, in samenwerking met het ENGL (European Network of GMO Laboratories) (Community Reference Laboratory for GM Food and Feed 2006a: http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/EH92-527-Validated_method%20corrected%20version%201.pdf; Community Reference Laboratory for GM Food and Feed 2006b: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/EH92-527-1-%20Validation%20Report.pdf>). Aan de inter-laboratorium validatiestudie hebben 12 laboratoria meegedaan uit 10 lidstaten. Het belang van ringtesten kan geïllustreerd worden met observaties in het Duitse onderzoek door Weber *et al.* (2007). Voor het uitvoeren van hun analyses lieten ze eerst vier verschillende laboratoria materiaal met bekende vermengingsgehalten testen en kozen vervolgens op basis daarvan de twee beste laboratoria uit voor de analyses van hun veldmonsters. Bij latere statistische analyse van de resultaten bleken er tussen deze twee laboratoria systematische verschillen in uitkomsten aantoonbaar.

De kwantificeringsmethode is op dit moment ook intern bij RIKILT gevalideerd en geaccrediteerd binnen de flexibele scoop. De detectielimiet voor een standaardanalyse is 0.1%.

ii-2 Specificaties van de meetbetrouwbaarheid

De internationale ringtest op de EH92-527-1 aardappel is uitgevoerd met verschillende percentages door de fabrikant aangeleverd referentiemateriaal. De kalibratielijnen werden gemaakt door verdunning door het JRC van het 100% materiaal (DNA). Voor het bepalen van de betrouwbaarheid zijn de volgende parameters bepaald: 1) De Reproducibility Relative Standard Deviation RSD_R is de standaardafwijking van testresultaten verkregen onder reproduceerbaarheidsomstandigheden. Reproduceerbaarheidsomstandigheden zijn condities waarbij de testresultaten verkregen zijn met dezelfde methode, door verschillende personen op verschillende tijdstippen, eventueel met verschillende merken chemicaliën en apparatuur. De reproduceerbaarheidsstandaardafwijking beschrijft dus de inter-laboratorium variatie. Deze was 16.27% voor 0.1% EH92-527-1 aardappel, 13.73% voor 0.4% EH92-527-1 aardappel, 13.04% voor 0.9%, 14.56% voor 2.2% EH92-527-1 aardappel en 12.42% voor 5.5% EH92-527-1 aardappel. 2) De bias is het percentage afwijking ten opzichte van de referentiewaarde. Deze was maximaal 8.23%. Let wel: de aangeleverde standaarden werden als monster gebruikt en de kalibratielijnen werden gemaakt door middel van verdunningen van de aangeleverde standaard (zowel in de Europese validatiestudie als in de in-house RIKILT validatiestudie), zodat er eigenlijk geen geldige informatie over de juistheid beschikbaar is. Dit geldt overigens voor alle tot dusver uitgevoerde Europese validatiestudies. Ten aanzien van de specificiteit: de UGPase test vertoont geringe kruisreactie met andere planten van de Solanaceae-familie: tomaat, paprika, aubergine en tabak. De relatieve LOQ is 0.1%, gelijk aan het laagste punt van de gebruikte kalibratiecurve. Deze test is intern bij RIKILT gevalideerd en geaccrediteerd onder Flexscope.

ii-3 Procedure

De aangeleverde monsters worden geregistreerd in LIMS (Laboratorium Informatie en Management Systeem) en krijgen een uniek RIKILT-nummer. Standaard worden een monster en een contra-monster aangeleverd van elk 500 g. Het contra-monster wordt ongeopend bewaard voor eventuele analyse door een ander laboratorium. Het laboratoriummonster wordt in zijn geheel gehomogeniseerd en gemalen en er worden twee potjes met een inhoud van 200 ml gevuld. De rest van het gemalen monster wordt weggegooid. Eén potje wordt gebruikt voor DNA-extractie en PCR-testen, het andere wordt bewaard in de monsterkamer. Voor het malen van het volgende monster worden machine en maalkabinet geheel schoongemaakt om versleping te voorkomen.

DNA-isolatie wordt uitgevoerd op 100 mg van het monster en er wordt DNA geïsoleerd met een gecombineerde CTAB/Qiagen Plant Mini Kit methode. Per 20 monsters wordt water als een (negatieve) extractie controle meegenomen bij de DNA isolatie.

De real-time PCR-test wordt uitgevoerd volgens het door de EU gevalideerde protocol (RIKILT Standard Operating Protocol A1033). Per geïsoleerd DNA worden voor kwantificering drie endogene PCR reacties en drie GGO PCR reacties uitgevoerd. Er worden in elke run duplo controles meegenomen voor de gevoeligheid, juistheid, negatieve template controle en no-template PCR controle (= water). Bovendien wordt per 20 DNA isolaties een extractiecontrole meegenomen in de kwantitatieve PCR.

ii-4 Kosten

Op grond van de meest recente berekeningen door RIKILT zijn de kosten 430 Euro per monster bij directe kwantificering. RIKILT doet daarvoor voorbereiding, DNA-isolatie en -kwantificering met behulp van een gevalideerde event-specifieke (bijv. EH92-527-1 aardappel) methode. Bij meer dan 10% positieve monsters is dit het goedkoopst. Is het percentage van positieve monsters lager dan 10% dan is het goedkoper om na de DNA-isolatie eerst een screening uit te voeren voor positieve monsters (kosten 255 Euro per monster) en de gevonden positieve monsters te kwantificeren op basis van de

EH92-527-1 aardappel-methode (kosten 370 Euro per analyse). Voor bovenvermelde (annex I) voorbereiding conform de NAK ziekte-toetsen om de monsteromvang hanteerbaar te maken zouden er kosten in de orde van 40 Euro per monster bijkomen.

In de toekomst zullen er zeker ontwikkelingen zijn waardoor een verder efficiëntieslag mogelijk wordt. De Nederlandse praktijktoets aan maïs (zie Van de Wiel *et al.*, 2009) heeft laten zien dat er een aanzienlijke efficiëntiewinst geboekt kon worden door routinematige uitvoering van de test, met als gevolg lagere kosten per monster.