

*Onzinnige slogan suggereert 'onvoorspelbare effecten'*

## Over het belang van cisgenese en een ontspoord debat

Evert Jacobsen en Henk Schouten

*Genetisch gemodificeerde gewassen (GM-gewassen) worden in Europa moeilijk geaccepteerd. De geschiedenis van de weerstand laat zien dat deze bij een klein deel van de bezwaarden te maken heeft met het modificatieproces zelf. Het overgrote deel keert zich veeleer tegen het gebruik van landbouwkundig nuttige transgenen uit virussen en bacteria, en van transgene selectiegenen die onder meer resistentie tegen een antibioticum of een herbicide geven. Al deze genen worden transgenen genoemd omdat ze uit organismen komen die niet kruisbaar zijn met de doelplant. In de beginperiode van de transgenese waren alleen deze transgenen beschikbaar. Inmiddels kan de, ook maatschappelijk belangrijke, versnelling van het klassieke plantenveredelingsproces eveneens worden gerealiseerd met cisgenen en intragenen. De huiver die nog in het publieke en politieke debat doorklinkt, krijgt daardoor een steeds meer irrationeel karakter. Een meer adequate EU-regelgeving wordt daardoor belemmerd.*

De regelgeving die is uitgemond in de richtlijn 2001/18/EC, is gebaseerd op processen om tot GM-planten te komen en daarnaast op de genetische informatie die in de plant gebracht wordt. In Annexen bij de definitie van genetische modificatie, is alleen rekening gehouden met een aantal toen bekende technieken, processen en genetische achtergronden die buiten de definitie van GM geplaatst werden (bijvoorbeeld polyplöidisatie van planten) of technieken die wel als GM werden beschouwd, maar vrijgesteld werden van de strenge regels voor GM-gewassen. Voorbeelden van de laatste categorie zijn geïnduceerde mutaties en protoplastenfusie bij kruisbare planten.

Bij de totstandkoming van de richtlijn 2001/18/EC, acht jaar geleden, waren het massaal kloneren van plantengenen en het transformeren zonder selectiegenen uit bacteriën nog ver weg. Er is toen geen rekening gehouden met het feit dat er een tijd zou komen waarin bacteriële selectiegenen niet meer nodig zouden zijn in het eindproduct, en natuurlijke

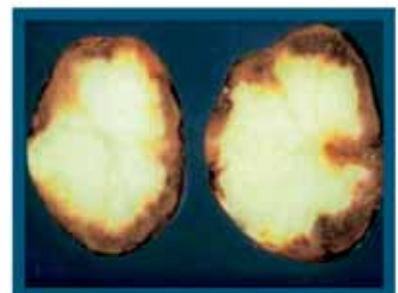
genen (cisgenen) van de plant zelf en haar kruisbare soorten relatief eenvoudig beschikbaar zouden komen. Wij doen nu een beroep op de regelgevers en de maatschappij om over deze nieuwe situatie na te denken en via kleine aanvullingen op de huidige regelgeving hieraan invulling te geven.

### Wat is er nieuw?

Sinds enige tijd is er sprake van drie typen genen die in GM-planten kunnen worden gebruikt. Daarnaast is op directe en indirecte wijze transformatie zonder bacteriële selectiegenen bij steeds meer gewassen mogelijk.

1) TRANSGENEN zijn de oorspronkelijke (hybride) genen die geheel of gedeeltelijk van niet-kruisbare soorten afkomstig zijn. Dit betreft het coderende gen zelf of regulerende ele-

*Phytophthora-resistentie is van groot belang voor de aardappelplant en -knol, nog altijd deel van ons volksvoedsel.*



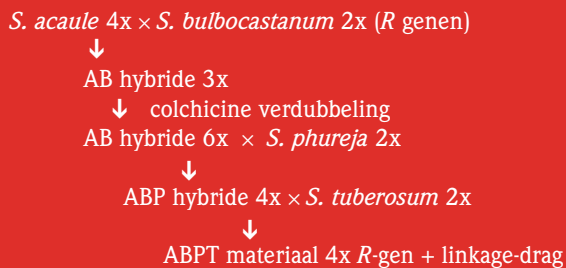
**Om een *Phytophthora*-resistente aardappel**

**De lange en de korte weg naar veredeling**

**De lange weg: brugkruisingen**

Hieronder is een schema weergegeven van een soortskruising tussen aardappel en *S. bulbocastanum*, waarbij *S. acaule* en *S. phureja* als brug gefungeerd hebben. Dit hele proces, inclusief veredeling tot *Phytophthora*-resistente rassen met slechts 1 resistentiegen heeft 40 jaar geduurd. Afhankelijk van de duurzaamheid van de resistentie, zal deze vroeg of laat door het pathogeen doorbroken worden. Tegenwoordig zijn moleculaire merkers beschikbaar om tot versnelling en stapeling van meerdere resistentiegenen te komen, zodat daardoor doorbreking van de resistentie wordt tegengegaan. Het grootste probleem bij stapeling van resistentiegenen via verschillende soortkruisingen zijn de met het resistentiegen meekomende allelen die voor negatieve eigenschappen kunnen zorgen (linkage drag). Soms is de koppeling met een allel dat codeert voor een negatieve eigenschap, moeilijk te doorbreken.

*Schema van brugkruisingen voor overdracht van Phytophthora-resistentie, 40 jaar geleden*



De eerste resistente rassen zijn de cultivars Toluca and Bionica. Zij bezitten waarschijnlijk maar 1 R-gen. Stapeling van R-genen om op deze wijze duurzame resistentie te verkrijgen is moeilijk en altijd verbonden met (linkage drag) gekoppelde allelen die voor negatieve eigenschappen kunnen coderen.

**De korte weg: via cisgenese**

Als de gewenste resistentiegenen gekloneerd zijn, dan is stapeling van deze genen in de plant in een gencassette in 1 stap mogelijk via cisgenese. Een bottle-neck hier kan de merkervrije transformatie zijn om tot voldoende cisgene planten te komen. De efficiëntie ervan is per aardappelras duidelijk verschillend.

menten rond de genen, zoals de promotor en terminator. Voorbeelden zijn genen voor resistentie tegen antibiotica, herbiciden en insecten. Zij worden ook wel genen van de eerste generatie genoemd. Er groeiden in 2008 wereldwijd 120 miljoen hectare GM-gewassen met deze genen. Voor de plantenveredeling zijn deze genen nieuw; zij behoren tot het zogenaamde NIEUWE GENENRESERVOIR voor de plantenveredeling, waarmee in de afgelopen jaren voor het eerst ervaring is opgedaan. De regelgeving is met name op het toepassen van deze genen gericht.

2) INTRAGENEN zijn hybride genen waarvan alle regulerende en coderende stukken DNA van de plant zelf of van kruisbare soorten afkomstig zijn. Door genen van bijvoorbeeld een promotor van een ander gen te voorzien, wordt de expressie van het gen aangepast. De functionele delen van de intragenen zijn voor de plantenveredeling dus niet nieuw, maar de combinatie is dat wel. Op het niveau van functionele delen behoren ze derhalve tot het BESTAANDE GENETISCHE RESERVOIR dat al eeuwen in de plantenveredeling gebruikt

wordt. In hun gecombineerde toepassing op het niveau van functionele genen zijn deze genen echter nieuw en behoren ze tot het NIEUWE GENENRESERVOIR.

3) CISGENEN zijn bestaande genen van de plant zelf of van kruisbare soorten. Cisgenen behouden hun eigen natuurlijke, regulerende sequenties, zoals promotor en terminator. Het zijn dezelfde natuurlijke genen die al sinds jaar en dag in de klassieke plantenveredeling worden gebruikt. Zij behoren dus tot het BESTAANDE GENENRESERVOIR van de klassieke plantenveredeling.

Geconcludeerd kan worden dat de cisgene plant, wat het proces betreft een GMO is, maar wat de GENETISCHE HERKOMST betreft tot de klassieke plantenveredeling behoort.

**Wat moet er veranderen?**

De regelgeving voor GM-planten maakt GM-veredeling onnodig duur. De kosten voor markttoelating van een ras zijn in de Europese Unie naar recente schattingen opgelopen tot 6-7 miljoen Euro. Het terugverdienen van zo'n investering is alleen mogelijk bij gewassen met grote omzetten. Waardoor zijn de kosten zo hoog? Deze hebben voornamelijk betrekking op de veiligheidsanalyses. In Europa speelt daarnaast de maatschappelijke weerstand een zeer grote rol. Geschat wordt dat daardoor de kosten in Europa minstens 25% hoger zijn dan in de Verenigde Staten.

Bovendien is het afronden van dossiers in Europa moeilijk voorspelbaar. Voor de zekerheid worden dan alle theoretisch denkbare risico's experimenteel onderzocht, ook als ze heel klein zijn. In de praktijk leidt dit onder andere tot veel onnodige en zeer dure dierexperimenten waarvan de uitkomsten al van tevoren vaststaan. Door de snelle veranderingen in dit veld is het flexibel omgaan met de regelgeving erg belangrijk. Vanwege het belang van cisgenese is een oproep tot flexibiliteit op zijn plaats.

**Het bezwaar van onvoorspelbare veranderingen**

Eén van de bezwaren die de laatste tijd vaak tegen cisgenese worden aangevoerd, betreft de onvoorspelbare effecten in de plant als gevolg van de toegepaste genetische modificatie. Hierbij wordt ten onrechte uitgegaan van het dogma dat (veredelde) planten uit zichzelf niet meer veranderen en dat in de natuur alles stabiel is. In werkelijkheid is niets minder waar. De vooronderstelde stabiliteit is en blijft echter een hardnekkige misvatting.

Categorie	Gentype	Toepassing GMO Regelgeving
1	Nieuwe transgenen	Volledig
2	Nieuwe transformatiegebeurtenis in een al eerder toegelaten transgen-gewas combinatie	Partieel
	Intragenen	Partieel of Vrijgesteld
3	Cisgenen	Vrijgesteld

*Voorgestelde aanpassing van de toelating van planten met transgenen, intragenen en cisgenen binnen de Europese GM-regelgeving voor veldproeven en markttoelating. Het transformatieproces leidt per definitie tot een GMO. De herkomst van de ingebrachte genen of van de functionele genonderdelen bepaalt de manier waarop de regelgeving zou moeten worden toegepast.*

### Historische les

Bij de uitreiking van de Nobelprijs in 1983 zette Barbara McClintock in een wetenschappelijke lezing haar onderzoek naar 'springende genen' uiteen. Daarbij gaf zij aan hoe natuurlijke variatie met deze springende elementen ontstaat en er bovendien regelmatig chromosoombreuken in het genoom optreden (*breakage-fusion-bridge cycle*). Zij sprak er haar verbazing en vreugde over uit dat na veertig jaar de door haar onderzochte mechanismen die tot natuurlijke variatie leiden, alsnog erkend en herkend werden. De opkomst van de moleculaire biologie heeft deze erkenning helpen bevorderen.

Kern van het verhaal van McClintock was dat als gevolg van onder andere biotische stress (bijvoorbeeld virusinfectie) natuurlijke mechanismen in het genoom geïnduceerd worden die de plant helpen zich te kunnen aanpassen aan de nieuwe omstandigheden. Geconcludeerd kan worden dat stabiliteit van het genoom eerder uitzondering dan regel is.

### Het belang van stamselectie

Deze conclusie verklaart ook het grote belang van de instandhoudingsveredeling van geselecteerde rassen. De veredelaar moet met vermeerdering van het ras zijn geld verdienen. Tijdens de vermeerdering kunnen er allerlei dingen gebeuren, zoals vermenging, maar ook spontane genetische veranderingen kunnen optreden. Om binnen de beschrijving van het ras te blijven moet de veredelaar stamselectie op raszuiverheid uitvoeren, een zeer belangrijke activiteit. Er kunnen door natuurlijke mutaties allerlei directe en indirecte genetische veranderingen optreden die de raszuiverheid kunnen aantasten. Stamselectie is het middel om binnen de rasbeschrijving te kunnen blijven.

Soms treden er ook spontane genetische veranderingen op die direct tot het ontstaan van een verbeterd ras leiden. Dit is bijvoorbeeld regelmatig het geval bij vegetatief vermeerderde gewassen, zoals appel en sierplanten. Er zijn daardoor van bekende appelrassen als Jonathan, Elstar en Golden Delicious veel mutanten bekend, beschermd en in de handel gebracht. In de plantenveredeling weten we dus dat deze 'onvoorspelbare effecten' optreden en hoe ermee om te gaan. Zij zijn namelijk eerder regel dan uitzondering en per ras of gewas verschillend in aard en frequentie.

### Betere aanpassing door mutatie

Inserties, zoals verkregen via genetische modificatie, zijn voor de plantenveredeling niet nieuw. Zoals McClintock reeds aangaf, is natuurlijke activiteit van transposons eerder regel dan uitzondering. Door het grote bufferende vermogen van het plantengenoom (diploïd of polyploïd) heeft de plant daar geen last van. Het helpt de plant in de volgende generatie door ontstane mutaties zich genetisch beter aan te passen. De instandhoudingsveredeling is een beproefd middel om met deze vorm van variatie om te gaan.

Inserties worden ook bij de geïnduceerde translocatieveredeling direct geïnduceerd om resistentiegenen uit wilde soorten naar bijvoorbeeld tarwe over te brengen. Deze inserties van stukken chromosoom bevatten in de praktijk eveneens zeer veel andere allelen van dezelfde wilde donorsoort die gelijktijdig aan het tarwengenoom worden toegevoegd. In de uiteindelijk geselecteerde tarwerassen zijn deze additionele allelen zodanig in het genoom verwerkt dat ze een verspreiding van deze verbeteringen in veel nieuwe rassen, zelfs wereldwijd, niet in de weg staan. Insertie van cisgenen valt dus binnen de grenzen die hierboven beschreven zijn, en leidt derhalve niet tot andere 'onvoorspelbare effecten' dan de beschrevene.

## Het milieu en de agrobiodiversiteit

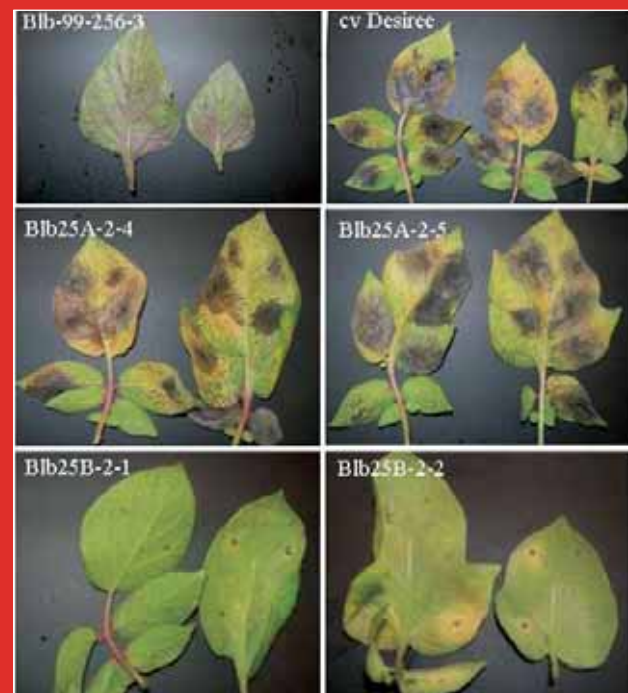
Wij zijn grote voorstanders van cisgenese omdat deze voor het milieu nieuwe perspectieven biedt. Bij aardappel hebben we de afweging gemaakt tussen het blijven spuiten van meer dan 1.400 ton fungicide per jaar tegen *Phytophthora* enerzijds en een forse vermindering van die besputtingen door met cisgenese natuurlijke resistentie in de aardappel te brengen anderzijds. Onze voorkeur gaat duidelijk uit naar fors terugdringen van het bestrijdingsmiddelengebruik door toepassing van cisgenese. De kans op onvoorspelbare effecten van het spuiten met fungiciden en de klassieke veredeling zelf is minstens even groot als de kans op onvoorspelbare effecten van cisgenese.

Bij Greenpeace valt deze afweging anders uit, zoals recentelijk duidelijk in *de Volkskrant* (van 17 april) werd verwoord. Deze standpuntbepaling is een dubbele overwinning voor de chemische industrie, die hierdoor (i) gewasbeschermingsmiddelen kan blijven verkopen en wel in steeds grotere hoeveelheden, en (ii) het alleenrecht op GM-gewassen wereldwijd nog gemakkelijker in de hand zal kunnen houden. Chemische industrieën die zowel bestrijdingsmiddelen produceren als transgene rassen op de markt brengen, zijn de enigen die de hoge kosten van toepassing van de huidige regelgeving kunnen en graag willen blijven opbrengen. Deze kosten worden later in veelvoud op de prijs van het zaaizaad en het geproduceerde voedsel terugverdiend.

### Isolatie van resistentiegen uit wilde soort

#### De laatste stap in de 'map-based cloning method'

Onderstaande figuur geeft een voorbeeld van de laatste stap bij het isoleren van een resistentiegen via de 'map-based cloning method' uit de wilde soort *Solanum tuberosum*. Hier worden twee kandidaatgenen getest in de vatbare cultivar Desiree. Eén kandidaatgen (B1b25B-2-1) geeft de resistentiereactie. De andere kandidaat geeft geen resistentie, evenals de cultivar Desiree. De donorplant met het resistentiegen B1b 99-256-3 geeft ook een resistentiereactie. Dit bewijst dat het eerste kandidaatgen het echte resistentiegen is.



**Potato Genome Sequencing Consortium (PGSC)****Vruchtbare mondiale samenwerking met Europese bottleneck**

Er loopt een wereldwijd aardappelgenoomsequentie-consortium waarin Nederland mede de leiding heeft. Dit project levert op korte termijn tenminste 1 (allel) versie van alle aardappelgenen op. Deze vormen de basis voor onderzoek naar de functie van deze genen in de aardappelplant. Daarnaast kunnen deze genen als merker fungeren in merker gestuurde aardappelveredeling.

Maar zij vormen ook de basis van intragenese en cisgenese. Op deze wijze kunnen genen die resistentie geven tegen nematoden, virussen, bacteriën en oömyceten, in de aardappel worden ingebouwd. De klassieke aardappelveredeling zou hierdoor meer ruimte krijgen om zich te richten op meer complexe eigenschappen zoals droogteresistentie, waar later via cisgenese de noodzakelijke resistentiegenen aan toegevoegd zouden kunnen worden.

De regelgeving rond transgenese is in Europa erg ingewikkeld geworden door alle externe invloeden. Wij bevelen voor cisgenese het kwekersrecht aan. Dit heeft in de loop der jaren ook voldoende zekerheden voor cisgenese opgebouwd, zoals gesymboliseerd door het degelijke slot op de fiets, tegenover de complexe situatie van de EU-richtlijn 2001/18/EC voor transgenese



Van een milieubeweging mag worden verwacht dat die zich eerder inzet voor het milieu dan voor de bestrijding van theoretische risico's. Ten aanzien van genetische modificatie is Greenpeace echter een fundamentalistische groep geworden, die zich niet meer inzet voor een beter milieu, maar vecht tegen genetische modificatie bij gewassen. Zelfs waar genetische modificatie met planteigen genen een forse milieuwinst kan opleveren, blijft Greenpeace protesteren. Daarmee schiet deze organisatie haar doel voorbij, ten koste van het milieu. Wij zijn ervan overtuigd dat via cisgenese nieuwe en snellere strategieën kunnen worden ontwikkeld, strategieën die bijvoorbeeld op korte termijn een meer duurzame resistentie bevorderen. Bij vrijstelling van de GM-regelgeving zal cisgenese dan ook de agrobiodiversiteit niet beperken, maar bevorderen. Deze duurzame resistentie biedt ook ontwikkelingslanden meer kansen om de hoge opbrengstverliezen door gebrek aan bestrijdingsmiddelen aanzienlijk terug te brengen. De potentiële winst in ontwikkelingslanden biedt een zeer aantrekkelijk perspectief: opbrengstverhogingen van 50% of meer zijn mogelijk bij resistent gemaakte lokale aardappelrassen. Cisgenese maakt dit mogelijk als de regelgeving geen onnodige barricades blijft opwerpen.

**Gezondheid en humanitaire hulp**

In de jaren zestig en zeventig van de vorige eeuw is er veel bevolkingsonderzoek gedaan naar de effecten van consumptie van met *Phytophthora* geïnfecteerde aardappelen. In die periode vond de bewaring van geogste aardappelen in de winter vaak nog plaats op het veld, en niet in geklimatiseerde bewaarplaatsen, zoals tegenwoordig het geval is. Er bleek een herhaalbare associatie te bestaan tussen jaren met een *Phytophthora*-infectie en jaren met een verhoogde frequentie van geboortedefecten (neurale buis). Dit heeft het gebruik van fungiciden en het verbeteren van bewaringstechnieken enorm gestimuleerd. Hiermee werd één van de oorzaken van geboortedefecten in onze landen opgelost.

Door deze energieconsumerende, gekoelde bewaring levert zelfs de consumptie van biologische aardappels, die niet bespoten maar wel op tijd tijdens een *Phytophthora*-infectie afgedood worden, dit risico bij ons waarschijnlijk niet op. De situatie in ontwikkelingslanden is totaal anders. Afwezigheid van ziektebestrijding en geavanceerde bewaring levert hier wel het additionele risico van toename van geboortedefecten op. Dit is een andere reden waarom wij de keuze hebben gemaakt, cisgenese te ontwikkelen en deze voor aardappel-*Phytophthora* ook te koppelen aan humanitaire hulp.

**Geloofwaardigheid bij een dubbele agenda**

In het *Agrarisch Dagblad* van 17 april werd in een interview gesteld dat Wageningen Universiteit een dubbele agenda zou hebben met betrekking tot cisgenese. 'Google-analyse' van de aangever van deze woorden levert evenwel al snel het inzicht op dat hij zelf kennelijk met dubbele agenda's werkt. Betrokkene doet niet alleen forse, doch ongefundeerde uitspraken over ons in het *Agrarisch Dagblad*, maar vraagt ongeveer tegelijkertijd patenten in de GM-sfeer aan. En in een opiniërend artikel over intragenese (als uitbreiding van de klassieke plantenveredeling) schrijft hij, als mede-auteur, vereenvoudiging van de GM-regelgeving na te streven in samenwerking met een grote multinational in de Verenigde Staten, terwijl hij toch ook graag pleitbezorger wil zijn van het zuiver houden van de biologische plantenverdeling. Anders dan deze kritikaster met dubbele agenda geloven wij dat GM niet alleen in de Verenigde Staten, maar ook voor Europa zeer belangrijk is. Onze houding in Wageningen is eenvoudig. Wij voelen ons verantwoordelijk voor alle belangrijke vormen van land- en tuinbouw en vanuit onze Vakgroep Plantenveredeling bevorderen we daarom ook alle vormen van plantenveredeling die daarvoor van belang zijn. Dit is een aantal jaren geleden, bijvoorbeeld, uitgemond in het vestigen van een bijzondere leerstoel voor de Biologische Plantenveredeling (uniek in Europa) die niet door de biologische sector, maar door onszelf uit eigen zak gefinancierd wordt. Deze leerstoel verdient op korte termijn een tweede periode van vijf jaar. Als mede-initiatiefnemer van deze leerstoel nodigen wij financiers, biologisch of niet, hierbij uit deze tweede periode te helpen bekostigen. En laat men ophouden met kissebissen over theoretische risico's en dubbele agenda's. Aanvaard met ons dat multi-pele vormen van plantenveredeling tot veel meer duurzaamheid kunnen leiden, en maak onderzoek naar al deze vormen mogelijk.

*Prof.dr.ir. E. Jacobsen en dr.ir. H.J. Schouten zijn verbonden aan Wageningen Universiteit en Researchcentrum. De eerste is hoogleraar Plantenveredeling bij Wageningen Universiteit; de tweede is als onderzoeker moleculaire selectie werkzaam in Plant Research International.*