

## KENNISGEVING GGO-VELDPROEFAANVRAAG

### Publiek dossier

#### A. ALGEMENE INFORMATIE

1. Kennisgever VIB  
Suzanne Tassierstraat 1  
9052 GENT  
Tel.: 09 2446611  
e-mail: vib@vib.be

#### 2. Verantwoordelijke wetenschapper(s)

Verantwoordelijke wetenschapper:

Prof.dr. Wout Boerjan  
VIB-UGent Centrum voor Plantensysteembioogie  
Technologiepark 927  
9052 GENT

Bioveiligheidscoördinator: Ir. René Custers  
VIB  
Suzanne Tassierstraat 1  
9052 GENT

#### 3. Titel van het project

***Veldevaluatie van populieren met een verminderd lignine gehalte***

#### B. BESCHRIJVING VAN HET GGO

De genetisch gewijzigde populieren hebben een gewijzigde houtsamenstelling. Hout bestaat van nature uit cellulose, hemicellulose en lignine. In deze gemodificeerde bomen is de hoeveelheid lignine doelbewust verlaagd en is als gevolg daarvan het aandeel cellulose verhoogd. Lignine is een complexe polymeer die verweven zit met de cellulose- en hemicellulosevezels in het hout. In de plant zijn bij de vorming van de basisgrondstoffen voor lignine heel wat verschillende enzymen betrokken. Eén van die enzymen is TRA2 (Transaldolase 2). De instructie voor de aanmaak van dit enzym ligt gecodeerd in het DNA van de plant. Deze instructie wordt ook wel een 'gen' genoemd. In de genetisch gewijzigde planten is een kleine wijziging in het DNA doorgevoerd (een 'mutatie') die ervoor zorgt dat het enzym niet meer functioneel is. Het gevolg is dat er minder lignine en iets meer cellulose wordt aangemaakt. De mutatie is gerealiseerd met behulp van het zogenoemde CRISPR-CAS systeem waarmee heel doelgericht kleine wijzigingen in het DNA kunnen worden geïntroduceerd.

De genetische wijziging is aangebracht in de populierensoort grauwe abeel. Grauwe abeelen bestaan in een mannelijke en een vrouwelijke variant. De modificatie is in dit geval aangebracht in vrouwelijke bomen. Deze bomen maken geen mannelijke bloemen en kunnen daarom geen stuifmeel produceren. De grauwe abeel is een populierensoort die je niet zo veel ziet. Hij is herkenbaar aan zijn mooie grauwgrijze bast en zijn in vergelijking met andere populierensoorten iets rondere kroon.



Foto: bast van een grauwe abeel



Foto: grauwe abeel

In de veldproef zullen twee genetisch gewijzigde 'lijnen' worden uitgetest die elk dezelfde modificatie hebben ondergaan.

### C. HET ONDERZOEKSKADER

De veldproef vindt plaats in het kader van onderzoek naar de moleculaire mechanismen van complexe polymeervorming in planten. Eén onderzoekslijn hierin betreft het onderzoek naar de mogelijkheden van genetisch gewijzigde populieren die aangepast zijn in de aanmaak van lignine als grondstof voor biogebaseerde producten en bio-energie.

Het onderzoek naar biogebaseerde producten en bio-energie wordt gemotiveerd door de noodzaak om een oplossing te vinden voor de klimaatopwarming. De belangrijkste oorzaak van klimaatopwarming is de uitstoot van broeikasgassen zoals CO<sub>2</sub>. Het verlagen van het energiegebruik en het verlagen van de uitstoot van CO<sub>2</sub> zijn belangrijke methoden om de klimaatopwarming af te remmen. De overschakeling van op petrochemie gebaseerde producten naar hernieuwbare, biogebaseerde producten kan hierin een rol spelen.

Bomen spelen voor een deel vandaag al een rol in de biogebaseerde economie. Hout wordt immers in verschillende vormen gebruikt voor de opwekking van energie. Hout is ook bijzonder geschikt als grondstof voor andere producten. Het is met name de cellulose en de hemicellulose die interessant zijn. Cellulose en hemicellulose zijn suikerpolymeren en die suikers kunnen omgezet worden in allerlei interessante producten zoals bioplastics en biobrandstof. Er is echter een nadeel aan hout als grondstof voor deze producten. De aanwezige suikers zijn er immers moeilijk uit te halen. Dit wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van lignine. Die zit letterlijk in de weg als je de cellulose en hemicellulose met behulp van enzymen wilt omzetten in suikers. Een verlaging van de hoeveelheid lignine kan bijdragen tot een verbeterde omzetting van het hout naar suikers.

Er wordt vandaag discussie gevoerd over wat de beste grondstoffen zijn om de biogebaseerde economie op te laten draaien. Vandaag worden nog altijd veel voedselgewassen gebruikt, denk aan suikerriet en mais, om bijvoorbeeld biobrandstoffen te maken. Het gebruik van voedselgewassen voor de productie van hernieuwbare producten en brandstof betekent dat die gewassen niet meer als voedsel gebruikt kunnen worden. Ze concurreren dus met de voedselproductie en dat kan de voedselprijzen onder druk zetten. Bomen nemen natuurlijk ook plaats in, maar in principe kunnen ze ook groeien op plaatsen waar je niet of niet op een efficiënte manier voedsel kunt verbouwen. En bomen kunnen per hectare per jaar ook meer suikerpolymeren vormen dan veel andere gewassen. Zeker in hun jonge jaren kunnen bomen op een heel efficiënte en effectieve manier CO<sub>2</sub> vastleggen. Het is om die redenen dat het onderzoek met de bomen wordt uitgevoerd.

#### **D. AARD EN DOEL VAN DE DOELBEWUSTE VRIJZETTING**

Het doel van de veldproef is na te gaan of genetisch gewijzigde populieren, aangepast in de aanmaak van lignine, onder reële praktijkomstandigheden een biomassa produceren die op een veel efficiëntere manier kan worden omgezet naar glucose. Het doel van de proef is daarmee vergelijkbaar met twee eerdere veldproeven die hebben plaatsgevonden in Zwijnaarde en Wetteren. Het verschil zit hem in de bomen in de proef. De nieuwe bomen zijn op een ander punt in de aanmaak van het lignine gewijzigd en gehoopt wordt dat deze bomen niet alleen hout produceren dat gemakkelijker afbreekbaar is, maar dat de bomen in het veld net zo goed groeien als niet gemodificeerde bomen.

Er zullen twee genetisch gewijzigde lijnen en één controlelijn worden uitgetest, met van elk 48 bomen die in zogenoemde korte omloopvegetatie zullen worden uitgeplant. Dit betekent dat de bomen veel dichter op elkaar worden geplant dan bij een normaal bos het geval is. En de bomen worden ook zodanig in rijen geplant dat de bomen machinaal kunnen worden geoogst zonder dat de stronken beschadigd worden. Het planten van de bomen zal in het late voorjaar van 2024 plaatshebben. In de winter van 2024/2025 zullen de bomen worden afgeknipt, waarna ze in 2025 met meerdere takken zullen uitspruiten (zoals na het knotten van een wilg). Na drie achtereenvolgende groeiseizoenen zullen de bomen geoogst worden, waarna de proef zal worden geroid. De geoogste bomen zullen verhakseld worden en het verhakselde hout zal naar suikers en eventueel naar biobrandstof worden omgezet.

#### **E. DE MEERWAARDE VAN DE VRIJZETTING**

Uit laboratoriumexperimenten en eerdere veldproeven is bekend dat het mogelijk is om hout te produceren dat op een veel efficiëntere manier kan worden omgezet naar suikers. Van de lijnen die nu in het veld worden gebracht zijn enkel nog maar laboratoriumgegevens voorhanden en is niet bekend hoe de bomen reageren wanneer ze aan een echte bodem en aan weer, wind en seizoenen worden blootgesteld. De verwachting en hoop is dat de bomen ook in het veld een significante wijziging van hun houtsamenstelling hebben en dat ze ook een goede groei vertonen. Maar dat kan niet op voorhand worden voorspeld. De meerwaarde van de veldproef ligt erin dit bevestigd te krijgen.

#### **F. DE POTENTIELE RISICO'S VOOR DE MENSELIJKE GEZONDHEID EN HET LEEFMILIEU**

Bomen die aangepast zijn in de aanmaak van lignine kennen een andere houtsamenstelling. In hoeverre deze andere houtsamenstelling een voordeel of een nadeel voor de bomen is, is vandaag nog niet goed gekend. We kunnen enkel afgaan op natuurlijk voorkomende mutanten en de informatie die uit eerdere veldproeven met deze en vergelijkbare bomen is verkregen. Soms hebben dergelijke bomen een iets lagere groeisnelheid, maar of dat een voor- of nadeel is, is moeilijk te zeggen.

Mutaties zoals die nu in de bomen zijn aangebracht komen ook van nature voor. En bomen met een verlaagde hoeveelheid lignine komen ook in de natuur voor, meer bepaald in de VS in *Pinus taeda* ('loblolly pine', een dennensoort), en in zwarte populier in Europa.

Naast de mutaties in TRA2 bevatten de bomen ook nog een stuk soortvreemd DNA waarop de componenten van het CRISPR-CAS systeem gecodeerd liggen. Dit zit echter in de planten in een vorm die niet langer functioneel is. De DNA code voor het CAS9 enzym is immers ook zelf gemuteerd.

Het is niet volledig uit te sluiten dat dit stuk soortvreemd DNA op een ongunstige plaats in het genoom van de populier terecht is gekomen en als gevolg daarvan nog een ander effect zou hebben dan alleen maar een wijziging van het lignine. De kans hierop is heel klein aangezien de bomen in de proef in de serre geselecteerd zijn uit een grote groep 'onafhankelijke transformanten', waarbij erop gelet is dat de geselecteerde bomen geen ongewenste eigenschappen vertonen.

Gezien de lange generatietijd van bomen is het vandaag moeilijk precies te voorspellen wat de lange termijneffecten zouden zijn wanneer de gemodificeerde eigenschappen in de natuur zouden terecht komen. Aangezien bomen met vergelijkbare wijzigingen in de lignine al in de natuur voorkomen, verwachten we dat als er al sprake zou zijn van enige gewijzigde interactie met de natuur, dat deze interactie niet wezenlijk verschilt van die van deze natuurlijke mutanten.

De gemodificeerde eigenschappen zouden zich in dit specifieke geval alleen via wortelstekken kunnen verspreiden naar de natuur. Verspreiding via zaden is in dit geval niet mogelijk omdat de bomen in de proef naar verwachting niet zullen bloeien. Maar ook verspreiding via wortelstekken wordt verhinderd door ze af te steken en te vernietigen (zie verder onder G.).

Er zijn geen redenen om te veronderstellen dat er aan een andere houtsamenstelling risico's voor de menselijke gezondheid verbonden zijn. Uit het onderzoek dat met natuurlijke mutanten die een vergelijkbare wijziging van het lignine hebben, zijn ook geen aanwijzingen naar boven gekomen dat het hout op een of andere manier schadelijk zou zijn voor de gezondheid.

Er is in de bomen ook een antibioticumresistentiegen aanwezig. Het *hph* gen is aanwezig om de genetisch gewijzigde bomen op een eenvoudige manier te kunnen selecteren. Het *hph*-gen codeert voor hygromycinefosfotransferase. Dit is een enzym dat de antibiotica hygromycine onschadelijk maakt. De Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid (EFSA) heeft geoordeeld dat het gebruik van dit antibioticumresistentiegen in planten voor een veldproef volstrekt onschadelijk is<sup>1</sup>. Het belangrijkste argument hiervoor is dat resistentie tegen deze antibiotica in het leefmilieu al zodanig wijdverspreid aanwezig is, dat de kans dat een bacterie zo'n resistentie uit de bestaande genenpool in het leefmilieu oppikt vele malen groter is dan de kans dat een bacterie zo'n resistentie uit een genetisch gewijzigde plant opneemt.

## **G. DE MAATREGELEN TER INPERKING VAN POTENTIELE RISICO'S EN CONTROLE EN OPVOLGING VAN DE VRIJZETTING**

De proef wordt zodanig opgezet dat de potentiële risico's volledig worden ingeperkt. Verspreiding via genetisch gemodificeerde zaden is niet mogelijk, omdat verwacht wordt dat de bomen in de proef niet zullen bloeien, en mochten ze dat toch doen, dan worden die bloemen verwijderd ruimschoots voordat ze zaden zouden kunnen verspreiden. Populier begint normaalgesproken pas na 5 tot 8 jaar te bloeien en de takken op de bomen in deze proef zullen niet ouder dan 3 jaar worden.

De verspreiding via (wortel)stekken wordt voorkomen door (1) regelmatig de proef te controleren en wortelstekken te vernietigen, (2) door geoogst materiaal zorgvuldig te vervoeren, of door het fijn te verhakselen, (3) door na afloop van de proef alle materiaal in de bodem te verhakselen en/of als bedrijfsrestafval in gesloten vaten ter verbranding af te voeren, en (4) door na afloop van de proef een aantal jaren te monitoren totdat we zeker zijn dat er op de proeflocatie geen enkele genetisch gewijzigde populier meer zal kunnen verschijnen. Een eventuele populier die zou verschijnen op de proeflocatie wordt vernietigd (handmatig verwijderd en/of bestreden met een contactherbicide). Om de ongewenste versleping van plantenmateriaal (takken) door onbevoegden te verhinderen staat er rond de proef een draadhek en is de toegangspoort op slot.

---

<sup>1</sup> EFSA, 2009. Consolidated presentation of the joint Scientific Opinion of the GMO and BIOHAZ Panels on the "Use of Antibiotic Resistance Genes as Marker Genes in Genetically Modified Plants" and the Scientific Opinion of the GMO Panel on "Consequences of the Opinion on the Use of Antibiotic Resistance Genes as Marker Genes in Genetically Modified Plants on Previous EFSA Assessments of Individual GM Plants", EFSA-Q-2009-00589 and EFSA-Q-2009-00593

EFSA, 2004. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants.