



AANTEKENEN

ZIENSWIJZE EN BEZWAARSCHRIFT

Ook te lezen op <http://www.gentechvrij.nl/appel.html>
per e-mail verzonden aan BGGO@rivm.nl

Lelystad, 27 april 2011.

De Staatssecretaris van IenM

De heer J. Atsma

T.a.v. RIVM/SEC/Bureau GGO

Postbus 1

3720 BA Bilthoven

Geachte meneer Atsma,

Betreft; aanvulling zienswijze (zie voor de zienswijze bijlage 2), bedenkingen en bezwaar tegen:

de ontwerpbeschikking behorend bij kenmerk PorM/RB IM 10-005.

Vergunningsaanvraag Stichting DLO

Op 02-11-2010 heeft het Ministerie van Infrastructuur en Milieu (hierna: IenM) van Stichting DLO te Wageningen een vergunningsaanvraag op grond van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer (hierna: Besluit ggo) ontvangen voor introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen. De aanvraag is geregistreerd met het kenmerk PorM/RB IM 10-005. De aanvraag betreft kleinschalige werkzaamheden met bloeiende genetisch gemodificeerde schurftresistente appelbomen. De werkzaamheden zijn voorgenomen plaats te vinden in de gemeente Wageningen.

Op grond van het Besluit ggo dient de Staatssecretaris van IenM, in overeenstemming met de Staatssecretaris van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie op deze aanvraag te beslissen. Advertentie.

Ons bezwaar luidt:

Wij verzoeken deze proeven niet toe te staan omdat er antibioticumresistentiegenen worden gebruikt bij het manipuleren van deze appelbomen. De mogelijke aanwezigheid (ondanks de mededeling dat dit niet het geval kan zijn, we zijn door die mededeling toch niet gerustgesteld) van het *npdIII* gen in de gg-appelbomen zou er voor kunnen zorgen dat dit gen door HGT naar micro-organismen kan worden overgedragen. Daardoor zou het antibioticum (met name Kanamycine en nog 7 andere antibiotica, nl. Neomycine, Paromomycine, Ribostamycine, Lividomycine, Butirosin, Gentamycine en Isepamicine, Kanamycine is zo belangrijk omdat het, o.a. het laatste redmiddel bij TBC is), op termijn niet meer toegepast kunnen worden. De EU verbiedt

deze genen dan ook en het wordt tijd dat Nederland de RICHTLIJN 2001/18/EG VAN HET EUROPEES PARLEMENT EN DE RAAD volledig implementeert. Bloeiende gentech appelbomen vinden wij voorts een bedreiging voor de biodiversiteit.

Het gros van de wetenschappers wil ons doen aannemen dat onze planten en dieren maakbaar zijn. Dat ze kunnen gereduceerd worden tot cellen, moleculen, atomen en DNA structuren. Dat onze gewassen en verschillende rassen van huisdieren geen onlosmakelijk onderdeel zijn van onze boerderijen, maar dat ze bij voorkeur moeten 'veredeld' worden in een labo, in steriele omstandigheden, door mensen met een witte jas aan en een doekje voor de mond.....

(fragmenten van Johan D'hulster et al , <http://www.dewereldmorgen.be/artikels/2011/02/22/wij-moeten-uw-genetisch-gewijzigde-organismen-ggos-niet>).

De introductie van GMO's is in strijd is met artikel 1, 1^e protocol EVRM. En in strijd met het internationale verdrag van Burgelijke en Politieke rechten (BuPo).

http://nl.wikipedia.org/wiki/Internationaal_verdrag_inzake_burgerrechten_en_politieke_rechten

Art. 1 Eerste Protocol EVRM: het recht op ongestoord genot van eigendom.

De introductie van GMO's is in strijd is met artikel 5 EVRM.

Art. 5

Recht op vrijheid en veiligheid

1. Een ieder heeft recht op vrijheid en veiligheid van zijn persoon. Niemand mag zijn vrijheid worden ontnomen, behalve in de navolgende gevallen en overeenkomstig een wettelijk voorgeschreven procedure: etc.

De introductie van GMO's is in strijd is met artikel 8 EVRM.

Art. 8

Recht op eerbiediging van privé-, familie- en gezinsleven.

1. Een ieder heeft recht op respect voor zijn privé leven, zijn familie- en gezinsleven, zijn woning en zijn correspondentie.

http://nl.wikisource.org/wiki/Europees_Verdrag_voor_de_Rechten_van_de_Mens#Artikel_1_-_Verplichting_tot_eerbiediging_van_de_rechten_van_de_mens

Toelichting:

Wij verwijzen naar ons bezwaar en beroepschrift tegen IM 10-006 en u gelieve dat als ingelast en herhaald te beschouwen. Zie hiervoor:

<http://www.gentechvrij.nl/aarddlo.html>

Toelichting op:

Bloeiende gentech appelbomen vinden wij voorts een bedreiging voor de biodiversiteit.

Eenmaal losgelaten in het milieu kan een gentech organisme zich onbeperkt voortplanten, dit zou een verlies aan soorten rijkdom teweeg kunnen brengen. Kijk maar naar koolzaad in Canada, daar is geen klassiek koolzaad meer te krijgen.

Imkers vrezen voor besmetting van hun honing en producten die daar aan verwant zijn. Wij verwijzen daarbij naar de zaak C-442/09 Karl Heinz Bablok e.a. / Freistaat Bayern.

Hobby-Imker Karl Heinz Bablok mag zijn besmette honing en honingproducten niet meer verkopen en heeft dat aanhangig gemaakt bij het Hof van Justitie, de zaak loopt nog.

De Freistaat Bayern (Duitse deelstaat Bayern) is eigenaar van een aantal gronden waarop in de voorbije jaren voor onderzoeksdoeleinden MON 810-maïs werd aangeplant. K. Bablok is een hobbyimker die in de nabijheid van de gronden van de Freistaat Bayern honing produceert voor de verkoop en voor eigenverbruik. Vroeger produceerde hij tevens stuifmeel voor de verkoop als levensmiddel in de vorm van voedingssupplementen. In 2005 werden MON 810-DNA en genetisch gemodificeerde eiwitten aangetroffen in het maïsstuifmeel dat door Bablok werd geoogst in bijenhuizen op 500 meter afstand van de gronden van de Freistaat Bayern. Daarnaast werden ook in enkele stalen honing van Bablok zeer geringe hoeveelheden MON 810-DNA aangetroffen. Van mening dat zijn imkerijproducten als gevolg van de residuen van de genetisch gemodificeerde maïs niet meer in de handel mochten worden gebracht en niet meer geschikt waren voor consumptie, heeft Bablok bij de Duitse rechterlijke instanties een zaak tegen de Freistaat Bayern aanhangig gemaakt. Het Bayerische Verwaltungsgerichtshof verzoekt het Hof van Justitie om een antwoord op de vraag of die imkerijproducten als gevolg van de aanwezigheid van genetisch gemodificeerd maïsstuifmeel „aanzienlijk zijn aangetast" in die zin dat zij slechts in de handel mogen worden gebracht wanneer daarvoor een vergunning is verleend. Fragment van het Hof van Justitie en uit:

<http://www.nieuwsbank.nl/inp/2011/02/09/R117.htm> Zie bijlage 3.

In haar advies van 14 december 2010 (CGM/101214-01) concludeerde de COGEM dat de aangevraagde werkzaamheden voldoen aan de eisen voor een categorie 2 veldproef, waarbij geen isolatieafstand gehanteerd hoeft te worden. De aanvrager heeft op 25 februari 2011 zijn aanvraag aangepast conform een categorie 2 veldproef aanvraag. Hierbij is een nieuwe locatiekaart aangeleverd, die voldoet aan de locatievereisten van deze categorie veldproef. De aanvraag is daarom in behandeling genomen als een categorie 2 veldproef.

Opmerking 1: De kaarten zijn in zwart-wit en men kan niet zien waar het proefveld precies is.

Interacties met andere organismen

Appelbomen maken deel uit van een complexe levensgemeenschap. Talloze verschillende soorten insecten, mijten, schimmels, bacteriën, virussen, nematoden, vogels, knaagdieren etc. leven op en rond de appelboom en zijn in meer of mindere mate geassocieerd met de appelboom. Voor zover bekend bevinden zich onder deze associaties geen interacties met organismen die totaal afhankelijk zijn van de appelboom.

*Uit de onderhavige aanvraag blijkt dat op de backbone van de vectoren die zijn gebruikt voor de genetisch modificatie het antibioticum-resistentiegen nptIII gelegen is. **Genen van de vector backbone worden normaliter niet in de plant geïntegreerd, maar dit kan echter niet worden uitgesloten.** De aanvrager heeft gegevens aangeleverd dat het nptIII gen niet aanwezig is in de genetisch gemodificeerde appelbomen.*

Opmerking 2: Zijn die gegevens wel representatief?

4.5. informatie over plannen voor beheersing, controle, follow-up en afvalbehandeling

Alle snoeiafval en appels worden verzameld en -na beoordeling- afgevoerd ter vernietiging.

Tijdens de proef zullen verschillende aspecten worden geobserveerd (zoals algemene kenmerken, mogelijke opslag uit wortels en gevoeligheid voor ziekten), zoals vermeld in het door de aanvrager bij de aanvraag

beschreven monitoringplan. Na afloop van het experiment worden de bomen gerooid, verhakseld en vernietigd.

Het jaar erna wordt gecontroleerd op opslag, gevolgd door onkruidbestrijding.

Opmerking 3: Gelukkig geen vervoeding!

Het meest schadelijke gevolg van de onderdrukking van het doelwitorganisme, de ziekteverwekker *V. inaequalis*, kan zijn dat de populatiegrootte van dit organisme lokaal wordt verlaagd door de genetische gemodificeerde appelbomen

Er is overwogen dat er een effect kan zijn op niet-doelwitorganismen. Het meest schadelijke gevolg van de onderdrukking van niet-doelwitorganismen, waaronder insecten, kan zijn dat de populatiegrootte van deze

organismen lokaal wordt verlaagd. **Dit zou kunnen leiden tot effecten op het voedselweb rond de appelbomen.**

Mogelijke effecten op mens en dier kunnen zijn dat als gevolg van het HcrVf2 genproduct een toxische of allergische reactie optreedt bij mensen die hiermee in contact komen of bij dieren die de appels eten. Het meest schadelijke effect hiervan is dat mensen en dieren als gevolg hiervan ziek kunnen worden.

Mogelijke effecten op micro-organismen kunnen zijn dat als gevolg van de HcrVf2- genproducten de bodemmicroflora zou kunnen veranderen. In het meest schadelijke geval zou dit kunnen leiden tot een verandering in biogeochemische cycli.

Opmerking 4: Dit vinden we zorgelijk!

We lezen in de ontwerpbeschikking van IM 10-005:

*Uit de onderhavige aanvraag blijkt dat op de backbone van de vectoren die zijn gebruikt voor de genetisch modificatie het antibioticum-resistentiegen nptIII gelegen is. **Genen van de vector backbone worden normaliter niet in de plant geïntegreerd, maar dit kan echter niet worden uitgesloten. De aanvrager heeft gegevens aangeleverd dat het nptIII gen niet aanwezig is in de genetisch gemodificeerde appelbomen.***

Vraag:

Waarom heeft de COGEM geen aanvullende gegevens opgevraagd van de diverse gentech aardappelsoorten van IM 10-006, het advies van de COGEM is notabene later geschreven dan dat van IM 10-005! Dit is inconsequent!

ISIS Report 17/03/08

Transgenic Lines Unstable hence Illegal and Ineligible for Protection

New evidence may pull the plug on GMOs. [Dr. Mae-Wan Ho](#)

A [fully referenced version](#) of this article is posted on ISIS

members' website. [Details here](#)

An electronic version of this report, or any other ISIS report, with full references, can be sent to you via e-mail for a donation of £3.50. Please e-mail the title of the report to: report@i-sis.org.uk



Transgenes unstable in more ways than one

Transgene instability has been known at least since 1994 [1] (reviewed in [Genetic Engineering Dream or Nightmare](#), p.140), though it is seldom, if ever, reported in the popular media. Transgenes (the synthetic foreign genes transferred into the genetically modified organism (GMO)) can become silent or inactive during growth and development of the GMO, or in its progeny. This has been attributed to defence mechanisms that silence genome invaders such as viruses. But transgenes can also stop working on account of structural factors intrinsic to the transgenic DNA inserted into the genome of the GMO [2] (reviewed in [Living with the Fluid Genome](#), pp. 128-135). Transgenic DNA has been artificially constructed by stitching together synthetic copies of DNA from different sources, and often contain additional weak points that tend to break and rejoin (recombination hotspots). The most widely used cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter is associated with such a recombination hotspot [3], as we have warned [4-6]. Transgenic constructs are also designed with ends that can break into genomes such as the repeated sequences of viral vectors, and the left and right borders of the T-DNA of *Agrobacterium*, widely used as a vector. These ends too, are recombination sequences, and facilitate movement of the transgenic DNA within as well as between genomes. For more details see [7] ([Horizontal Gene Transfer from GMOs Does Happen](#), *SiS* 38)

Transgene instability makes transgenic varieties illegal and ineligible for patent protection

During the transformation process that creates the GMO, the transgenic construct tends to undergo deletions, duplications, and rearrangements, integrating at unpredictable sites in the host cell genome, causing widespread damage both at and away from the site(s) of integration. The precise configuration of the DNA integrated, the site(s) of insertion, and the particular collateral damages done to the host genome are therefore specific for each transgenic 'event'. Each 'event' is a single cell

that has integrated transgenic DNA and from which a transgenic plant is generated, which is then bred through a number of generations to give a transgenic line.

However, the particular cell may have integrated one to hundreds of copies of the transgenic construct in a variety of different rearranged, deleted, and duplicated configurations, and at more than one site (locus) in its genome. Complex transgenic loci (containing multiple rearranged or partial copies of the transgenic construct) are very unstable and tend to rearrange further or become lost in subsequent generations. Proponents claim that unstable events will be eliminated through stringent selection, and only those lines that have single stable inserts will reach the market.

Unfortunately, that does not seem to be the case, evidence of transgene instability has emerged in transgenic varieties that has been commercialised and grown in more than one countries for years [8] ([MON810 Genome Rearranged Again](#), *SiS* 38)

To qualify for commercial release in Europe, for patent protection in Europe and the United States, and other protection under the UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants) Convention [9], a transgenic line must be distinct, uniform and stable (the DUS test). *It is likely that none of the transgenic varieties that have been commercially released passes the DUS test, which makes them both illegal and ineligible for patent protection.* But our regulators have been bending, if not breaking the law so far in failing to withdraw commercial approval [8].

Transgene instability is a serious safety issue

Transgene instability is a serious safety issue, as it not only changes the very nature of the transgenic plant, but also increases the likelihood that the transgenic DNA could spread horizontally to the genomes of cells of unrelated species by direct uptake of the DNA [7].

According to a review published in 2004 [10], the loss of transgenes during reproduction occurs at a frequency of 10 to 50 percent of transgenic plants, regardless of whether they are produced by *Agrobacterium*-mediated or particle bombardment transformation. The transgene may be lost or deleted in part, or else rearranged or moved to another location in the genome. Transgene instability appears to depend on the nature of the transgene, the host genome, and the site of integration, and not

on the transformation method. There may be integration hotspots in the genome that are inevitably also disintegration hotspots, as revealed by experiments in 'gene therapy' [11] ([Gene Therapy Risks Exposed](#), *SiS* 19), which creates transgenic human cells, and confirmed in large scale analysis of transgenic loci in plants [12] and in the common carp [13].

In plants, transgene loci resulting from all transformation systems (except for homologous recombination) exhibit short sequence homologies between the integrated transgenic DNA and flanking genomic sequences of 1 to 8 bp, and between the rearranged transgene fragments [12]. Transgenes tend to be integrated into gene-rich regions, and reduced in the centromeric regions of chromosomes. They also show propensity for AT-rich regions and at transitions between normal base composition to a poly-T or A-rich region. These 'hotspots' for integration may be sites that tend to be exposed and break more often, and hence also hotspots for disintegration. Another reason for transgenic instability is the transgenic process itself, which may destabilise the genome by causing genome scrambling and chromosomal abnormalities.

Transgene instability is now widely reported in the scientific literature, and some examples are given below.

Transgene complexity and instability in the common carp

Researchers analysed two individuals of a carp transgenic line with a human growth hormone gene. The line had been selected and bred to the fourth generation after transformation, when all the fish showed the transgenic trait [13]. Each individual fish was found to contain about 200 copies of the transgene integrated at 4-5 sites, generally with repeats in a head-to-tail arrangement. A total of 400 copies of transgenes recovered from the two individuals fall into 6 classes, which differed somewhat between the two fish, indicating that the transgenic line was by no means uniform. The copies were either complete or partial transgene sequences. The major class 1, which comprised about 73 percent of clones from the two fish showed the original configuration. The other five classes were different from the original configuration in both molecular weight and restriction map, indicating that a proportion of the transgenes had undergone mutation, rearrangement or deletion during integration and reproduction. In three of the five types of aberrant transgenes in fish A, the flanking sequence of the host genome were identified as the carp β -actin gene, and carp DNA sequences homologous to mouse phosphoglycerate kinase-1 and human epidermal keratin 14

respectively.

Due to the limitation of the analytical method, those transgenes that had lost the plasmid replicon (replicating signal) or ampicillin resistance region could not be recovered, and this resulted in the underestimation of transgene classes.

Transgene instability in apple trees during vegetative propagation

Apple cultivars were transformed using *Agrobacterium* as vector to increase resistance to diseases like powdery mildew, apple scab and fire blight [14]. A total of 64 plants of 15 different transgenic apple lines were transferred to the greenhouse, half of them grown as own rooted trees, and half grafted in different non-transgenic scion-rootstock. When tested after an unspecified time, 22 of the plants (34 percent) lost one or both genes. In the rest, four plants did not express the antibiotic marker gene, one had lost its promoter and in other three, the promoter was silenced by methylation.

However, plants that appear to have retained the transgene(s) may have only done so in part, as demonstrated in another experiment. Twenty-six lines carrying the attacin E gene from *Hyalophora cecropia*, the β -glucuronidase (*gus*) gene and the *nptII* gene were propagated vegetatively *in vitro* without selective agents for 4 years (50 generations) and then analysed [15]. Neither expression nor integration remained stable in some lines, differences were found between plants of a single line and several plants were chimaeras of expressing and non-expressing cell clones. For example, twenty-three lines kept all three genes (at least in some of the plants). One line lost *gusA* and two lines lost all genes. Low levels of *nptII* expression were found in 12 lines, increased expression in 10 lines and only two had the same level of protein expression. Stable expression of *gus* was found in eight lines, though some plants were mosaics of cells that expressed the gene and cells that did not, Two lines had no activity at all, even though one had the gene. In three further lines, isolated blue spots of cells with gene expression were found against an overall white background of non-expressing cells.

Systematic and repeatable transgene elimination

Researchers in Brazil identified a remarkable systematic

elimination of transgenes in a transgenic dry bean and a transgenic soybean at reproduction [16]. The dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) line was obtained by particle bombardment with plasmid pMD4 containing the *gus* gene and the rep-trap-ren genes from bean golden mosaic geminivirus, both under the control of the CaMV 35S promoter, to make it immune to the virus. The soybean line was transformed with another plasmid pAG1 that contains a different combination of genes: the *gus* gene under the control of the *act2* promoter and the *ahas* (acetoxyacid synthase) gene under the control of its promoter from *Arabidopsis thaliana*. In both, the transgenes were stable during the vegetative phase, but were eliminated during meiosis, the cell division that makes germ cells.

The transgenic bean line contains at least 3 copies of the transgenes integrated at three separate loci (sites). None of the copies were transferred to the progeny by self-crossing or reciprocal crosses to untransformed plants. Not a single progeny plant inherited any transgene locus. This phenomenon was systematically repeated for over two years in plants propagated by grafting (20 progenies of more than 300 plants from self-pollination, and 10 progenies of more than 100 plants from reciprocal crosses to untransformed plants).

Analysis of the host genome flanking the transgene inserts revealed that one integrated plasmid disrupted a ribosomal RNA gene while another was integrated into a sequence with no significant homology to known sequences. The third integrated sequence could not be isolated because it lacked the necessary plasmid sequence.

The same phenomenon occurred in the soybean transgenic line.

Several mechanisms have been suggested for the systematic elimination of transgenes, including intrachromosomal recombination, genetic instability resulting from tissue culture, and elimination of transgenes triggered by a process of genome defence against invading viruses.

The outstanding question is what became of the eliminated transgenes? Is it possible that the transgenic DNA could be transferred horizontally to bacteria in and on the plant, or to insects, or via insects to other plants?

While attention has focussed on horizontal transfer of transgenic DNA to bacteria, it may be that eukaryotic genomes are more promiscuous in accepting foreign DNA [7, 12] and hence better

recipients for horizontal gene transfer, particular for transgenic DNA designed to invade genomes.

The Institute of Science in Society

For email enquiries please see our [contact](#) details

MATERIAL ON THIS SITE MAY NOT BE REPRODUCED IN ANY FORM WITHOUT EXPLICIT PERMISSION. FOR PERMISSION, PLEASE CONTACT enquiries@i-sis.org.uk

<http://www.i-sis.org.uk/transgenicLinesUnstable2.php?printing=yes>

Met toestemming overgenomen. Als ingelast en herhaald te beschouwen.

Wij dringen er bij u op aan, alsnog negatief te beslissen op de aanvraag van IM 10-005.

Hoogachtend,

Miep Bos, ook namens Wieteke van Dort, Stichting VoMiGEN, en De Gentechvrije Burgers, Europees Consumentenplatform (= the European GMO-free Citizens, waarvan ik woordvoester ben).

Lelystad

miep@gentechvrij.nl

www.gentechvrij.nl

CC Tweede Kamer per e-mail

Media per e-mail

Bijlage 1. Machtiging VoMiGEN

Bijlage 2. 53 Handtekeningen

Bijlage 3. Hobby-Imker Karl Heinz Bablok mag zijn besmette honing en honigproducten niet meer verkopen en heeft dat aanhangig gemaakt bij het Hof van Justitie, de zaak loopt nog.



Bijen maar ook vliegen en hommels, kunnen kilometers ver vliegen en zo gentechpollen meenemen en verspreiden.

Dit bezwaar is na 10 mei 2011 te lezen op <http://www.gentechvrij.nl/appel.html>