



**PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING**

Informatie bestemd voor het publiek.

Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Sector Bloembollen
Postbus 85
2160 AB Lisse
Nederland
Contactpersoon: Ir. A.F.L.M. Derks

Veldproef van beperkte omvang voor onderzoek naar de expressie van virusresistentie onder veld condities in genetisch gemodificeerde virusresistente lelies.

Europees Notificatienummer
B/BE/01/V1

Na advies van de Bioveiligheidsraad en de Sectie Bioveiligheid en Biotechnologie van het Wetenschappelijk Instituut voor Volksgezondheid - Louis Pasteur, heeft het Belgische Ministerie van Landbouw aan het Laboratorium voor Bloembollenonderzoek de toestemming verleend om de proefnemingen uit te voeren in het jaar 2001 zoals beschreven in de aanvraag B/BE/01/V1.

Dit programma zal uitgevoerd worden op een proeflocatie in Vlaanderen. Het zal uitgevoerd worden op het grondgebied van de gemeente Melle en de normale teeltperiode van lelie (*Lilium longiflorum*) volgen die loopt vanaf maand mei tot oktober 2001.

Verantwoordelijke te contacteren voor bijkomende informatie betreffende de proefnemingen:

Praktijkonderzoek Plant en Omgeving, Sector Bloembollen
Postbus 85
2160 AB Lisse
Nederland
Contactpersoon: Ir. A.F.L.M. Derks

0. Inhoudstafel:

0. INHOUDSTAFEL:	2
1. BESCHRIJVING VAN DE GENETISCH GEWIJZIGDE PLANTEN:.....	2
2. DOEL VAN DE PROEFNEMING:	3
3. VOORDELEN VOOR HET MILIEU, DE LANDBOUWER EN DE CONSUMENT:.....	3
4. BIOLOGIE EN LEVENSCYCLUS VAN DE GEBRUIKTE PLANT:.....	4
4.1. DE GEBRUIKTE PLANT ALS ONKRUID:	4
4.2. OVERLEVING EN VERSPREIDING VAN DE ZADEN:.....	4
5. MOGELIJKE EFFECTEN OF RISICO'S VOOR HET MILIEU:.....	5
5.1. UITKRUISSING EN INTREDE VAN NATUURLIJKE ECOSYSTEMEN:.....	5
5.2. INTERACTIES MET DOELORGANISMEN:.....	5
5.3. INTERACTIES MET NIET-DOELORGANISMEN:.....	5
5.4. IMPACT VAN GROOTSCHALIG EN LANGETERMIJN GEBRUIK:.....	5
6. INPERKINGS-, CONTROLE- EN OPVOLGINGSMAATREGELEN:	6
6.1. CONTROLE OP POLLENVERSPREIDING:	6
6.2. CONTROLE OP DE VERSPREIDING VAN TRANSGENE ZADEN:.....	6
6.3. NA-OOGST BEHANDELING:.....	6
7. OPVOLGING (MONITORING):	6
8. VERNIETIGING VAN TRANSGEEN MATERIAAL:.....	6
9. NOODSITUATIES:	7
10. INSPECTIE:.....	7
11. SOCIAAL-ECONOMISCHE ASPECTEN:.....	7

1. Beschrijving van de genetisch gewijzigde planten:

Beschrijving van de uitgangsplant

Familie: *Liliaceae*

Geslacht: *Lilium*

Soort: *longiflorum*

Cultivar: 'Snow Queen'

Triviale naam: lelie, kelklelie, paaslelie

Met behulp van biotechnologie (transformatie) zijn lelies gemaakt die in kasproeven resistent bleken tegen het Symptoomloos Lelievirus (LSV). In deze transgene lelies is een stukje erfelijk

materiaal (DNA) van het virus ingebouwd waardoor de planten resistent worden tegen het virus. Het nieuwe stukje DNA zorgt ervoor dat de plant het virus als lichaamsvreemd herkent en afbreekt. Dit heet resistentie.

Om tijdens het transformatieproces getransformeerd weefsel te kunnen onderscheiden van niet-getransformeerd weefsel, zijn ook zgn. 'selectiegenen' ingebouwd die ervoor zorgen dat het weefsel resistent wordt tegen een tweetal antibiotica. Nadat het nieuwe erfelijk materiaal in het plantenweefsel is gebracht, wordt het weefsel gekweekt in aanwezigheid van het antibioticum. Alleen het weefsel dat resistent is tegen het antibioticum (en dat dus ook virusresistent is) zal deze behandeling overleven.

Het is de vraag of deze antibioticumresistenties via de bodem of bij het verteren van het plantenmateriaal intact kunnen worden overgedragen naar ziekteverwekkende bacteriën (zgn. 'horizontale overdracht') in het maagdarmkanaal van mens en dier. Dat zou kunnen leiden tot toename van de resistentie van mens en dier en daarmee tot verminderde inzetbaarheid van antibiotica in de humane of veterinaire gezondheidszorg.

Dergelijke horizontale overdracht van planten naar bacteriën is in de natuur en bij de teelt van gewassen echter nooit onder methodologisch correcte omstandigheden aangetoond en de kans erop wordt als zeer gering ingeschat. Theoretisch zou een dergelijke overdracht echter kunnen voorkomen bij grootschalige commerciële toepassingen. Dat is in deze proef niet aan de orde.

2. Doel van de proefneming:

De proef heeft uitsluitend tot doel om te testen of de virusresistentie onder veldomstandigheden tot expressie komt. Er zijn ook al kasproeven uitgevoerd maar omdat in kasproeven de omstandigheden op het veld nooit precies kunnen worden nagebootst, is testen onder veldcondities noodzakelijk. De lelies zullen niet in de handel worden gebracht of op enige andere manier in het leefmilieu worden geïntroduceerd. Als de resistentie in voldoende mate tot expressie komt, is een mogelijke vervolgstap het opnieuw transformeren van een lelie waarbij dan alleen de virusresistentie wordt ingebouwd en geen selectiegenen.

3. Voordelen voor het milieu, de landbouwer en de consument:

Tijdens de teelt van lelies kunnen virusinfecties een aanmerkelijke opbrengstreductie en kwaliteitsvermindering veroorzaken. Aantasting door Symptoomloos Lelievirus (LSV) kan tot 20% oogstreductie leiden en de kwaliteit van snijlelies wordt sterk aangetast. LSV is met name een probleem omdat er van nature geen resistentie tegen dit virus voorkomt in lelies. Het is dus niet mogelijk om door het maken van kruisingen resistentie in het sortiment te introduceren. Het virus wordt verspreid door bladluizen. In de huidige teelt wordt de virusoverdracht voorkomen door bespuitingen met minerale oliën en synthetische pyrethroïden. Om een duurzame lelieteelt mogelijk te maken is het nodig om het gebruik van bestrijdingsmiddelen terug te dringen.

Virusresistente gewassen zijn daarvoor van groot belang omdat luizenbestrijding dan niet meer nodig is. Terugdringing van het gebruik van bestrijdingsmiddelen leidt tot een gezondere leefomgeving.

4. Biologie en levenscyclus van de gebruikte plant:

4.1. De gebruikte plant als onkruid:

L. longiflorum is inheems in Japan waar hij groeit in een maritiem, tropisch klimaat. Over de hele wereld wordt lelie geteeld als siergewas.

Lelie is een bolgewas en kan zich door middel van bollen (vegetatief) en via zaad (generatief) vermeerderen. Onder veldcondities maakt een leliebol 1-2 dochterbollen binnenin de moederbol. Ook kunnen kleine bolletjes worden gevormd langs de stengel, onder de grond en soms ook in de bladoksels. Er kunnen ook bolletjes worden gevormd op losse bolschubben. Verspreiding van bollen gaat zeer langzaam onder veldcondities, omdat dochterbollen in de moederbol worden gevormd. Er worden bijvoorbeeld geen stolonen gevormd (zoals bij aardappel). Verspreiding van de stengelbolletjes gaat zeer langzaam.

L. longiflorum 'Snow Queen' is in principe zelf-incompatibel. Dat wil zeggen dat er geen zaad wordt gevormd na zelfbestuiving. Alleen bij continu hoge temperatuur ($\pm 26^{\circ}\text{C}$) wordt heel af en toe zaad gevormd door zelfbestuiving. Deze condities zijn alleen te realiseren in de kas en doen zich niet voor op de locatie van het proefveld. Het stuifmeel wordt verspreid door insecten. Er komen waarschijnlijk wel sporadisch wilde verwanten van lelie voor in België. In Nederland en Duitsland komen twee verwante lelies, *L. bulbiferum* ('roggelelie') en *L. martagon* inheems voor (zeldzaam). Deze lelies komen waarschijnlijk ook sporadisch in België voor maar ze kunnen niet bevrucht worden door *L. longiflorum* en ze kunnen *L. longiflorum* ook niet bevruchten. De transgene planten verschillen in hun voortplantingsgedrag niet van niet-transgene planten.

Verspreiding van erfelijk materiaal via bollen of zaden is dus ofwel zeer langzaam (bollen) of uitgesloten. Overigens is bloei niet nodig voor het testen van virusresistentie en in de veldproef zullen alle bloemknoppen worden verwijderd.

4.2. Overleving en verspreiding van de zaden:

Hoewel het zeer onwaarschijnlijk is dat er zaad gevormd zal worden, zou zaad kunnen ontkiemen onder de condities op het proefveld. Verspreiding van het zaad is passief en de overlevingskans van de kiemplantjes wordt sterk gereduceerd wanneer geen maatregelen worden getroffen om de groei te stimuleren (temperatuur en vocht) of ziekteverwekkers te bestrijden.

Transgene planten verschillen hierin niet van niet-transgene planten.

5. Mogelijke effecten of risico's voor het milieu:

5.1. Uitkruising en intrede van natuurlijke ecosystemen:

- Verspreiding van transgeen pollen:

Voor het testen van virusresistentie is het niet nodig de planten tot bloei te laten komen. Bloei wordt voorkomen door alle bloemknoppen voor opengaan af te plukken en te vernietigen. Er worden ongeveer 1200 bolletjes geplant op een oppervlak van 20 vierkante meter. De meeste daarvan zullen vanwege hun te kleine maat niet bloeien. Tijdige verwijdering van de knoppen is dus geen probleem. Transgeen pollen zal zich dus niet kunnen verspreiden.

- Verspreiding van transgene zaden:

Omdat alle bloemknoppen zullen worden vernietigd zal er ook geen zaad worden gevormd.

- Selectief voordeel:

Verspreiding van lelie gaat zeer langzaam, omdat nieuwe bollen in de moederbol worden gevormd. Verspreiding kan eenvoudig voorkomen worden door evt. opslag in het proefveld in volgende jaren te vernietigen. Bolletjes kunnen niet gedurende een aantal jaar in een ruststadium in de grond aanwezig blijven zonder op te komen.

5.2. Interacties met doelorganismen:

De van nature rondvliegende bladluizen die voor overdracht van het virus zorgen, verspreiden daarbij niet het genetisch materiaal dat door de transformatie in de planten is gebracht.

5.3. Interacties met niet-doelorganismen:

De transgene planten vormen geen risico voor de volksgezondheid. Het ingebrachte erfelijk materiaal codeert niet voor schadelijke componenten. Eventuele vraat van de planten zal dus ook geen nadelige gevolgen hebben voor het vretende organisme.

Er zijn geen van nature voorkomende onkruiden die bevrucht of verdrongen kunnen worden door de lelies.

5.4. Impact van grootschalig en langetermijn gebruik:

Zoals eerder is aangegeven, is het doel van deze proef uitsluitend om te onderzoeken of de virusresistentie onder veldcondities tot uitdrukking komt, opdat de transgene planten geteeld kunnen worden zonder toepassing van bestrijdingsmiddelen.

6. Inperkings-, controle- en opvolgingsmaatregelen:

6.1. Controle op pollenverspreiding:

Alle bloemknoppen zullen voor opengaan worden verwijderd. De bloemknoppen van lelie zijn groot en kunnen makkelijk worden verwijderd. Er zal dus geen pollenverspreiding plaats vinden. Er worden in de wijde omtrek van het proefveld geen lelies geteeld.

6.2. Controle op de verspreiding van transgene zaden:

Zie 6.1.

6.3. Na-oogst behandeling:

De bollen worden geplant in plastic containers van waaruit geen verspreiding mogelijk is. Tijdens het groeiseizoen worden tweemaal bladmonsters genomen om te toetsen op aanwezigheid van het virus. De bollen met wortels worden aan het eind van het groeiseizoen (Oktober) allemaal geoogst en gebruikt om te toetsen op aanwezigheid van virus. Al het bladmateriaal wordt bij de oogst vernietigd. De toetsen worden uitgevoerd bij PPO in Nederland. Transport van het plantmateriaal zal volgens de voorgeschreven regels gebeuren.

7. Opvolging (monitoring):

Het veld zal bespoten worden met Round-up om eventueel achtergebleven plantenresten te vernietigen. In de opvolgteelt zullen Buddleja, Sier Malus, Hydrangea en rozen worden geteeld. Het veld zal gedurende enkele jaren gecontroleerd worden op opslag van lelies uit bolletjes die niet meegeoogst zijn. De kans dat bolletjes niet worden geoogst is echter zo goed als uitgesloten (zie 6.3.). Evt. opslag zal vernietigd worden door autoclaveren.

8. Vernietiging van transgeen materiaal:

De geoogste bollen met wortels worden gebruikt om te testen op aanwezigheid van het virus. Deze testen zullen plaatsvinden in Nederland. Blad- en stengelmateriaal van de transgene planten en van de niet-transgene controle planten zal worden vernietigd door middel van autoclaveren. .

9. Noodsituaties:

Het veld zal tijdens het groeiseizoen regelmatig gecontroleerd worden door Belgische en Nederlandse onderzoekers. In uitzonderlijke gevallen kunnen de planten effectief vernietigd worden door bespuiting met een geschikt herbicide.

10. Inspectie:

De Inspectie-generaal der Grondstoffen en Verwerkte producten van het Ministerie van Middenstand en Landbouw is in België belast met de controle van veldproeven met transgene planten. Ten einde haar controles te plannen is de kennisgever verplicht op voorhand de bevoegde dienst te informeren over de zaai- en oogstdatum. Op het terrein waken controleurs erover dat de zaai- en oogstbewerkingen overeenstemmend de ministeriële toelating en de verschillende protocols uitgevoerd worden. Daarnaast nemen de controleurs stalen van het plantaardig materiaal die in officiële laboratoria geanalyseerd worden.

11. Sociaal-economische aspecten:

(Zie ook punt 3 van dit dossier).

Er komt van nature geen resistentie tegen het Symptoomloos Lelievirus virus voor. Het is dus niet mogelijk om door het maken van kruisingen resistentie te introduceren in het leliesortiment. Het is echter van groot belang voor het milieu en de volksgezondheid om het gebruik van bestrijdingsmiddelen te reduceren. Virusresistente lelies zijn een belangrijk hulpmiddel om duurzame lelieteelt mogelijk te maken en LSV-resistentie kan alleen met behulp van moderne biotechnologie worden geïntroduceerd.
