



Vlaams  
Parlement

stuk **1153** (2010-2011) – Nr. 1  
ingediend op 17 mei 2011 (2010-2011)

## Gedachtewisseling

over het rapport

‘De Vlaamse regelgeving omtrent co-existentie:  
een evaluatie in praktijkomstandigheden’

## Verslag

namens de Commissie voor Landbouw, Visserij en Plattelandsbeleid  
uitgebracht door de heer Lode Ceysens

*Samenstelling van de commissie:*

*Voorzitter:* de heer Jos De Meyer.

*Vaste leden:*

de heren Lode Ceysens, Jos De Meyer, mevrouw Tinne Rombouts, de heer Jan Verfaillie;  
mevrouw Agnes Bruyninckx-Vandenhoudt, de heer Stefaan Sintobin, mevrouw Linda Vissers;  
de heer Karlos Callens, mevrouw Lydia Peeters;  
de heer John Crombez, mevrouw Els Robeyns;  
de heer Mark Demesmaeker, mevrouw Tine Eerlingen;  
mevrouw Patricia De Waele;  
de heer Dirk Peeters.

*Plaatsvervangers:*

de heren Robrecht Bothuyne, Jan Durnez, Marc Van de Vijver, Johan Verstreken;  
de heren Pieter Huybrechts, Chris Janssens, mevrouw Marleen Van den Eynde;  
de heren Bart Tommelein, Marc Vanden Bussche;  
de heren Marcel Logist, Bart Martens;  
de heren Matthias Diependaele, Jan Peumans;  
de heer Ivan Sabbe;  
de heer Hermes Sanctorum.

## INHOUD

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I. Toelichting door de heer Kris Peeters, minister-president van de Vlaamse Regering ..... | 4  |
| 1. De regelgevende context .....                                                           | 4  |
| 2. De Vlaamse situatie .....                                                               | 4  |
| 3. De praktijktest .....                                                                   | 4  |
| 4. Conclusies van het onderzoek .....                                                      | 5  |
| II. Bespreking .....                                                                       | 6  |
| 1. Algemene beschouwingen .....                                                            | 6  |
| 2. Knelpunten .....                                                                        | 7  |
| 3. Verspreiding .....                                                                      | 8  |
| 4. Ander wetenschappelijk onderzoek .....                                                  | 9  |
| 5. Praktijktoepassingen .....                                                              | 9  |
| 6. Evaluatie decreet .....                                                                 | 9  |
| 7. Economische afwegingen .....                                                            | 10 |
| 8. Europees onderzoek .....                                                                | 11 |
| Gebruikte afkortingen .....                                                                | 12 |
| Bijlage: Eindrapport .....                                                                 | 13 |

Op 30 maart 2011 organiseerde de Commissie voor Landbouw, Visserij en Plattelandsbeleid een gedachtewisseling over het rapport ‘De Vlaamse regelgeving omtrent co-existentie: een evaluatie in praktijkomstandigheden’, met de heer Kris Peeters, minister-president van de Vlaamse Regering, Vlaams minister van Economie, Buitenlands Beleid, Landbouw en Plattelandsbeleid, prof. dr. Marc De Loose, wetenschappelijk directeur Productkwaliteit en Innovatie binnen de Eenheid Technologie en Voeding, en dr. ir. Bart Van Droogenbroeck, wetenschappelijk attaché Productkwaliteit en Innovatie binnen de Eenheid Technologie en Voeding van het Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek.

Als duiding bij het rapport wordt, na de toelichting door de minister-president, een video-reportage getoond over de praktijktest.

## **I. TOELICHTING DOOR DE HEER KRIS PEETERS, MINISTER-PRESIDENT VAN DE VLAAMSE REGERING**

De *minister-president* geeft toelichting bij de evaluatie van de co-existentieregeling in een gesimuleerde praktijktest.

### **1. De regelgevende context**

De Europese wetgever beschouwt een teelt als ggo-vrij wanneer die teelt minder dan 0,9 percent van een bepaald ggo bevat. De Europese en Vlaamse wetgeving beogen met betrekking tot de ggo-teelt de vrijheid te garanderen voor de landbouwer om al dan niet ggo-gewassen te telen. Einddoel is dat landbouwers die kiezen voor ggo-teelt, of conventionele teelt of biologische teelt elkaar niet mogen hinderen bij de uitbating van hun landbouwactiviteit.

Europa staat, na een uitgebreide onderzoeksprocedure op mogelijke negatieve gevolgen voor de volksgezondheid en het leefmilieu, in voor de officiële erkenning of niet van de teelt van een bepaald ggo-gewas. We kunnen er dus van uitgaan dat de voor de Europese markt erkende ggo's veilig zijn voor de volksgezondheid en het leefmilieu.

Het is de lidstaat die kan instaan voor het verzekeren van de keuzevrijheid via co-existentiemaatregelen. Europa schreef daartoe aanbevelingen voor co-existentie neer in 2003. Vlaanderen publiceerde op 3 april 2009 haar Co-existentiedecreet, decreet houdende de organisatie van co-existentie van genetisch gemodificeerde gewassen met conventionele gewassen en biologische gewassen (*Parl. St.* VI. Parl. 2008-09, nr. 1885/1 t.e.m. 5). Op 15 oktober 2010 werden twee besluiten van de Vlaamse Regering gepubliceerd die enerzijds algemene co-existentiebepalingen bevatten en die anderzijds specifieke maatregelen voor de co-existentie van genetisch gemodificeerde maïsgewassen bevatten. In het decreet is voorzien dat de minister bevoegd voor Landbouw binnen de twee jaar een rapport voorlegt aan het parlement met betrekking tot de evaluatie van de werking van dit decreet.

### **2. De Vlaamse situatie**

Er was tot nu toe geen enkele aanvraag om een ggo-gewas uit te zaaien in Vlaanderen en de minister-president gaat ervan uit dat er ook geen uitgezaaid wordt. Er is op dit moment dus geen enkele ervaring met betrekking tot de werking van het decreet op zich en het is dus ook weinig zinvol een evaluatie op te maken. Het evalueren op het terrein van de co-existentiemaatregelen voor maïs gebeurde wel. Deze taak werd toevertrouwd aan ILVO.

### **3. De praktijktest**

Op een ILVO-terrein, gelegen in de gemeente Wetteren, werd een perceel van ongeveer twaalf hectare opgesplitst in deelpercelen. Centraal werd één perceel ingezaaid met een ggo-maïs die in de EU geautoriseerd is voor teelt. Er omheen werd niet-ggo-maïs geplant. In de simulatie werden de deelpercelen beheerd alsof ze verschillende landbouwers toebe-

hoorden. Omdat de maïsteelt twee soorten primaire producten kan opleveren, namelijk snijmaïs of korrelmaïs, en deze genetisch voor een deel verschillend zijn, werd de proef zodanig opgezet dat voor de beide types de nodige informatie werd gegenereerd.

Met de proef hadden de ILVO-onderzoekers drie grote doelstellingen voor ogen. De eerste doelstelling was het evalueren van de doeltreffendheid van de teeltvoorwaarden in functie van het voorkomen van vermenging. Vermenging boven de 0,9 percent geeft aanleiding tot een verplichte etikettering van de niet-ggo-partij als ggo. ILVO wou de impact van uitkruising op de vermenging van ggo in naburige niet-ggo-velden kwantificeren. ILVO onderzocht ook de impact van menselijke handelingen op vermenging tijdens de teelt en oogst.

De tweede doelstelling was het uitwerken van een procedure voor een kostenefficiënte, realistische en representatieve staalname.

Ten derde wou ILVO documentatiemateriaal genereren dat bruikbaar is bij de opleiding van landbouwers en loonwerkers.

De proef is inmiddels afgerond, en de minister-president deelt de resultaten mee. Een uitvoerige en gedetailleerde toelichting van de proef en de resultaten zijn terug te vinden in het eindrapport dat aan de leden van deze commissie ter beschikking wordt gesteld.

#### **4. Conclusies van het onderzoek**

De ILVO-onderzoekers tonen aan dat de in het besluit van de Vlaamse Regering voorgeschreven isolatieafstand van 50 meter ruim voldoende is om vermenging door kruisbestuiving naar omliggende niet-ggo-percelen zodanig in te perken dat de finale ggo-gehalten in de volledige geoogste partijen snijmaïs of korrelmaïs ruim onder de 0,9 percent blijven. Hiermee is dus aangetoond dat de isolatieafstand in het besluit van de Vlaamse Regering, die gebaseerd was op internationaal wetenschappelijk onderzoek, ook onder Vlaamse landbouwomstandigheden duidelijk volstaat.

Het onderzoek toont duidelijk aan dat verspreiding via de zaaimachine en de dorsmachine de nodige aandacht verdient. Verschillende experimenten hebben aangetoond dat de huidige praktijk van reinigen van zaaimachines een risico inhoudt wat de co-existentie betreft. Verspreiding via de zaaimachine kan echter vermeden worden door alle zaaischijven open te maken en alle achtergebleven korrels manueel te verwijderen. Grondig reinigen is dus de boodschap. Dit neemt maximaal vijftien minuten tijd in beslag en is volgens de minister-president dus haalbaar.

Wat de potentiële vermenging tijdens de oogst betreft, vergt vooral de dorsmachine de nodige aandacht. Verspreiding van geoogste ggo-snijmaïs in een daaropvolgende oogst van niet-ggo-snijmaïs via de hakselaar is zo goed als onbestaande. Dorsers daarentegen kunnen duidelijk wel voor vermenging van geoogst ggo-materiaal in de daaropvolgende niet-ggo-oogst zorgen. Dat kan vermeden worden door het toestel grondiger te reinigen dan nu gebruikelijk is bij overschakelen van ggo naar een niet-ggo-veld. Alternatief hiervoor is het ‘spoelen’ van de dorsmachine door na de ggo te oogsten een deel niet-ggo te oogsten en dit geoogste materiaal bij de ggo-partij te voegen. Verspreiding tijdens het transport is eenvoudig onder controle te houden door te vermijden dat de transportwagens overladen worden.

De vaststelling van het percentage ggo in een maïsoogst via laboratoriumanalyses kan slechts correct zijn als de geanalyseerde (oogst)monsters representatief zijn. In het rapport wordt aangetoond dat representatieve staalname en een scenario hiervoor in de praktijk perfect haalbaar is.

Op basis van de aanbevelingen in het onderzoek hoeft het besluit van de Vlaamse Regering niet aangepast te worden. Met betrekking tot de zaai- en oogstmachines stelt artikel 8 van het besluit: “Om de verspreiding en vermenging van genetisch gemodificeerd materiaal te voorkomen, worden alle resten uit de voor de teelt gebruikte zaaimachines verwijderd, en worden de oogstmachines grondig gereinigd nadat ze gebruikt zijn op de velden met ggo-gewassen en voor ze ingezet worden bij de teelt van niet-ggo-maïs.”.

De bepalingen met betrekking tot het reinigen van zaai- en oogstmachines in het besluit zijn dus voldoende duidelijk en streng. Het komt erop aan de praktijk af te stemmen op de wetgeving. In uitvoering van het besluit van de Vlaamse Regering zal daarom een specifieke opleiding worden uitgewerkt voor landbouwers en loonwerkers die bij de ggo-teelt betrokken zullen zijn. Daarbij zal speciale aandacht besteed worden aan het reinigen van de gebruikte machines. Hiertoe zal een code van goede praktijk uitgewerkt worden.

De minister-president besluit dat het onderzoek veel vragen beantwoord heeft en op een goede manier, in een heel delicate discussie met veel emoties, een aantal foutieve percepties uit de wereld heeft geholpen.

## II. BESPREKING

### 1. Algemene beschouwingen

Mevrouw *Tinne Rombouts* verwijst naar het voorbehoud dat geuit werd tijdens de discussie over het decreet in 2009. Gelet op het mogelijke belang van ggo's inzake ziekteresistentie en grotere opbrengsten, is het goed dat Vlaanderen de evoluties volgt. Onderzoek naar de efficiëntie van het regelgevend kader is belangrijk. Er zijn niet onmiddellijk veel ggo-variëteiten te verwachten die in Vlaanderen toepasbaar zijn, maar het is goed om voorbereid te zijn op een mogelijke introductie. Mevrouw Rombouts is tevreden dat de veldproef voor maïs het vooropgestelde kader, onder andere inzake de isolatieafstand, bevestigt.

De heer *Stefaan Sintobin* beschrijft het resultaat van het onderzoek als positief. De spreker verwijst naar publieke discussies uit het verleden, die dikwijls gedreven werden door emoties en gekenmerkt werden door een gebrek aan kennis. De actie en communicatie van Greenpeace zijn daar een voorbeeld van. Met dit wetenschappelijk onderzoek worden, zowel voor het parlement als de publieke opinie, een aantal zaken duidelijk gemaakt. Het is voor de tegenstanders van ggo's waarschijnlijk een moeilijk moment, stelt de heer Sintobin, want er wordt aangetoond dat ggo's niet zo snel verspreiden als steeds werd beweerd. De spreker is van mening dat de media soms ook proactief benaderd moeten worden met een positief verhaal. Het feit dat de beweringen van Greenpeace voorpagina-nieuws waren, maar de reactie van ILVO in het niets verdween, toont dat aan.

De heer *Lode Ceyssens* waardeert het sterk dat twee jaar na het goedkeuren van het decreet een onderzoek wordt voorgelegd waaruit geconcludeerd kan worden of destijds de problematiek al dan niet juist werd ingeschat.

ILVO heeft, aldus de heer *Marc De Loose*, overleg gepleegd met Greenpeace. De spreker betreurt dat Greenpeace op eigen houtje, zonder samenwerking met ILVO, stalen heeft genomen. ILVO heeft de data van Greenpeace ontvangen en heeft op dezelfde plaatsen stalen genomen. Maar daarnaast heeft ILVO ook een representatief staal genomen van het veld. De resultaten van de puntanalyses van Greenpeace stemmen perfect overeen met de resultaten van het ILVO. Maar als naar de oogst van het hele perceel wordt gekeken, is het resultaat 0,004 percent. Dat is ver beneden de 0,9 percent. De data van de puntstalen

van ILVO zijn 0,089 in een bepaald geval, waar Greenpeace 0,1 percent vermeldt. Maar ook de 0,1 of 0,2 percent die Greenpeace vermeldt als puntstaal geeft niet aan dat er etikettering moet zijn van dat veld, want het ligt nog altijd lager dan 0,9 percent.

## 2. Knelpunten

De heer *Wilfried Vandaele* schetst dat het probleem zich vooral situeert bij de zaaimachines, de dorsers en het transport. De oplossing bestaat uit grondig reinigen van de machines en het niet overvol laden van de kuipwagens. Dat betekent voor de spreker dat een grote discipline wordt gevraagd van de loonwerkers en landbouwers. De minister-president stelt in de toelichting dat vijftien minuten om een zaaimachine te reinigen niet veel tijd is, maar in de hectische werkomstandigheden van de loonwerkers blijft dat een zwakke schakel, stelt de heer Vandaele. Hij vreest dat deze oplossing niet echt afdwingbaar en haalbaar is. In de toekomst zullen de machines waarschijnlijk wel aangepast worden aan deze knelpunten, maar vandaag kan men enkel rekenen op de discipline van de mensen.

Mevrouw *Tinne Rombouts* is van mening dat in de sector al veel discipline wordt gevraagd van de landbouwers en hier in eerste instantie de loonwerkers aangesproken moeten worden.

Het voorstel om de dorsmachines als het ware te spoelen door een bepaalde oppervlakte conventionele maïs te oogsten, zal in de praktijk logisch toegepast worden.

Mevrouw *Els Robeyns* stelt dat het onderzoek zich vooral toespitst op de isolatieafstand en de mogelijke vermenging tijdens zaaien en oogsten. Dat vereist inderdaad discipline door de landbouwers. Informatie en opleiding zijn volgens de spreker dus heel belangrijk.

Er blijven nog enkele problemen met zaai- en dorsmachines en het transport, maar de discipline van landbouwers en loonwerkers mag niet onderschat worden, aldus de heer *Stefaan Sintobin*. Zij zijn meer plichtsbewust dan algemeen wordt verwacht. Een goede opleiding en sensibilisering kan vermenging vermijden.

Ook de heer *Lode Ceyssens* is overtuigd van de aanwezige discipline in de sector, maar de verantwoordelijkheid voor het respecteren van de voorschriften moet bij de loonwerkers gelegd worden. De landbouwer kan enkel vertrouwen op de informatie van de loonwerker, maar als het misgaat, komt de rekening wel bij de landbouwer terecht. De praktische modaliteiten kunnen besproken worden, maar voor de heer Ceyssens moet de verantwoordelijkheid duidelijk bij de loonwerker liggen.

De heer *Marc De Loose* bevestigt dat de knelpunten die vastgesteld werden, te maken hebben met menselijke handelingen. Dat vraagt natuurlijk discipline van de loonwerkers.

Wat de verspreiding van de zaaikorrels via de zaaimachine betreft, bleek uit het onderzoek dat de ggo-korrels vooral de eerste meters aanwezig waren, maar daarna neemt het aandeel sterk af. Er kunnen zowat 1800 ggo-zaaizaden achterblijven in de zaaimachine. Als dat wordt vergeleken met de 105.000 zaden die per hectare worden gezaaid, is dat aandeel heel beperkt. Ook met een niet-perfekte reiniging zal het ggo-aandeel ver beneden de 0,9 percent blijven.

Bij de opleiding moet er dus absoluut op aangedrongen worden dat loonwerkers de zaaimachine grondig reinigen, stelt de heer De Loose. Door een kleine aanpassing van de zaaimachine moet het mogelijk zijn om nog sneller te kunnen reinigen. Constructeurs zullen vandaag niet geneigd zijn om die aanpassingen door te voeren, maar als er interesse is voor het telen van ggo-maïs, kan de situatie veranderen.

De vermenging bij het dorsen is enkel de eerste tientallen meters substantieel, licht de heer De Loose toe. De loonwerker kan met een minimale input ervoor zorgen dat de machine gereinigd wordt, bijvoorbeeld door de machine te spoelen door het oogsten van niet-ggo maïs en deze bij de ggo-maïs te voegen.

De heer *Bart Van Droogenbroeck* beklemtoont nog dat met een minimale aanpassing van de toestellen ervoor gezorgd kan worden dat minder oogstresten achterblijven.

### 3. Verspreiding

Uit de toelichting blijkt dat de vermenging door de windbestuiving ver onder de 0,9 percent blijft, schetst de heer *Dirk Peeters*. Werd er rekening gehouden met een sterke wind op het moment dat planten hun stuifmeel massaal lossen? Met een zachte bries en het geleidelijk loskomen van het stuifmeel kunnen andere resultaten opgetekend worden dan met een stevige wind en het plots massaal lossen van stuifmeel. Hoe moeten de resultaten geïnterpreteerd worden, rekening houdend met bepaalde klimatologische omstandigheden die kunnen optreden?

Als wetenschapper kan enkel worden gesteld dat één proef heel beperkt is, schetst de heer *Marc De Loose*. Maar anderzijds bevestigen de resultaten wat ook al in andere internationale onderzoeken werd aangetoond. Al die studies bevestigen dat 50 meter isolatieafstand voldoende zal zijn om uitkruising te beheersen. Er werd zelfs een conventioneel maïsveld op nul meter afstand gezaaid, maar ook dan wordt voldaan aan de regelgeving. Maar de nuances en de richting van de verspreiding zullen inderdaad van moment tot moment verschillen.

ILVO heeft de KMI-data van het weerstation in Melle gebruikt om gedurende het hele groeiseizoen windsnelheid en -richting op te volgen, vult de heer *Bart Van Droogenbroeck* aan. De verwachte windrichting is meestal zuidzuidwest, maar uitzonderlijk kwam tijdens de polvorming de wind uit noordwestelijke richting. De vaststellingen van MON810-positieve stalen in de velden stemden daar perfect mee overeen. Windsnelheid en -richting werden in rekening gebracht om de vastgestelde percentages MON810 in de velden te verklaren en er conclusies uit te trekken.

In het proefveld in Wetteren werd één ggo-veld aangelegd op een terrein van twaalf hectare, situeert de heer *Dirk Peeters*. In een reële landbouwsituatie zouden meerdere ggo-percelen kunnen liggen in een groter landbouwgebied. Wat zouden de effecten dan zijn? Uit de veldproef blijkt dat de randen van de niet-ggo-percelen licht zijn besmet, maar als er meer ggo-velden liggen, zou volgens de heer Peeters een meer verspreide verspreiding mogelijk kunnen zijn. Hoe kan dan de vaststelling gebeuren van waar de vermenging komt als de 0,9 percent overschreden zou worden?

De heer *Marc De Loose* beaamt dat het hier natuurlijk ging om een geïsoleerde situatie. Als in een groter gebied 90 percent ggo-maïs staat, zal de impact natuurlijk anders zijn. Maar de vaststelling blijft dat pollen zich maar over een zeer korte afstand verspreiden.

Er kan volgens de heer De Loose worden vastgesteld van waar de vermenging komt. In het besluit van de Vlaamse Regering staat dat de landbouwer moet melden dat hij een ggo-gewas wil telen en informatie ter beschikking moet stellen van het 'event' dat hij gebruikt. Op basis daarvan en het label van het zaaizaad kan nagegaan worden waar de oorzaak van de bestuiving ligt. Dit onderzoek moet natuurlijk niet standaard gebeuren, maar als er klachten of schadeclaims zijn, kan dat geverifieerd worden.

#### 4. Ander wetenschappelijk onderzoek

Mevrouw *Tinne Rombouts*, de heer *Stefaan Sintobin* en de heer *Lode Ceyssens* informeren ernaar of er ook voor andere ggo-teelten praktijktests worden gepland.

De *minister-president* deelt mee dat er nog andere proeven zullen volgen, in het bijzonder voor aardappelen. Ook voor aardappelen kan een grote milieuwinst geboekt worden, aangezien 20 kilogram actieve stof per hectare wordt gebruikt tegen de zogenaamde aardappelplaag. Met ggo-aardappelen kan dat zeer sterk gereduceerd worden.

De co-existentiproef met maïs ging niet over een veldproef, maar over het telen van een geautoriseerd gewas, verduidelijkt de heer *Marc De Loose*. In een samenwerkingsverband tussen VIB, ILVO, UGent en HoGent wordt dit jaar een aardappelveldproef gepland met een ggo-events die nog niet geautoriseerd zijn voor teelt. Het is belangrijk om de implementeerbaarheid te onderzoeken, zodat de instellingen klaar zijn indien de ggo-lijn wordt geautoriseerd voor teelt.

#### 5. Praktijktoeepassingen

Naast het onderzoek is natuurlijk ook de praktijk bij landbouwers van belang. Volgens mevrouw *Tinne Rombouts* worden vandaag in Vlaanderen nog geen ggo-teelten toegepast. Het is natuurlijk belangrijk om de resultaten van het onderzoek terug te koppelen naar de praktijk. Hoe wordt de interesse van de landbouwers voor ggo-teelten ingeschat? Wat zijn de voornaamste redenen om die keuze niet te maken? Gaat het om het ontbreken van geschikte variëteiten of hebben landbouwers schrik voor de eigen bedrijfsvoering en besmetting op het bedrijf?

De heer *Marc De Loose* stelt dat hij nog geen enkele conventionele landbouwer heeft gesproken die niet geïnteresseerd is om de technologie te gebruiken, maar natuurlijk enkel als dat iets oplevert. Aardappeltelers bijvoorbeeld staan te springen om de technologie te kunnen gebruiken. Vandaag wordt de technologie niet gebruikt omdat er geen variëteiten ter beschikking zijn. Er zijn in Europa maar twee 'events' goedgekeurd voor teelt: MON810 maïs en de Amflora-aardappel. Beide zijn voor Vlaanderen niet relevant. MON810 is resistent aan de maïsstengelboorder, maar die plaag komt momenteel niet voor in Vlaanderen. De plaag migreert wel, wat betekent dat Vlaanderen er op termijn wel mee geconfronteerd zou kunnen worden.

Met de proef wordt voor de landbouwer rechtszekerheid gecreëerd, maar voor de leveranciers van zaaizaad wordt ook juridische zekerheid geboden dat bij de ontwikkeling van producten voor onze regio er ook mee gewerkt kan worden.

Segregatie tussen soorten, ook op het bedrijf, is perfect mogelijk en aardappelen zijn daar een goed voorbeeld van. De aanpassingen voor de producent om met een gg-aardappel aan de slag te gaan, zullen heel beperkt zijn, schetst de heer De Loose. Er zal natuurlijk wel gelabeld moeten worden volgens de Europese richtlijn.

#### 6. Evaluatie decreet

Mevrouw *Els Robeyns* verwijst naar de ruimere evaluatie die in het decreet is opgenomen, met onder andere de werking van het fonds en milieuschade als aandachtspunten. Aangezien er nog geen praktijkervaring is, zullen deze aspecten waarschijnlijk later nog aan bod moeten komen.

De *minister-president* beaamt dat, aangezien er alleen ervaring is met de veldproef, er nog geen ruime evaluatie mogelijk is.

## 7. Economische afwegingen

De heer *Karlos Callens* focust op een aantal economische aspecten. Genetisch gemodificeerde gewassen kunnen een positieve invloed hebben op het milieu, want er zijn bijvoorbeeld minder pesticiden nodig. De kostprijs voor de landbouwer voor het telen van bepaalde gewassen kan daardoor ook dalen en de opbrengst kan verhogen. Voor de landbouwer is er misschien wel een economische meerwaarde, maar hij zal een opleiding moeten volgen, de machines grondiger moeten kuisen enzovoort.

Het probleem van de controle blijft. De heer Callens vraagt of er zicht is op de kostprijs om de controles uit te voeren en wie die kosten zal dragen. Zal de overheid de kosten ten laste nemen, of zijn ze voor rekening van de landbouwer?

Landbouwers dragen natuurlijk ook een verantwoordelijkheid als de controles uitwijzen dat er problemen zijn met het schoonmaken van de machines enzovoort, schetst de spreker. Na klachten en burgerrechtelijke procedures kunnen grote vergoedingen gevorderd worden. Landbouwers zouden hiertegen een verzekering moeten kunnen afsluiten. Is het niet nodig om hierover het gesprek aan te gaan met verzekeringsmaatschappijen?

De heer Callens concludeert dat ggo-gewassen een economisch voordeel kunnen zijn voor de landbouwer, maar het kan ook negatief uitvallen als nevenaspecten zwaarder wegen dan de gestegen productiviteit.

Ook tijdens het debat over het decreet kwam de verzekering ter sprake, licht de *minister-president* toe. Met het fonds wordt dat probleem opgelost. Maar het fonds kan natuurlijk enkel getoetst worden als er in de praktijk een beroep op wordt gedaan, wat op dit moment niet het geval is.

ILVO is het nationaal referentielabo voor ggo-analyses, licht de heer *Marc De Loose* toe. De kostprijs van ggo-analyses is zeer groot. Als gg-gewassen in de praktijk worden gebruikt door landbouwers, is het onmogelijk om standaardanalyses uit te voeren. Maar er kunnen volgens de heer De Loose inderdaad klachten komen die gigantische proporties kunnen aannemen en dan is een analyse aan de orde. Om een juist analyseresultaat voor een geoogste partij te bekomen, is het essentieel dat in het laboratorium de juiste procedure wordt gevolgd, maar het is daarnaast zeer belangrijk erop toe te zien dat het bekomen resultaat voor de hele partij geldt. Een representatieve staalname is het essentiële punt om een kwaliteitsvol analyseresultaat te kunnen afleveren. Daarom werd een procedure uitgewerkt om geautomatiseerd stalen te kunnen nemen. De verschillende schakels van de procedure zijn uitgewerkt, maar de automatisatie staat vandaag nog niet op punt. Er zal natuurlijk pas geïnvesteerd worden als er een vraag is. In het ideale scenario is er, op het moment dat de loonwerker van het veld vertrekt, onmiddellijk een representatief, gelabeld en gesloten monster ter beschikking van de landbouwer. Vandaag is dat representatief staal mogelijk door manuele bemonstering. Dat gebeurt onder andere ook voor de certificering van zaaizaad.

Er bestaan vandaag oogstmachines die online het vochtgehalte van de geoogste maïs meten tijdens de oogst, via een bypasssysteem. Met een door de constructeurs te plaatsen kleppensysteem, waarbij geregeld enkele zaden uit de oogst worden gehaald, kan een representatief staal samengesteld worden. Die stalen kunnen bewaard worden, waardoor de landbouwer van zijn perceel een staal heeft dat bruikbaar is als er een klacht geformuleerd wordt. Pas dan worden analyses uitgevoerd.

De heer *Karlos Callens* vraagt nog of de productie van het proefveld hoger lag.

De landbouwer heeft volgens de heer *Marc De Loose* geen meerwaarde ervaren, maar dat was ook niet de bedoeling. De doelstelling was een proef op te zetten in een reële situatie, met een ggo dat ook getraceerd kon worden tijdens de teelt en de oogst.

## 8. Europees onderzoek

Stemmen de resultaten van het onderzoek naar gg-maïs overeen met de resultaten van gelijkaardige onderzoeken in andere EU-lidstaten, vraagt de heer *Stefaan Sintobin*.

De heer *Jos De Meyer* informeert naar wat het onderzoek in andere EU-lidstaten ons leert over praktijkproeven met ggo's.

De wetenschappelijke publicaties over de afstanden van pollenverspreiding van maïs liggen volledig in de lijn van de ILVO-resultaten, stelt de heer *Marc De Loose*.

ILVO participeerde de afgelopen tien jaar in twee grote Europese onderzoeksprojecten waarin verschillende aspecten van co-existentie in detail werden onderzocht.

Het eerste project waaraan ILVO deelnam is het SIGMEA-project, 'Sustainable introduction of GM crops into European Agriculture', uitgevoerd in het zesde kaderprogramma (project nr. 501986; thematische prioriteit: FP6-2002-SSP1; looptijd 2004-2007). Het finale activiteitenverslag van dit project is ter informatie ter beschikking gesteld aan het commissiesecretariaat. Een online versie van dit verslag en meer details van de onderzoeksresultaten zijn tevens terug te vinden op <http://www.inra.fr/sigmae/deliverables>.

Het tweede project waarin ILVO partner was is het CO-Extra project 'GM and non-GM supply chains: their Co-existence and traceability', eveneens uitgevoerd in het zesde kaderprogramma (project nr. 007158; thematische prioriteit: Food Quality & Safety – 5; looptijd 2005-2009). Twee documenten die de relevantste bevindingen uit dit onderzoek toelichten worden ter beschikking gesteld aan het commissiesecretariaat. Het eerste document is het 'Report on the review of factors affecting large scale pollen flow'. Het tweede document is een extract uit het Co-extra eindrapport met de samenvatting van de meest relevante bevindingen uit WP1 van het project: 'Biological measures for gene flow mitigation'.

Een derde en laatste overzichtsdocument dat relevante bevindingen samenvat is het Technische rapport van het JRC, Technical Report EUR 22102 EN 'New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture'.

Deze documenten geven een globaal overzicht van recent Europees onderzoek uitgevoerd in verband met de co-existentie van ggo en niet-ggo-gewassen.

Jos DE MEYER,  
voorzitter

Lode CEYSSSENS,  
verslaggever

**Gebruikte afkortingen**

|      |                                               |
|------|-----------------------------------------------|
| EU   | Europese Unie                                 |
| ggo  | genetisch gemodificeerd organisme             |
| ILVO | Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek |
| JRC  | Joint Research Centre                         |
| KMI  | Koninklijk Meteorologisch Instituut           |
| VIB  | Vlaams Instituut voor Biotechnologie          |

BIJLAGE:  
Eindrapport



## **De Vlaamse regelgeving omtrent co-existentie: een evaluatie in praktijkomstandigheden**

### **Eindrapport**



**Instituut voor landbouw- en visserijonderzoek  
Eenheid Technologie en Voeding**

**Bart Van Droogenbroeck  
Isabel Taverniers  
Marc De Loose**

Vlaamse overheid



## Inhoudsopgave

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Lijst met figuren .....</b>                             | <b>17</b> |
| <b>Lijst met tabellen.....</b>                             | <b>19</b> |
| <b>1. Inleiding .....</b>                                  | <b>20</b> |
| <b>2. Doelstelling.....</b>                                | <b>21</b> |
| <b>3. De praktijktoets .....</b>                           | <b>22</b> |
| 3.1. Proefopzet.....                                       | 22        |
| 3.2. Algemene beschrijving van het experiment.....         | 24        |
| 3.2.1. Praktisch verloop.....                              | 24        |
| 3.2.2. Klimatologische data .....                          | 26        |
| 3.2.3. Methodologie .....                                  | 29        |
| <b>4. Uitgevoerde Experimenten.....</b>                    | <b>35</b> |
| 4.1. Experiment 1 - Verspreiding via pollen .....          | 35        |
| 4.1.1. Experiment op ILVO perceel.....                     | 35        |
| 4.1.2. Omliggende percelen .....                           | 37        |
| 4.1.3. Discussie Verspreiding via pollen .....             | 46        |
| 4.2. Experiment 2 - Verspreiding via zaaimachine .....     | 48        |
| 4.2.1. Staalnames, analyses en verwerking.....             | 48        |
| 4.2.2. Resultaten.....                                     | 50        |
| 4.2.3. Discussie: verspreiding via zaaimachine.....        | 53        |
| 4.3. Experiment 3: Verspreiding via de oogstmachines ..... | 53        |
| 4.3.1. Oogstmachine snijmaïs: hakselaar .....              | 55        |
| 4.3.2. Oogstmachine korrelmaïs: dorser .....               | 56        |
| 4.3.3. Discussie: verspreiding via oogstmachines .....     | 57        |
| 4.4. Verspreiding tijdens het transport .....              | 59        |
| 4.5. Representatieve staalname.....                        | 60        |
| <b>5. Conclusies.....</b>                                  | <b>64</b> |
| <b>6. Bedankingen.....</b>                                 | <b>65</b> |
| <b>7. Referenties .....</b>                                | <b>66</b> |

## Lijst met figuren

|                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Figuur 1: Luchtfoto van de site waar de evaluatie van de co-existentieregelgeving werd uitgevoerd, met aanduiding van de locatie van de percelen waarop de evaluatie plaatsvond.</i> | 22 |
| <i>Figuur 2: Schematische weergave van de indeling van het veld in deelpercelen.</i>                                                                                                    | 23 |
| <i>Figuur 3 : Schematische weergave van de planning van de evaluatie van de co-existentie regelgeving in praktijkomstandigheden</i>                                                     | 24 |
| <i>Figuur 4 Planning van de korrelmaïsoogst uitgevoerd op 27 oktober 2010</i>                                                                                                           | 26 |
| <i>Figuur 5: Ligging van het KMI weerstation te Melle ten opzichte van de site waar de praktijktoets co-existentie werd uitgevoerd.</i>                                                 | 27 |
| <i>Figuur 6: Verloop van de minimum, gemiddelde en maximumtemperatuur gedurende het gehele teelseizoen.</i>                                                                             | 28 |
| <i>Figuur 7: Verloop van de hoeveelheid neerslag en relatieve vochtigheid gedurende het volledige teeltseizoen.</i>                                                                     | 28 |
| <i>Figuur 8 Ontwikkeling van de maïsplant met indicatie van de verschillende groeifasen (Bron figuur: University of Illinois).</i>                                                      | 30 |
| <i>Figuur 9 Schematische weergave van de werking van een ELISA dipstick.</i>                                                                                                            | 34 |
| <i>Figuur 10 Locatie van de pollen traps.</i>                                                                                                                                           | 34 |
| <i>Figuur 11: Schematische weergave van de velden die geanalyseerd werden om de verspreiding via pollen te bestuderen.</i>                                                              | 35 |
| <i>Figuur 12 Pollenmonitoring data</i>                                                                                                                                                  | 36 |
| <i>Figuur 13 Schematisch weergave van plaatsspecifieke bemonstering van handmatig geplukte kolven</i>                                                                                   | 37 |
| <i>Figuur 14 Schematische weergave van de stalen genomen met de mini-oogstmachines.</i>                                                                                                 | 40 |
| <i>Figuur 15 Schematische weergave van de omliggende percelen waarvan Greenpeace aan de rand puntstalen heeft ingezameld.</i>                                                           | 44 |
| <i>Figuur 16 Windroos grafiek met distributie van de voorkomende windrichtingen en –snelheden voor het gehele teeltseizoen (A) en gedurende periode van pollenvorming (B)</i>           | 47 |
| <i>Figuur 17 Proefopzet voor evaluatie van de verspreiding via de zaaimachine.</i>                                                                                                      | 48 |
| <i>Figuur 18 Schematische weergave van de staalname in veld 10 met de mini-hakselaar.</i>                                                                                               | 49 |
| <i>Figuur 19 Gekleurde maïskorrels gebruikt in de zaaisimulatie</i>                                                                                                                     | 49 |
| <i>Figuur 20 Resultaat van de ELISA dipstick sneltest op bladmateriaal verzameld in de eerste 100m....</i>                                                                              | 50 |
| <i>Figuur 21 Resultaat van de zaaisimulatie</i>                                                                                                                                         | 52 |
| <i>Figuur 22 Detailstudie van de zaaimachine</i>                                                                                                                                        | 53 |
| <i>Figuur 23 Ingezette oogstmachines - CNH FR-9060 voor oogst snijmaïs (A) en CNH CX-8050 voor oogst korrelmaïs (B)</i>                                                                 | 54 |

|                                                                                                                                                                       |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Figuur 24 Proefopzet voor evaluatie van de verspreiding via de oogstmachines. ....</i>                                                                             | <i>54</i> |
| <i>Figuur 25 Staalname in kader van de evaluatie van de verspreiding via de zaaimachine. ....</i>                                                                     | <i>55</i> |
| <i>Figuur 26 Doorsnede technische opbouw hakselaar CNH FR-906Q .....</i>                                                                                              | <i>57</i> |
| <i>Figuur 27 Bewerkt totaalbeeld CNH CX 8050 dorser met inkijk in de mechanische onderdelen (A) en<br/>gedetailleerde technische tekening van de opbouw (B). ....</i> | <i>58</i> |

## Lijst met tabellen

|                                                                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tabel 1 Gecertificeerde standaarden gebruikt in kwantitatieve MON810 real-time PCR analyses ....                                        | 32        |
| <i>Tabel 2 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de handmatig geplukte kolven. ....</i>                                            | <i>38</i> |
| Tabel 3 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de positieve stalen uit de handmatig geplukte kolven .....                          | 39        |
| <i>Tabel 4 Resultaten van de kwalitatieve analyse van stalen genomen met de mini-oogstmachines ....</i>                                 | <i>41</i> |
| <i>Tabel 5 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de positieve stalen genomen met de mini-oogstmachines.....</i>                   | <i>42</i> |
| <i>Tabel 6 Kwantitatieve resultaten van de deelstalen van 9A1, 9B1, 9A2 en 9B2. ....</i>                                                | <i>43</i> |
| <i>Tabel 7 Globale gewogen gemiddelde GGO gehaltes berekend op basis van puntstalen (% cp) .....</i>                                    | <i>43</i> |
| <i>Tabel 8 Resultaten van de kwalitatieve analyse van stalen genomen met de mini-hakselaar in veld 10 .....</i>                         | <i>51</i> |
| <i>Tabel 9 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de snijmaïsstalen genomen op perceel 12 .....</i>                                 | <i>53</i> |
| <i>Tabel 10 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de stalen genomen met de dorser. ....</i>                                        | <i>56</i> |
| <i>Tabel 11 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de positieve stalen van de stalen genomen met de dorser op perceel 12 .....</i> | <i>56</i> |
| <i>Tabel 12 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de bulkstalen .....</i>                                                          | <i>61</i> |
| <i>Tabel 13 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de bulkstalen. ....</i>                                                         | <i>61</i> |

## 1. Inleiding

Co-existentie duidt op het naast elkaar laten bestaan van verschillende productietypes, namelijk conventionele, biologische en genetisch gemodificeerde gewassen, binnen de bestaande landbouw. Hierdoor is de keuzevrijheid van de landbouwer gegarandeerd en dit met als bijkomende doelstelling dat het ene productietype geen schade zal veroorzaken aan de andere productietypes.

Gewassen en dus ook genetisch gemodificeerde gewassen, kunnen door verspreiding van pollen uitkruisen naar gewassen van dezelfde soort. Daarnaast kan ook verspreiding plaatsvinden door opslag en kan vermenging plaatsvinden bij het zaaien of planten, het oogsten en het transport. Om eventuele vermenging van gewassen te beperken en co-existentie mogelijk te maken dienen co-existentiemaatregelen te worden uitgewerkt. De oorzaken en de kansen op vermenging variëren per teelt en dus moeten de maatregelen dan ook teeltspecifiek zijn.

Het Europees wetgevend kader omtrent genetisch gemodificeerde organismen (GGO's) bestaat onder meer uit de Richtlijnen 2001/18/EG en 1829/2003 inzake de doelbewuste introductie van GGO's in het milieu respectievelijk het gebruik ervan bij de productie van voeding en veevoeders. De Europese lidstaten moeten, op grond van deze richtlijnen, ervoor zorgen dat alle nodige maatregelen worden genomen ter voorkoming van negatieve effecten van de introductie of het in de handel brengen van GGO's.

Specifiek met het oog op de uitvoering hiervan in de context van de primaire landbouwproductie heeft de Europese Commissie op 23 juli 2003 een aanbeveling (2003/556/EG) uitgevaardigd over het opstellen van richtsnoeren voor de ontwikkeling van nationale strategieën en beste werkwijzen om co-existentie van genetisch gemodificeerde gewassen met conventionele en biologische landbouw te kunnen garanderen. Co-existentieregels dienen om keuzevrijheid te verzekeren en economische schade te vermijden.

Door de Europese commissie wordt dit als volgt beschreven: *“Bij co-existentie gaat het om de praktische mogelijkheid voor de landbouwers om tussen conventionele, biologische en gg-gewassen te kiezen, met inachtneming van de wettelijke etiketteringsverplichtingen en/of zuiverheidsnormen. Door een accidentele aanwezigheid van ggo's boven de in de communautaire regelgeving vastgestelde tolerantiedrempel moet een gewas, dat bedoeld was als een gewas zonder ggo's, worden geëtiketteerd als een gewas dat ggo's bevat. Dit kan leiden tot inkomensderving door een lagere prijs voor het gewas of door problemen om het te commercialiseren. Bovendien bestaat de mogelijkheid dat landbouwers extra kosten moeten maken voor monitoringsystemen en voor maatregelen om de vermenging van gg- en niet-gg-gewassen minimaal te houden. Bij co-existentie gaat het dus om het mogelijke economische effect van de vermenging van gg- en niet-gg-gewassen, de bepaling van werkbare beheersmaatregelen om vermenging minimaal te houden en de kosten van dergelijke maatregelen.”*

Co-existentie betreft, in deze benadering, dus in het bijzonder de economische risico's of gevolgen die kunnen ontstaan als gevolg van een vermenging van een genetisch gemodificeerd gewas met een niet genetisch gemodificeerd gewas.

In België zijn de regio's verantwoordelijk om deze regelgeving uit te werken. Met het decreet van 3 april 2009, houdende de organisatie van de co-existentie van genetisch gemodificeerde gewassen met conventionele gewassen en biologische gewassen (Staatsblad van 4 mei 2009, C-2009/35368), wordt de rechtsgrondslag geschapen om in het Vlaamse Gewest uitvoering te geven aan de vermelde Europese richtlijn en richtsnoeren van de Europese Commissie. In dit decreet worden verschillende taken en bepalingen (voorwaarden, criteria, vormvereisten, e.a.) naar de bevoegdheid van de Vlaamse Regering doorverwezen. De besluiten van de Vlaamse regering (BVRs) van 15 oktober 2010 die de concrete procedures en de specifieke teeltvoorwaarden gewas per gewas vastleggen zijn goedgekeurd (Staatsblad van 30 november 2010, C – 2010/35913 en C – 2010/35914).

Het gebruik van GGO's in landbouw is tot vandaag een zeer gevoelig item. De redenen hiervoor zijn zeer divers van aard. De technologie kan echter voor de Vlaamse landbouw op termijn opportuniteiten bieden. Momenteel zijn twee GGO's geautoriseerd voor teelt in Europa: maïs MON810 en de Amflora aardappel. Maïs rassen die het event Mon810 bevatten zijn resistent tegen de "Europese maïs stengelboorder". Gezien deze plaag niet voorkomt in Vlaanderen heeft het gebruik van dit event in Vlaanderen geen economisch voordeel. De Amflora aardappel produceert zuiver amylopectine zetmeel wat gebruikt wordt in bepaalde technische toepassingen. Op het ogenblik loopt nog een procedure voor het goedkeuren van een maïs event dat herbicide resistent gemaakt is (NK603). Daarnaast wordt door bedrijven en onderzoeksinstituten ook sterk geïnvesteerd in de verbetering van ziekteresistentie bij aardappel via GGO technologie. Deze laatste eigenschap zou voor de Vlaamse akkerbouw erg interessant kunnen zijn.

Toepassing van deze en andere GGO's in de praktijk is echter pas mogelijk indien deze GGO's bovendien beschikbaar zijn in rassen die geschikt zijn voor de Vlaamse klimatologische omstandigheden. De investeringen door de zaadbedrijven in de ontwikkeling hiervan zijn sterk afhankelijk van de rechtszekerheid voor de exploitatie van de ontwikkelde rassen.

## 2. Doelstelling

Het is daarom belangrijk dat na het uitwerken van het juridisch kader en het concretiseren van de maatregelen via BVRs een praktijktoets van dit juridisch kader volgt. Dit zal toelaten een evaluatie te maken van de opgelegde procedures (o.a. toetsing van de praktische haalbaarheid voor landbouwer en loonwerker) en te demonstreren dat de doelstellingen op gebied van co-existentie kunnen gerealiseerd worden. De doelstelling van dit experiment omvat geen gedetailleerde vergelijking van de opbrengsten van de GGO maïs in vergelijking met conventionele maïs rassen.

In functie van die evaluatie welke kadert in de uitvoering van art. 19 van het decreet van 3 april 2009, werd op de terreinen van het ILVO een simulatie van een reële landbouwpraktijk uitgevoerd. Op een terrein gelegen in de gemeente Wetteren, werd een perceel van ongeveer 12 ha opgesplitst in deelpercelen, waarvan één werd ingezaaid met een maïs ras die het geautoriseerde event MON810 draagt en de andere met een niet-GGO ras met dezelfde genetische achtergrond. Deze teelt werd enerzijds gebruikt voor het evalueren van het regelgevend kader maar anderzijds ook voor het informeren van alle betrokken stakeholders, in het bijzonder de landbouwers en de loonwerkers.

### 3. De praktijktoets

#### 3.1. Proefopzet

De evaluatie van het decreet werd in de praktijk uitgevoerd op de terreinen van ILVO op een perceel van 12 ha (zie *Figuur 1*) door centraal een maïs ras dat het event MON810 bevat uit te zaaien, te telen en te oogsten. In de onmiddellijke omgeving rondom het GGO perceel werd ook conventionele maïs geteeld. Dit ras, met een genetische achtergrond sterk gelijkend op die van het GGO maïsras, is geselecteerd omwille van de synchrone bloei met de GGO ras. Hierdoor is maximale kruisbestuiving mogelijk. M.a.w. dit is het “slechtst mogelijke scenario” dat zich in de praktijk kan voordoen. Doordat de proefsite voldoende groot was valt de wettelijke bepaalde meldingsafstand volledig binnen het ILVO perceel.



*Figuur 1: Luchtfoto van de site waar de evaluatie van de co-existentieregelgeving werd uitgevoerd, met aanduiding van de locatie van de percelen waarop de evaluatie plaatsvond*

Het terrein werd in verschillende blokken opgesplitst en deze werden in de praktijktoets als verschillende percelen beheerd. Alle velden werden ingezaaid aan een dichtheid van 105.000 korrels/ha.

In *Figuur 2* is de proefopzet schematisch weergegeven. Het GGO veld van 1 ha werd centraal ingezaaid (veld nummer 10). Er omheen werden in de vier windrichtingen vier percelen van telkens ongeveer 1 ha aangelegd. Deze percelen werden gebruikt om **verspreiding via pollen**, door uitkruising vanuit het GGO-veld naar de omliggende niet-GGO percelen, te bekijken. Twee van deze percelen liggen op een afstand van 50 m (veld nummer 4 en 7), één perceel op 80 m (veld nummer 3) en één perceel onmiddellijk aansluitend op het GGO perceel (veld nummer 9). Dit laat toe om de in het BVR voorgestelde isolatieafstand van 50 meter te evalueren. De isolatiezone van 50 m werd braak gelaten terwijl de isolatiezone van 80 meter begroeid was met gras.

Daarnaast was er ook aandacht voor de impact van de handelingen van de loonwerker op de mogelijke verspreiding van de GGO maïs. Zo werd er één veld ingezaaid onmiddellijk na het GGO veld om de **verspreiding via de zaaimachine** te bekijken (veld nummer 11). Tevens werden er tijdens de

oogst monsters genomen op de commercieel gebruikte oogstmachines van een veld dat onmiddellijk na het GGO veld werd geoogst. Dit om de **verspreiding via de oogstmachines** te evalueren. De helft van alle onderzochte velden, met uitzondering van veld 10, werd als **snijmaïs** geoogst, de andere helft als **korrelmaïs**. Zodoende kon de invloed van de handelingen gekoppeld aan de specifieke verwerking en het gebruik van maïs op de vermenging worden bekeken.

Tijdens de teelt, maar vooral tijdens de oogst werden monsters genomen om aan de hand van analyses hiervan na te gaan of verspreiding van de GGO maïs in de niet-GGO maïs heeft plaats gevonden en, indien dit het geval zou zijn, of de drempelwaarde voor etikettering overschreden is.

Ook ging er tijdens de uitvoering van deze praktijktoets aandacht naar het opstellen van **haalbare scenario's voor het uitvoeren van bemonstering en analyses** in het kader van monitoring en eventuele klachten rond mogelijke vermenging.



**Figuur 2: Schematische weergave van de indeling van het veld in deelpercelen**

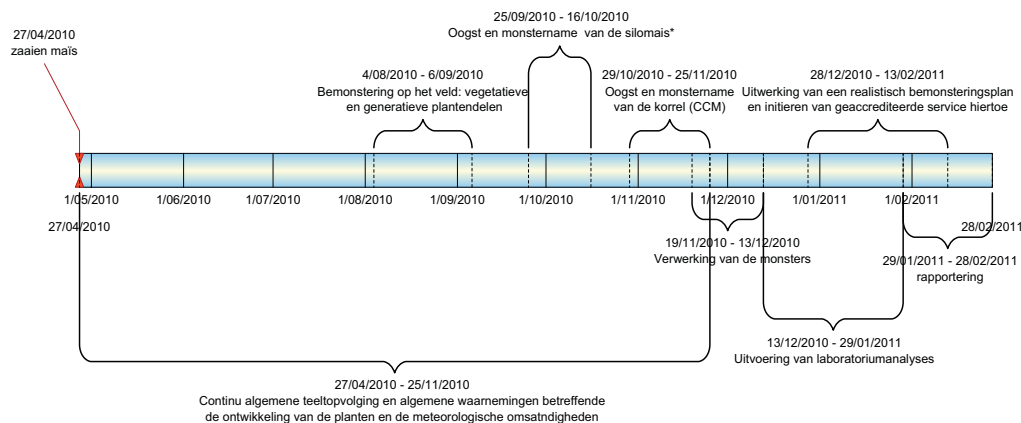
Omdat het beschikbaar zijn van representatieve monsters en de kwaliteit ervan cruciaal zijn voor de juistheid van de analyseresultaten, werkt ILVO op basis van de onderzoeksresultaten een scenario uit voor bemonstering en bewaring van de monsters. Hierbij wordt gestreefd naar een balans tussen praktische haalbaarheid, kost en een zo klein mogelijke foutenmarge op het analyseresultaat.

Naderhand zal dit scenario in overleg met de overheid en de stakeholders omgezet worden naar de praktijk, om op een gestandaardiseerde manier bemonstering uit te voeren en de monsters in optimale omstandigheden te bewaren tot wanneer een eventuele laboratoriumanalyse vereist is. Door monsters te bewaren kunnen we vermijden dat standaard voor elke niet-GGO partij analyses worden uitgevoerd, wat een hoge kost met zich meebrengt. Anderzijds zorgen we er zodoende ook voor dat, indien analyseresultaten noodzakelijk zijn, dit kan gebeuren op één monster representatief voor de ganse partij.

## 3.2. Algemene beschrijving van het experiment

### 3.2.1. Praktisch verloop

Het veldwerk heeft plaatsgevonden in de periode van 27 april tot 4 november 2010. De maïs werd ingezaaid op 27 april 2010. Voor een schematisch overzicht van het volledige verloop van het experiment verwijzen we naar Figuur 3.



**Figuur 3 : Schematische weergave van de planning van de evaluatie van de co-existent regelgeving in praktijkomstandigheden**

Naar aanleiding van de uitzaai organiseerde ILVO ter plaatse een bijeenkomst met pers en stakeholders. Greenpeace voerde tijdens dit event actie tegen deze proef. Actievoerders strooiden bloemenzaad uit op het perceel in Wetteren. Zij ontvouwen ook verschillende spandoeken met de slogan "Zaai veilig of zaai niet". De aanwezige ordediensten zorgden ervoor dat alles correct en zonder incidenten kon verlopen. Greenpeace kreeg de gelegenheid zijn boodschap te verspreiden en ILVO kon de proef uitvoeren zoals gepland. Onderzoekers van ILVO en vertegenwoordigers van Greenpeace kwamen overeen om tijdens het verloop van de proef en nadien overleg te hebben over de proef en de resultaten ervan. Tijdens de door ILVO georganiseerde persconferentie werd door de onderzoekers de context, de doelstelling en de planning van de proef toegelicht. De meningen van zowel ILVO als de NGOs, waaronder Greenpeace kwamen uitvoerig aan bod in de geschreven pers, zowel in vakbladen als Boer en Tuinder, Landbouwleven en Drietand als in de algemene pers (o.a. Het Nieuwsblad).

De opkomst en de groei van de maïs kende een normaal verloop.

Op 15 september 2010 verspreidde Greenpeace een persbericht. Daarin werd gesteld dat er in Wetteren “besmetting” was aangetroffen in de percelen van naburige boeren: “Vijf van de zestien stalen testten positief. Het geval bewijst nog maar eens dat co-existentie van ggo-, conventionele en biolandbouw onmogelijk is. Daarom moet Vlaanderen een ggo-vrije zone worden.”, stelde Greenpeace.

ILVO counterde deze uitspraak in een eigen persbericht. In dit bericht werd de communicatie van Greenpeace en Bioforum voorbarig genoemd. Twee maanden voor de laatste geplande staalnames en 6 maanden voor het finaal rapport, ging Greenpeace over tot een eigen niet-representatief deelonderzoek op basis van een beperkt aantal puntstalen verzameld in de zes omliggende velden. ILVO voerde analoge, maar veel uitgebreidere en representatieve staalnames uit en deed dit in de aanwezigheid van door de Overheid beëdigde staalnemers en een Gerechtsdeurwaarder. Deze, maar ook alle andere analyses in dit experiment werden in een hiervoor geaccrediteerd labo uitgevoerd, waarbij de door de EU voorgeschreven analyses werden toegepast.

ILVO betreurde dat Greenpeace dit initiatief heeft genomen zonder overleg met ILVO omdat samenwerking zowel op vlak van monsternames als op vlak van analyse perfect mogelijk was geweest. Kort daarna, met name op 27 oktober 2010, was er een overleg van ILVO met een vertegenwoordiger van Greenpeace. Het bleek dat de experimentele data van zowel ILVO als Greenpeace *grosso modo* overeenkomen. Greenpeace stelde aan de rand van één buurperceel een vermenging vast van respectievelijk 0.1% en 0.2%. Bij de twee andere percelen die door Greenpeace als “gecontamineerd” werden gecommuniceerd werden drie punten, weerom aan de perceelsrand “positief” bevonden. De vermenging hier was echter zo laag dat kwantificering niet mogelijk is. Conclusie is dat zelfs op de punten in de buurpercelen waar er de grootste kans bestaat op vermenging (door uitkruising) de grenswaarde van 0.9% niet overschreden is. Bovendien geldt de 0.9% grenswaarde voor etikettering voor de gehele partij. Wetende dat verder in het veld de vermenging lager is dan aan de perceelsgrens, is de conclusie overduidelijk dat voor de betreffende velden er zich geen enkel probleem stelt. De communicatie van Greenpeace dat de door hun aangebrachte resultaten zou bewijzen dat het Vlaamse Decreet en de BVRs niet werken kan wetenschappelijk niet onderbouwd worden op basis van de door Greenpeace gecommuniceerde gegevens. ILVO organiseerde wel een representatieve staalname (zie verder in dit rapport) in de omliggende percelen. Conclusie hiervan was dat voor deze percelen de voorwaarden zoals beschreven in het BVR ruim voldoende zijn om de vooropgezette doelstellingen te bereiken (gedetailleerde bespreking van deze resultaten zie verder in de tekst).

Het grootste deel van de ingezaaide maïs werd geoogst als snijmaïs door de Eenheid Dier van het ILVO (cfr. Figuur 2). Alle omliggende velden die niet bemonsterd werden, samen met de helft van de bemonsterde percelen en perceel 10, ingezaaid na het GGO-veld, werden op 12 oktober 2010 geoogst. op. Op diezelfde dag werden ook, met een voor onderzoek aangepaste mini-hakselaar, plaats specifieke puntstalen genomen. De geoogste snijmaïs werd voor een deel in balen en voor een deel op de klassieke manier ingekuuld in een silo.

Een tweetal weken later, op 27 oktober 2010 werden alle resterende percelen maïs geoogst als korrelmaïs. Op dit ogenblik was het vochtgehalte in de korrels voldoende laag om te komen tot een

goed eindproduct. Het drogestofgehalte van de kolven op dit moment was ongeveer 65%. Op de hoeve van de ILVO eenheid Dier werd het geoogste product vermalen tot Corn Cob Mix (CCM). Het vermalen product wordt in een plastic sleuf geperst, afgesloten van de lucht, waarin het net zoals snijmaïs kan fermenteren tot een energierijk krachtvoer. De laatste oogstactiviteiten met een mini-dorsmachine werden uitgevoerd op 4 november 2010.



**Figuur 4 Planning van de korrelmaïsoogst uitgevoerd op 27 oktober 2010**

In *Figuur 4* geven de nummers in de velden de volgorde van oogsten aan. Zo is het bvb. belangrijk dat het centrale GGO-veld (veld nr. 5 in *Figuur 4*) als voorlaatste werd geoogst. Zodoende vermijden we contaminatie in de oogst van de andere velden, maar kan de verspreiding van geoogst GGO materiaal nog geëvalueerd worden tijdens de oogst van het daaropvolgende laatste veld (veld 6 in *Figuur 4*).

### 3.2.2. Klimatologische data

Voor het gehele teeltseizoen van de maïs, zijnde van 27 april tot 4 november 2010, werden de klimatologische data opgevraagd van het KMI weerstation te Melle. Dit automatisch weerstation van het KMI bevindt zich op de site van de Proefhoeve van de Universiteit Gent, langs de Proefhoevestraat, 9090 Melle. Zoals blijkt uit onderstaande *Figuur 5*, ligt dit weerstation op minder dan 1 km van de site waar de praktijktoets co-existentie werd uitgevoerd. Bijgevolg zijn de bekomen data dan ook als zeer representatief te beschouwen voor de werkelijke condities op de nabijgelegen proefsite zelf.

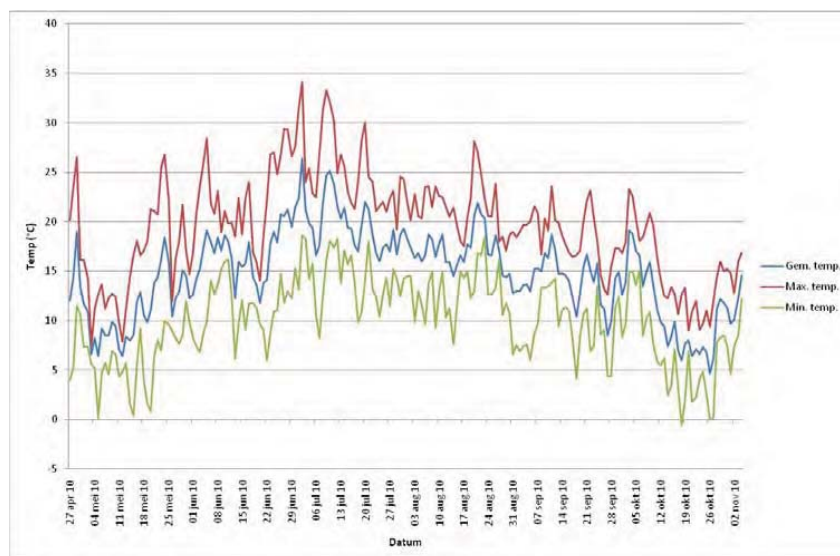
Volgende klimatologische gegevens van dit weerstation werden opgevraagd:

- gemiddelde, maximum en minimum luchttemperatuur in hut (°C)
- neerslaghoeveelheid (l/m<sup>2</sup> of mm)
- relatieve luchtvochtigheid in hut (%)
- gemiddelde windsnelheid (m/s)
- windrichting om 14u

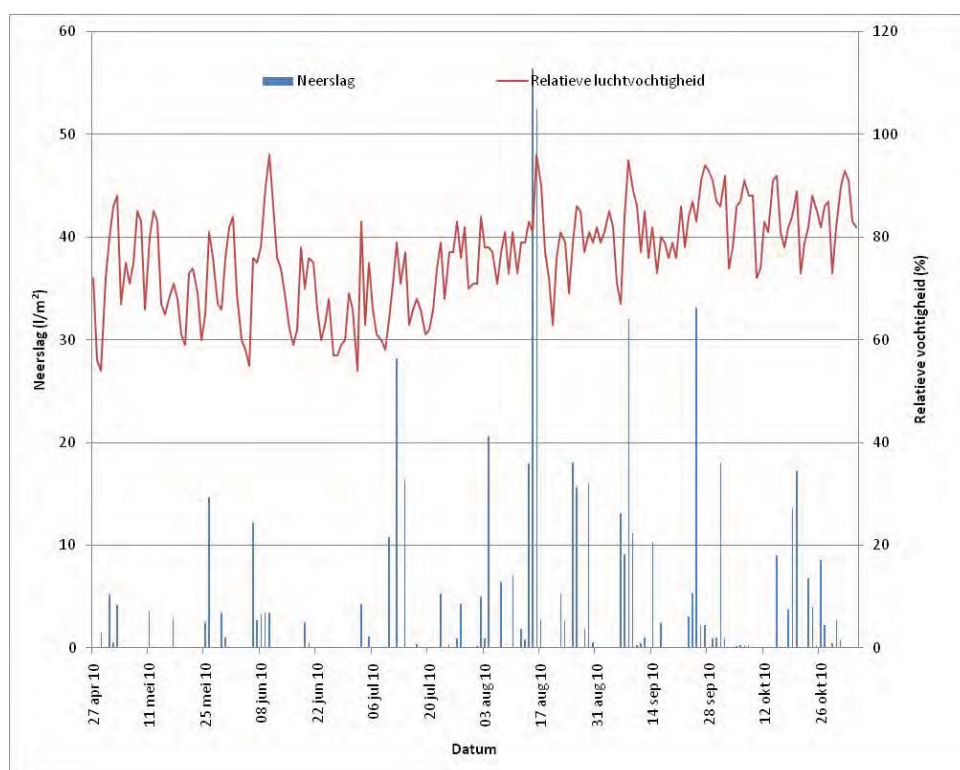


**Figuur 5: Ligging van het KMI weerstation te Melle ten opzichte van de site waar de praktijktoets co-existentie werd uitgevoerd**

In de volgende grafieken is het verloop van de dagelijkse gemiddelden van de meest relevante parameters weergegeven: de gemiddelde, minimale en maximale luchttemperatuur (*Figuur 6*) en de gemiddelde neerslaghoeveelheid en relatieve luchtvochtigheid (*Figuur 7*).



**Figuur 6:** Verloop van de minimum, gemiddelde en maximumtemperatuur gedurende het gehele teeltseizoen



**Figuur 7:** Verloop van de hoeveelheid neerslag en relatieve vochtigheid gedurende het volledige teeltseizoen

### 3.2.3. Methodologie

Zoals in de proefopzet beschreven (zie 3.1) is het de bedoeling om via een gerichte onderzoeksaanpak te komen tot een evaluatie van de teeltspecifieke richtlijnen voor maïs opgesteld in het kader van de co-existentieregelgeving. In de praktijktoets hier beschreven was er tijdens het onderzoek dan ook aandacht voor alle belangrijke bronnen van verspreiding van GGO materiaal die kunnen voorkomen tijdens de teelt van GGO maïs, zoals deze in de praktijk zou uitgevoerd worden.

De belangrijkste bronnen van verspreiding gekoppeld aan de maïssteelt zijn de volgende:

- **Verspreiding via pollen:** doordat het GM gewas pollen gaat produceren dat met de wind kan verplaatst worden, kan er kruisbestuiving optreden in omliggende niet-GGO percelen. Indien deze kruisbestuiving succesvol heeft plaatsgevonden, geeft dit aanleiding tot maïskorrels waarvan een deel van het genetisch materiaal afkomstig is van het GGO gewas (pollendonor). Op die manier is het dus mogelijk dat er GGO maïskorrels worden gevormd in omliggende niet GGO-percelen.
- **Vermenging en verspreiding via menselijke handelingen:** bij de maïssteelt en –oogst zijn er een aantal handelingen die mogelijks aanleiding kunnen geven tot vermenging van GG maïs met niet-GG maïs of verspreiding ervan in de omgeving. Hier maken we verder het onderscheid tussen:
  - **Verspreiding via de zaaimachine**
  - **Verspreiding via de oogstmachine**
  - **Verspreiding tijdens transport**

Om de hierboven beschreven vormen van verspreiding en vermenging te kunnen bestuderen, werd steeds hetzelfde stappenplan gevolgd dat in de volgende paragrafen wordt beschreven.

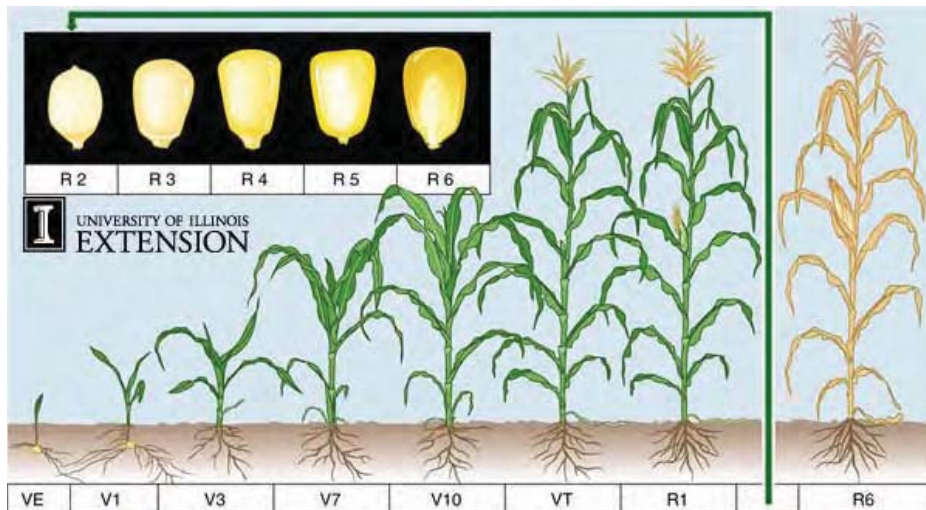
#### 3.2.3.1. Staalname –Bemonstering

Voor de experimenten verder in het document beschreven werden telkens meerdere stalen, van verschillende oorsprong, genomen.

Een eerste staalname gebeurde in functie van het bestuderen van het veranderende GGO gehalte bij een niet-GGO plant die bestoven werd met pollen van een GGO plant. M.a.w. werd gekeken naar het GGO gehalte in functie van de **ontwikkeling van de maïsplant**. De ontwikkeling van de maïsplant gedurende het groeiseizoen is weergegeven in *Figuur 8*. Na het zaaien kiemt de korrel en groeit deze uit tot een plant die initieel alleen maar bestaat uit **vegetatieve**, niet-reproductieve plantendelen (wortel, stengel, bladeren; stadia VE-V10 in *Figuur 8*). Na het kiemen van een GGO maïskorrel kan het gevormde bladmateriaal dus reeds gebruikt worden om GGO/niet-GGO herkomst van de ontwikkelende maïsplant te onderzoeken.

Na een vegetatieve groeifase verschijnen de eerste **reproductieve** organen op de maïsplant. Eerst verschijnt de mannelijke pluim (*Figuur 8*, stadium VT) waarin het pollen wordt geproduceerd en zich van daaruit met de wind kan verspreiden. Van zodra **pollen** gevormd wordt en zich met de wind gaat verspreiden, kan ook dit bemonsterd worden via zogenaamde ‘pollen traps’. Vervolgens verschijnen de maïskolven, waarop na bevruchting de maïskorrels worden gevormd en verdere afrijping gaat

plaatsvinden (*Figuur 8*, stadia R1-R6). Naast volledige planten werden in de eindfase van de groei van de maïsplant de **kolven** bemonsterd werd. Op de niet-GGO planten zijn het immers enkel de **korrels** in de kolven die gevormd worden na bestuiving met GGO pollen, die GGO DNA kunnen bevatten. Alle andere plantdelen van de niet-GGO plant (pollenacceptor, moederplant) die het pollen van een GGO-plant (pollendonor, vaderplant) ontvangt, bestaan immers volledig uit niet-GGO materiaal.



*Figuur 8 Ontwikkeling van de maïsplant met indicatie van de verschillende groeifasen (Bron figuur: University of Illinois)*

Naast het onderscheid tussen de stalen genomen gedurende de ontwikkeling van de maïsplant (bladmateriaal, pollen, kolven en korrels), werd er verder ook onderscheid gemaakt op basis van het gebruik van de maïs. In Vlaanderen wordt ongeveer 70% van het areaal geteeld voor gebruik als snijmaïs, 30 % wordt geteeld voor de korrelmaïs. Om uitspraken te kunnen doen over de bruikbaarheid van de voorgestelde teeltspecifieke co-existentieregels werden beide gebruiken onder de loep genomen. De helft van alle onderzochte velden, met uitzondering van veld 10, werd als **snijmaïs** geoogst, de andere helft als **korrelmaïs**. Zodoende kon de invloed van handelingen gekoppeld aan de specifieke verwerking en gebruik van maïs op de verschillende analyses worden bekeken. Tijdens de oogst van respectievelijk snij- en korrelmaïs werden stalen verzameld met enerzijds voor onderzoek aangepaste mini-hakselaar en mini-dorsers en anderzijds werden er stalen genomen uit het geoogste materiaal bekomen via in de praktijk gebruikte maïsdorsers en -hakselaars.

### *3.2.3.2. Verwerking van monsters*

Zoals hierboven beschreven werd een uitgebreide set van diverse stalen verzameld gedurende het volledige experiment. Het spreekt voor zich dat alle genomen stalen op een eenduidige manier werden gelabeld zodat een verdere geordende verwerking en analyse mogelijk was. Hieronder wordt voor de verschillende stalen weergegeven hoe deze verwerkt werden vooraleer ze geanalyseerd konden worden.

**Bladmateriaal**

Bladmateriaal dat verzameld werd op het veld om finaal gebruikt te worden in een real-time PCR analyse werd onmiddellijk ondergedompeld in vloeibare stikstof en vervolgens in het labo bewaard bij -80°C. Hierna werd het gevriesdroogd, waarna het dan kon vermalen worden met een analytische molen. Dit poeder werd dan gebruikt in een DNA extractie (zie 3.2.3.3).

Bladmateriaal geoogst met de bedoeling om gebruikt te worden in de ELISA dipstick test (zie 3.2.3.3) heeft geen uitgebreide verwerking nodig. Deze sneltest kan immers op vers bladmateriaal gebeuren, mits kneuzen van het blad in een buisje in de aanwezigheid van een buffervloeistof.

**Pollen**

Pollen werd gevangen met speciaal daarvoor ontworpen pollen traps. Deze pollen traps laten toe om vast te stellen hoeveel pollen op een bepaalde plaats is terechtgekomen. Via DNA extractie en real-time PCR analyse van het pollen verzameld in deze 'traps', is het mogelijk GGO/ niet-GGO gehalte te bepalen.

**Kolven**

Op het einde van het groeiseizoen werden op welbepaalde plaatsen in het veld handmatig kolven geoogst. Deze kolven werden vervolgens manueel of machinaal ontkorrelt. In functie van het tijdstip waarop deze kolven werden geoogst, werden deze al dan niet nog door middel van warme lucht (30-34°C) gedroogd in een kistendroger gedurende 1-2 dagen. Hiervoor werd beroep gedaan op de zaaddrooginstallatie van de Eenheid PLANT. De bekomen korrels werden hierna vermalen tot poeder, dat in een volgende stap gebruikt werd in een DNA extractie.

**Snijmaïs**

De stalen van snijmaïs geoogst met de mini-hakselaar of commerciële hakselaar werden steeds gedroogd aan warme lucht in een kistendroger. Na het droogproces werd het gedroogde materiaal in een analytische molen vermalen tot poeder, en dat werd in een volgende stap gebruikt voor DNA extractie.

**Korrelmaïs**

De stalen van de korrelmaïs bekomen met zowel de mini-dorser als de commerciële dorser werden eveneens gedroogd aan warme lucht in een kistendroger. Net zoals voor de korrels afkomstig van de handmatige geoogste kolven werden deze vermalen tot poeder, dat in een volgende stap werd gebruikt voor DNA extractie.

**3.2.3.3. Analyse van de monsters**

Verschillende analysestrategieën werden in dit experiment aangewend en gecombineerd om een maximale hoeveelheid aan bruikbare resultaten te genereren. De analyses werden uitgevoerd in het ILVO laboratorium van Technologie en Voeding dat geaccrediteerd is voor GGO analyses (volgens ISO17025) en gebruik makend van analyseprotocollen zoals voorgeschreven door het Europees Referentielaboratorium (EURL).

**Analyse via real-time PCR**

De voorbereidende stap die de eigenlijke PCR analyse voorafgaat is de DNA extractie. Op alle poeders bekomen na vermalen van de gedroogde stalen (blad, korrel, snijmaïs) werd een DNA extractie uitgevoerd met een QIAGEN DNeasy Plant kit, volgens het protocol zoals voorgeschreven door de producent. Het bekomen DNA werd dan gebruikt voor het uitvoeren van de real-time PCR analyse.

Real-time PCR is de analysetechniek die in dit onderzoek het vaakst werd gebruikt om resultaten te genereren. In tegenstelling tot klassieke PCR, waarbij de PCR-producten gedetecteerd worden nadat de reactie volledig afgelopen is, wordt bij real-time PCR (QPCR) het DNA gekwantificeerd door het meten van de kinetiek van de PCR. Kwantificering is gesteund op accumulatie van PCR-product tijdens de PCR. Dit wordt gemeten a.d.h.v. een fluorescentiesignaal. Hoe meer PCR-reactieproduct gevormd wordt, hoe hoger de gemeten fluorescentie. De sterkte van het fluorescentiesignaal is recht evenredig met de hoeveelheid van het op te sporen DNA fragment in het DNA extract. In dit geval het DNA fragment waardoor een GGO maïs zich onderscheidt van een niet-GGO maïs.

Voor real-time PCR analyse van alle stalen genomen in het kader van deze studie werd gebruik gemaakt van de MON810 specifieke methode die gevalideerd werd door het EU 'Community Reference Laboratory for GM Food and Feed' (CRL, 2006). Steeds werd in twee stappen gewerkt. In een eerste stap werd via een **kwalitatieve analyse** bekeken of er al dan niet MON810 GGO DNA kon worden gedetecteerd. Indien dit het geval was werd een **kwantitatieve analyse** uitgevoerd die toeliet om het GGO-gehalte in het staal te bepalen. Voor deze kwantitatieve analyse werd gebruik gemaakt van een set van gecertificeerde standaarden, afgeleverd door het Instituut voor Referentie materialen en metingen (IRMM) in Geel, België, deel van het EU Joint Research Centre (IRMM, 2011; Trapmann *et al.* 2001). Door gebruik te maken van de 5 standaarden beschreven in Tabel 1 in alle kwantitatieve real-time PCR analyses, is het mogelijk een standaardcurve op te stellen. Deze standaardcurve laat dan toe om de MON810 gehalten in een staal met onbekende inhoud nauwkeurig in te bepalen.

**Tabel 1 Gecertificeerde standaarden gebruikt in kwantitatieve MON810 real-time PCR analyses**

|                   | Gecertificeerde waarde MON810 massa fractie |     | Onzekerheid |
|-------------------|---------------------------------------------|-----|-------------|
|                   | g/kg                                        | %   | g/kg        |
| ERM-BF413b        | 1,0                                         | 0,1 | 0,26        |
| ERM-BF413c        | 5,0                                         | 0,5 | 0,40        |
| <b>ERM-BF413d</b> | 10,0                                        | 1,0 | 0,50        |
| ERM-BF413e        | 20,0                                        | 2,0 | 0,60        |
| ERM-BF413f        | 50,0                                        | 5,0 | 1,10        |

ERM-BF413d, in het vet weergegeven in Tabel 1, werd tevens als controlestaal (positieve controle) meegenomen in alle kwalitatieve runs. Dit laat toe om de herhaalbaarheid van de analyse gedurende de volledige analysefase van deze praktijktoets op te volgen.

In 2004 verscheen de EU Aanbeveling 787/2004 die adviseert om het GGO gehalte in genetisch gewijzigd voedsel en voeder uit te drukken als het percentage van GM DNA kopijaantallen in verhouding tot een target taxon-specifiek DNA kopijaantal, en dit uitgedrukt in termen van haploïde genomen, de zogenaamde DNA kopijaantal verhouding of "haploid genome equivalents" ("HGE") (EU 2004). Deze DNA kopijaantal verhouding, uitgedrukt in percenten, wordt bepaald volgens de volgende formule:

$$\text{DNA kopijaantal verhouding} = \frac{\text{GM DNA kopij aantallen [cp]}}{\text{Target taxon-specifieke DNA kopij aantallen [cp]}} \times 100\%$$

De 1% IRMM standaard (ERM-BF413d, gewichtspercentage) werd geproduceerd op basis van heterozygote maïskorrels, geoogst op GGO moederplanten, die bestoven werden door pollen van een niet-GGO (wild type) vaderlijn. Aangezien de IRMM standaard ERM-BF413d gecertificeerd is voor het kopij aantal (Charels *et al.* 2007), is het mogelijk om de gehalten gedetecteerd in de MON810 positieve stalen uit deze studie ook uit te drukken als DNA kopij verhouding. Concreet stemt de gecertificeerde 1% (w/w %) waarde van de CRM van IRMM, overeen met 0.57 % (HGE/HGE %) gecertificeerde waarde. De “w/w” staat hier voor “weight/weight”. Dit betekent dat voor elke berekende waarde %w/w in de real-time kwantificatie (waarde bekomen a.d.h.v. de bovenvermelde standaardreeks van IRMM), deze waarde vermenigvuldigd met 0.57, de waarde % HGE/HGE oplevert. De % HGE/HGE notatie wordt voor de leesbaarheid verder in het document vervangen door cp% (copy percentage). Rekening houdend met de EU aanbeveling 787/2004/EC worden alle kwantitatieve data in dit rapport dan ook uitgedrukt als een procentuele DNA kopij aantal verhouding (kortweg genompercentages).

Het uitdrukken van resultaten als genompercentages, en niet als gewichtspercentages, is belangrijk om correcte vergelijkingen te kunnen maken tussen verschillende experimenten. De argumentatie hiervoor werd uitvoerig beschreven in verschillende wetenschappelijke publicaties (zie o.a. Trifa & Zhang 2004; Papazova *et al.* 2006).

#### **Analyse via ELISA-dipstick**

In tegenstelling tot de real-time PCR analyse die werkt op DNA niveau, maakt de ELISA-dipstick test een onderscheid tussen MON810 en niet-GGO planten op basis van een eiwit-gebaseerde detectie. Deze techniek werd ingezet als sneltest voor het opzoeken van Cry1 Ab eiwit. Cry1 Ab is het eiwit dat specifiek door de MON810 GGO planten wordt aangemaakt en afwezig is in de niet-GGO maïs planten.

Het principe van deze techniek is gebaseerd op de ELISA test, Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, die gebruik maakt van specifieke antilichamen. Dit is geïllustreerd in *Figuur 9*. Antilichamen specifiek voor de Cry1 Ab eiwit worden gekoppeld aan een gekleurd reagens en geïncorporeerd in een laterale ‘flow’ strip, de zogenaamde dipstick. Wanneer deze strip in een kleine hoeveelheid Cry1 Ab bevattend plantenextract wordt geplaatst, zal binding optreden tussen de gekoppelde antilichamen en het eiwit. Onder invloed van capillaire krachten zal het eiwit-antilichaam complex door de dipstick migreren. Verderop in de dipstick bevindt zich een eerste lijn die eveneens Cry1 Ab bindende antilichamen bevat. Doordat deze antilichamen nog kunnen binden op het Cry1 Ab eiwit, in het eiwit-antilichaam complex dat passeert, is het mogelijk om via een kleurreactie deze binding te visualiseren. Verderop in de dipstick tenslotte zitten er nog een lijn met niet-specifieke antilichamen die enkel het anti- Cry1 Ab antilichaam herkennen, maar niet het Cry1 Ab eiwit. Ook bij het optreden van deze binding is een verkleuring waar te nemen. Deze laatste verkleuring bevestigt enkel dat de test succesvol werd uitgevoerd. Enkel wanneer er twee gekleurde strepen verschijnen werd het Cry1 Ab eiwit gedetecteerd en is het geteste staal dus positief voor MON810.



## 4. Uitgevoerde Experimenten

### 4.1. Experiment 1 - Verspreiding via pollen

Verspreiding via pollen vanuit het centraal aangelegde GGO veld werd bestudeerd door analyse van monsters genomen in de 4 specifiek daarvoor ingezaaide omliggende niet-GGO velden op het ILVO proefterrein. Bijkomend werden eveneens, met het akkoord van de eigenaars, monsters genomen in een aantal naburige maïs percelen.

#### 4.1.1. Experiment op ILVO perceel

Zoals aangegeven in *Figuur 11* werden voor het evalueren van de verspreiding via pollen vier verschillende velden bemonsterd: velden 4 en 7 liggen op een afstand van 50 m, respectievelijk ten noordoosten en zuidwesten van het centrale GGO veld. Veld 3 start op 80 m van het GGO veld en ligt ten zuidoosten ervan. Tevens werd perceel 9 onmiddellijk aansluitend op het GGO perceel aangelegd, en dit ten noordwesten van het GGO veld. Deze opzet laat toe om de in het BVR voorgestelde isolatieafstand van 50 meter te evalueren.



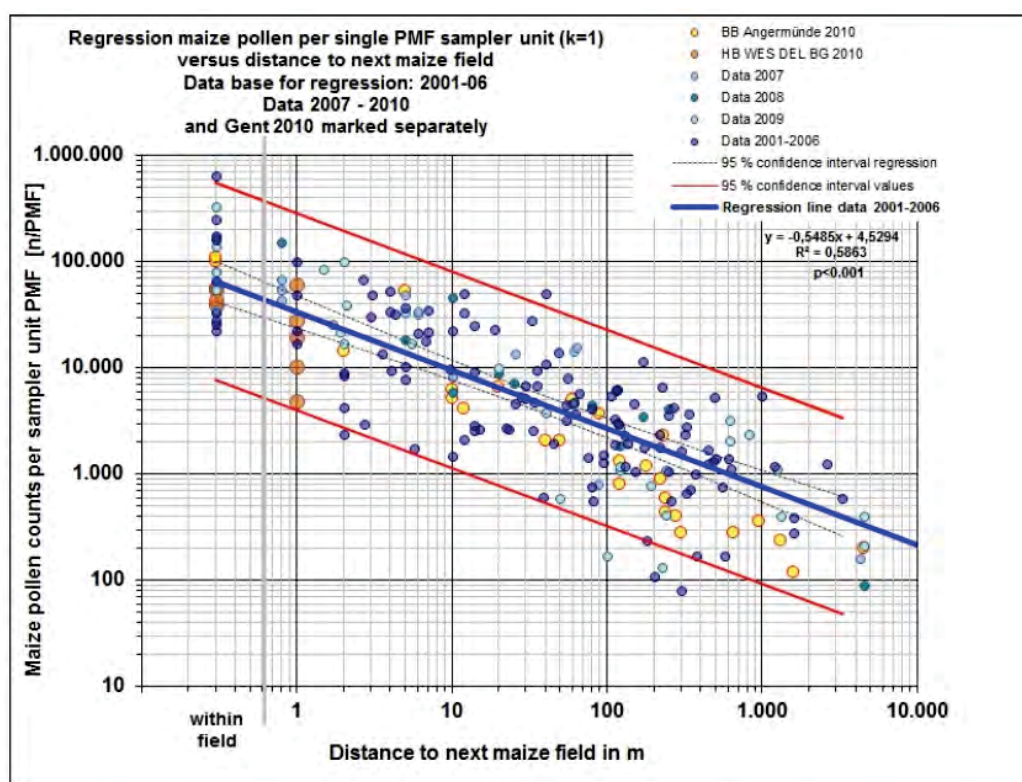
**Figuur 11: Schematische weergave van de velden die geanalyseerd werden om de verspreiding via pollen te bestuderen**

Verschiede monsternames werden uitgevoerd om na analyse hiervan inzicht te krijgen in de verspreiding van GM materiaal via pollen. De verschillende monsternames, analyses en resultaten hiervan worden in de volgende paragrafen beschreven. We maken het onderscheid tussen plaatsspecifieke stalen en bulkstalen, representatief voor het ganse veld.

Plaatsspecifieke stalen werden enerzijds genomen door handmatig kolven te gaan plukken in de omliggende niet-GGO percelen, anderzijds door met de daarvoor aangepaste mini-oogstmachines stalen te verzamelen. Bulkstalen werden samengesteld op basis van genomen puntstalen.

Onderstaande tabel geeft de resultaten van de pollenmonitoring weer. Deze monitoring en de analyses van de pollen werden uitgevoerd door het EU-JRC, Ispra, Italië. De gevonden pollenaantallen op de traps vallen binnen de verwachtingen, rekening houdend met hun positie en de data bekomen in eerdere experimenten uitgevoerd door deze organisatie op andere locaties (Onderstaande tabel en Figuur 12). De PCR analyse was enkel succesvol na gebruik van opgezuiverd DNA maar de bekomen resultaten stemmen overeen met de verder beschreven resultaten.

| Sample | Pollen count<br>(intact pollen<br>grains) | Volume of<br>extract in PCR<br>( $\mu$ l) | Ct <i>hmg</i> | Ct <i>Mon810</i> | % GM (HGE) |
|--------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------|------------------|------------|
| PMF1   | 3000                                      | 1                                         | NEG           | NEG              |            |
| PMF2   | 29800                                     | 1                                         | 31.5          | NEG              | 0          |
| PMF3   | 20300                                     | 1                                         | 32.2          | 38.1             | 1.8        |
| PMF4*  | 15000                                     | 1                                         | 34.6          | 37.2             | 14.5       |
| PMF5   | 17000                                     | 1                                         | 32.3          | 36.8             | 4.3        |
| PMF6   | 12800                                     | 1                                         | 32.1          | 36.5             | 5          |
| PMF7   | 7400                                      | 1                                         | 34.8          | 45.9             | <0.1       |
| PMF8   | 30400                                     | 1                                         | 31.8          | NEG              | 0          |
| PC     | 40000                                     | 5                                         | 26.1          | 31.4             | 3.6        |
| NC     | 16400                                     | 5                                         | 27.9          | NEG              | 0          |



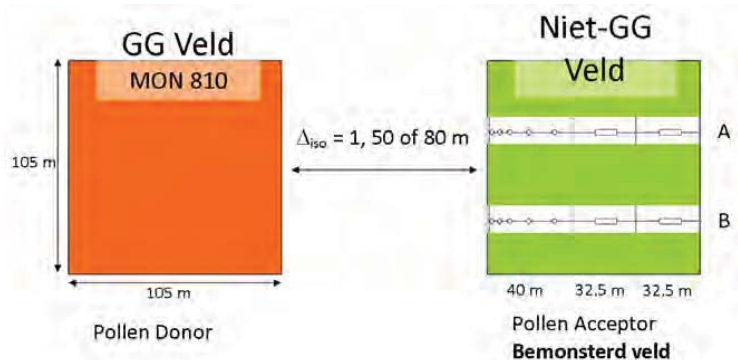
Figuur 12 Pollenmonitoring data

#### 4.1.1.1. Eerste set puntstalen: handmatig geoogste kolven

In de omliggende niet-GGO percelen zijn het enkel de korrels in de kolven die het resultaat zijn van bestuiving met GGO pollen, die GGO DNA kunnen bevatten. Alle andere plantendelen van de niet-GGO planten in de omliggende velden bestaan immers volledig uit niet-GGO materiaal. Bij snijmaïs zorgt dit maternaal, niet-GGO materiaal voor verdunning van GGO gehalte afkomstig van korrels gevormd na bestuiving met GGO pollen.

##### Staalname en verwerking

In onderstaande *Figuur 13* is schematisch weergegeven hoe de handmatig geplukte kolven werden geoogst in velden 3 (op 80 m), velden 4 & 7 (beide op 50 m) en veld 9 (op 0 m) (naar analogie met Van de Wiel *et al.* 2009). De stalen werden genomen op 7 vastgelegde punten langs twee lijnen door het veld: op 0 m, 2 m, 5 m, 12 m, 25 m, 56 m, en 88,5 m vanaf de rand van het perceel, het dichtst grenzend aan het GGO veld. Op elk punt en op elke lijn (transect A en B) werden 5 kolven verzameld. Vervolgens werden de 5 kolven van transect A en B, geoogst op de punten op dezelfde afstand van het GMO veld, ontkorrelt en samengevoegd tot 1 puntstaal. Zo werden finaal dus per veld zeven stalen bekomen, samengesteld uit de korrels afkomstig van 2 x 5 kolven. In de eerste 40 meter dichtst bij het centrale GM veld werd er intensiever bemonsterd, omdat hier uiteraard de verspreiding via pollen het meest waarschijnlijk is (cfr. bvb. Henry *et al.* 2003).



*Figuur 13 Schematische weergave van plaats specifieke bemonstering van handmatig geplukte kolven*

##### Resultaten

Onderstaande tabel geeft de analytische resultaten weer van de eerste stap in de real-time PCR analyse. Deze **kwalitatieve** analyse geeft een antwoord op de vraag of er MON810 DNA gevonden werd in het staal.

De  $C_T$ -waarde bekomen in deze analyse laat toe een kwalitatieve uitspraak te doen over de stalen:

- Een  $C_T$  waarde kleiner dan 35 stemt overeen met een staal dat 'positief' is voor de aanwezigheid van MON810 DNA. Al deze stalen, rood gekleurd en 'positief' gelabeld in de tabel, zullen verder worden geanalyseerd in een kwantitatieve analyse die het mogelijk maakt om het GGO gehalte in het staal nauwkeurig te bepalen.
- Bij een  $C_T$  groter dan 35 werd er wel MON810 DNA gedetecteerd in het staal, maar in een niet te kwantificeren hoeveelheid. In de tabel krijgen deze stalen het label '< LOD'. LOD staat voor 'Limit Of Detection'.

- In sommige stalen kon geen  $C_T$  waarde worden bepaald en werd n.d. genoteerd (not detectable). In deze stalen werd geen MON 810 DNA gedetecteerd. Deze stalen worden in de tabel aangeduid als 'negatief'.

*Tabel 2 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de handmatig geplukte kolven*

| Veld 3 - 80 m |       |           | Veld 4 - 50 m |       |           | Plaats staalname |
|---------------|-------|-----------|---------------|-------|-----------|------------------|
| staalnr.      | CT*   | QL MON810 | staalnr.      | CT*   | QL MON810 |                  |
| 3.1           | 31,18 | positief  | 4.1           | 30,65 | positief  | 0m               |
| 3.2           | 35,29 | <LOD      | 4.2           | 32,36 | positief  | 2m               |
| 3.3           | 33,18 | positief  | 4.3           | 35,72 | <LOD      | 5m               |
| 3.4           | 32,67 | positief  | 4.4           | 35,52 | <LOD      | 12m              |
| 3.5           | 32,61 | positief  | 4.5           | 36,21 | <LOD      | 25m              |
| 3.6           | 35,76 | <LOD      | 4.6           | 37,34 | <LOD      | 56m              |
| 3.7           | 35,98 | <LOD      | 4.7           | 37,63 | <LOD      | 88,5m            |
| Veld 7 - 50 m |       |           | Veld 9 - 0 m  |       |           | Plaats staalname |
| staalnr.      | CT*   | QL MON810 | staalnr.      | CT*   | QL MON810 |                  |
| 7.1           | n.d.  | negatief  | 9.1           | 27,41 | positief  | 0m               |
| 7.2           | n.d.  | negatief  | 9.2           | 30,48 | positief  | 2m               |
| 7.3           | n.d.  | negatief  | 9.3           | 31,01 | positief  | 5m               |
| 7.4           | n.d.  | negatief  | 9.4           | 33,96 | positief  | 12m              |
| 7.5           | n.d.  | negatief  | 9.5           | 35,68 | <LOD      | 25m              |
| 7.6           | n.d.  | negatief  | 9.6           | 31,56 | positief  | 56m              |
| 7.7           | n.d.  | negatief  | 9.7           | 36,66 | <LOD      | 88,5m            |

In Tabel 3 worden de kwantitatieve resultaten weergegeven van de stalen die positief testen in de kwalitatieve analyse. Voor alle andere stalen werd deze analyse niet uitgevoerd. Dit wordt in Tabel 3 weergegeven als '-'.

**Tabel 3 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de positieve stalen uit de handmatig geplukte kolven**

| Veld 3 - 80 m |                    | Veld 4 - 50 m |                    | Plaats staalname |
|---------------|--------------------|---------------|--------------------|------------------|
| Staal nr.     | GGO gehalte (% cp) | Staal nr.     | GGO gehalte (% cp) |                  |
| 3.1           | 0,007              | 4.1           | 1,604              | 0 m              |
| 3.2           | -                  | 4.2           | 0,207              | 2 m              |
| 3.3           | 0,001              | 4.3           | -                  | 5m               |
| 3.4           | 0,000              | 4.4           | -                  | 12m              |
| 3.5           | 0,011              | 4.5           | -                  | 25m              |
| 3.6           | -                  | 4.6           | -                  | 56 m             |
| 3.7           | -                  | 4.7           | -                  | 88,5 m           |
| Veld 7 - 50 m |                    | Veld 9 - 0 m  |                    | Plaats staalname |
| Staal nr.     | GGO gehalte (% cp) | Staal nr.     | GGO gehalte (% cp) |                  |
| 7.1           | -                  | 9.1           | 2,092              | 0 m              |
| 7.2           | -                  | 9.2           | 0,507              | 2 m              |
| 7.3           | -                  | 9.3           | 0,345              | 5m               |
| 7.4           | -                  | 9.4           | 0,078              | 12m              |
| 7.5           | -                  | 9.5           | -                  | 25m              |
| 7.6           | -                  | 9.6           | 0,231              | 56 m             |
| 7.7           | -                  | 9.7           | -                  | 88,5 m           |

De in tabel 3 in het rood aangeduide resultaten zijn afkomstig van puntstalen waarin een GGO gehalte werd gedetecteerd hoger dan 0,9%; oranje voor een gehalte lager dan 0,9%; in de stalen aangeduid in groen kon geen MON810 DNA worden gedetecteerd

#### 4.1.1.2. Tweede set puntstalen: mini-oogstmachines

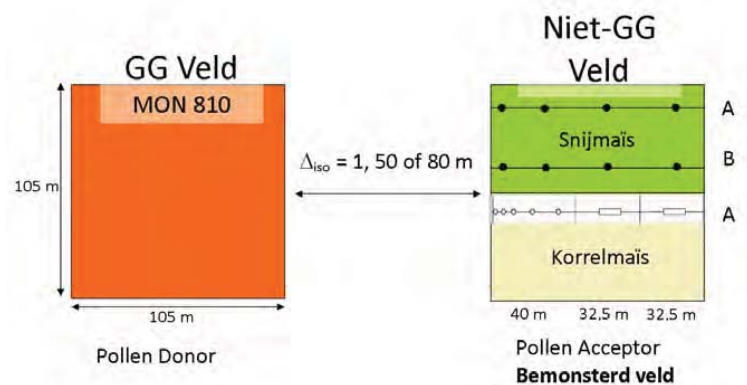
Naast de handmatige geplukte kolven was het ook mogelijk om plaatsspecifieke monsters te nemen door gebruik te maken van kleine oogstmachine die specifiek ontworpen is voor onderzoeksdoeleinden. Om uitspraken te kunnen doen over de twee belangrijkste gebruiken van het maïsgewas in Vlaanderen, zijnde snijmaïs en korrelmaïs, werden zowel een mini-hakselaar als een mini-dorsmachine ingezet. Met deze twee machines werden de puntstalen verzameld in de vier omliggende percelen.

#### Staalname en verwerking

Net zoals voor de handmatig geplukte kolven werden op welbepaalde afstanden in het veld stalen genomen (Figuur 14). Met de **mini-dorsmachine** werd rond exact dezelfde punten als beschreven voor de handmatig geplukte kolven ongeveer 1 kg korrels geoogst (minstens 3000 korrels), en dit op 1 transect A, aan de binnenste rand van elke helft van het perceel dat geoogst werd als korrelmaïs. In totaal werden dus zeven puntstalen van ongeveer 1 kg korrels geoogst op volgende afstanden: op 0 m, 2 m, 5 m, 12 m, 25 m, 56 m, en 88,5 m vanaf de rand van het perceel, het dichtst grenzend aan het GGO veld.

De voor onderzoek aangepaste mini-hakselaar werkt zo dat er uit de biomassa geoogst over een aantal lopende meters, er een representatief staal wordt uitgeblazen. Aangezien de te oogsten hoeveelheid biomassa vooraf niet te voorspellen is, was het niet mogelijk om hetzelfde aantal stalen op exact dezelfde vooraf gekozen zeven punten in het veld te verzamelen.

Voor de mini-hakselaar werden over de lengte van het perceel 20 deelstalen genomen, die per 5 in 4 samengestelde stalen werden gegroepeerd. Deze 4 stalen werden verzameld langsheen twee transecten, A en B, doorheen de helft van elk van de percelen geoogst als snijmaïs. Transecten A en B bevonden zich op ongeveer 9 meter van de buitenrand van de helft van elk van de vier percelen rond het centrale GGO veld.



*Figuur 14 Schematische weergave van de stalen genomen met de mini-oogstmachines*

### Resultaten

In *Tabel 4* worden de resultaten weergegeven van de kwalitatieve analyse van alle stalen genomen met de mini-oogstmachines. Voor alle stalen van veld 7, zowel voor de stalen genomen met de mini-dorser als voor deze genomen met de mini-hakselaar waren de  $C_T$  waarden in de real-time PCR analyse groter dan 35 of kon er geen  $C_T$  waarde worden bepaald. In geen van deze stalen kon dus MON810 in een kwantificeerbare hoeveelheid worden gedetecteerd (data niet weergegeven).

Merk op dat enkel voor veld 9, het veld dat onmiddellijk aansluit tegen het GGO veld, er MON810 DNA kon gedetecteerd worden in de snijmaïsstalen genomen met de mini-hakselaar. En dit enkel voor de stalen die het dichtst tegen het GGO veld werden genomen. Door de ligging van het veld moeten we wel meegeven dat om praktische redenen de 5 deelstalen die genomen werden om staal 9A1 en 9B1 te vormen, op eenzelfde afstand van het GGO veld werden genomen. Perceel 9 lag immers ingesloten tussen een omheining aan de bovenzijde en het centrale GGO-veld aan de onderzijde. Het oogsten van de helft van dit veld dat eerst als snijmaïs werd geoogst kon dus enkel worden aangevat door te starten evenwijdig met het centrale GGO-veld. Dit in tegenstelling tot alle andere velden waar de deelstalen zoals beschreven langsheen transecten A en B in de richting van het GGO veld, en dus onmiddellijk na elkaar op licht verschillende afstanden tot het GGO-veld, werden ingezameld.

*Tabel 4 Resultaten van de kwalitatieve analyse van stalen genomen met de mini-oogstmachines*

| Veld 3 - 80 m |             |           |                     |          |                |           |                     |
|---------------|-------------|-----------|---------------------|----------|----------------|-----------|---------------------|
|               | Mini-dorser |           | Plaats<br>staalname |          | Mini hakselaar |           | Plaats<br>staalname |
| staalnr.      | CT          | QL MON810 |                     | staalnr. | CT             | QL MON810 |                     |
| 3A1           | 32,90       | positief  | 0 m                 | 3A1      | n.d.           | negatief  | 0 - 20 m            |
| 3A2           | 34,63       | positief  | 2 m                 | 3B1      | n.d.           | negatief  |                     |
| 3A3           | 35,27       | <LOD      | 5 m                 | 3A2      | n.d.           | negatief  | 20-40 m             |
| 3A4           | 37,26       | <LOD      | 12 m                | 3B2      | n.d.           | negatief  |                     |
| 3A5           | 35,33       | <LOD      | 25 m                | 3A3      | n.d.           | negatief  | 40-72,5 m           |
| 3A6           | 35,11       | <LOD      | 56 m                | 3B3      | n.d.           | negatief  |                     |
| 3A7           | Undet.      | negatief  | 88,5 m              | 3A4      | n.d.           | negatief  | 72,5 -105 m         |
|               |             |           |                     | 3B4      | n.d.           | negatief  |                     |
| Veld 4 - 50 m |             |           |                     |          |                |           |                     |
|               | Mini-dorser |           | Plaats<br>staalname |          | Mini hakselaar |           | Plaats<br>staalname |
| staalnr.      | CT          | QL MON810 |                     | staalnr. | CT             | QL MON810 |                     |
| 4A1           | 29,35       | positief  | 0 m                 | 4A1      | 42,21          | < LOD     | 0 - 20 m            |
| 4A2           | 31,60       | positief  | 2 m                 | 4B1      | 37,73          | < LOD     |                     |
| 4A3           | 36,29       | <LOD      | 5 m                 | 4A2      | 42,58          | < LOD     | 20-40 m             |
| 4A4           | 40,06       | <LOD      | 12 m                | 4B2      | 43,24          | < LOD     |                     |
| 4A5           | 36,17       | <LOD      | 25 m                | 4A3      | 44,93          | < LOD     | 40-72,5 m           |
| 4A6           | 35,42       | <LOD      | 56 m                | 4B3      | 40,30          | < LOD     |                     |
| 4A7           | 36,70       | <LOD      | 88,5 m              | 4A4      | 40,60          | < LOD     | 72,5 -105 m         |
|               |             |           |                     | 4B4      | 36,90          | < LOD     |                     |
| Veld 9 - 0 m  |             |           |                     |          |                |           |                     |
|               | Mini-dorser |           | Plaats<br>staalname |          | Mini hakselaar |           | Plaats<br>staalname |
| staalnr.      | CT          | QL MON810 |                     | staalnr. | CT             | QL MON810 |                     |
| 9A1           | 27,00       | positief  | 0 m                 | 9A1      | 31,21          | positief  | 0 - 3 m             |
| 9A2           | 28,73       | positief  | 2 m                 | 9B1      | 32,06          | positief  |                     |
| 9A3           | 30,95       | positief  | 5 m                 | 9A2      | 37,42          | < LOD     | 20-40 m             |
| 9A4           | 32,93       | positief  | 12 m                | 9B2      | 39,37          | < LOD     |                     |
| 9A5           | 33,39       | positief  | 25 m                | 9A3      | 42,27          | < LOD     | 40-72,5 m           |
| 9A6           | 39,13       | <LOD      | 56 m                | 9B3      | 38,17          | < LOD     |                     |
| 9A7           | Undet.      | negatief  | 88,5 m              | 9A4      | n.d.           | negatief  | 72,5 -105 m         |
|               |             |           |                     | 9B4      | n.d.           | negatief  |                     |

In Tabel 5 worden de resultaten van de kwantitatieve resultaten weergegeven voor alle stalen die in de kwalitatieve analyse als positief werden getest. De stalen die in de kwalitatieve analyse niet positief werden bevonden zijn niet meer opgenomen in *Tabel 5*. Aangezien de stalen genomen met de mini-hakselaar samengesteld waren uit telkens 5 deelmonsters, werden voor de stalen 9A1, 9B1 die positief testen in de kwalitatieve analyse en de eerste daaropvolgende stalen, 9A2 en 9B2, de vijf

deelstalen ervan apart ook nog eens onderworpen aan een kwantitatieve analyse. De resultaten van deze gedetailleerde analyse is weergegeven in *Figuur 6*.

*Tabel 5 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de positieve stalen genomen met de mini-oogstmachines*

| Veld 3 - 80 m |                          |                     |                |                          |                     |
|---------------|--------------------------|---------------------|----------------|--------------------------|---------------------|
| Mini-dorser   |                          |                     | Mini-hakselaar |                          |                     |
| staalnr.      | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname | staalnr.       | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname |
| 3A1           | 0,023                    | 0 m                 | 3A1            | -                        | 0 - 20 m            |
| 3A2           | 0,008                    | 2 m                 | 3B1            | -                        |                     |
| Veld 4 - 50 m |                          |                     |                |                          |                     |
| Mini-dorser   |                          |                     | Mini-hakselaar |                          |                     |
| staalnr.      | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname | staalnr.       | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname |
| 4A1           | 0,777                    | 0 m                 | 4A1            | -                        | 0 - 20 m            |
| 4A2           | 0,192                    | 2 m                 | 4B1            | -                        |                     |
| Veld 9 - 0 m  |                          |                     |                |                          |                     |
| Mini-dorser   |                          |                     | Mini-hakselaar |                          |                     |
| staalnr.      | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname | staalnr.       | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname |
| 9A1           | 3,855                    | 0 m                 | 9A1            | 0,764                    | 0 - 3 m             |
| 9A2           | 1,109                    | 2 m                 | 9B1            | 0,430                    |                     |
| 9A3           | 0,246                    | 5 m                 | 9A2            | -                        | 20-40 m             |
| 9A4           | 0,019                    | 12 m                | 9B2            | -                        |                     |
| 9A5           | 0,009                    | 25 m                |                |                          |                     |

**Tabel 6 Kwantitatieve resultaten van de deelstalen van 9A1, 9B1, 9A2 en 9B2**

| <b>Veld 9 - 0 m – Mini-hakselaar</b> |                          |                     |            |                          |                     |
|--------------------------------------|--------------------------|---------------------|------------|--------------------------|---------------------|
| Transect A                           |                          |                     | Transect B |                          |                     |
| staalnr.                             | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname | staalnr.   | GGO<br>gehalte<br>(% cp) | Plaats<br>staalname |
| 9A1a                                 | 1,127                    | 0 - 3 m             | 9B1a       | 0,245                    | 0 - 3 m             |
| 9A1b                                 | 0,652                    |                     | 9B1b       | 0,319                    |                     |
| 9A1c                                 | 0,640                    |                     | 9B1c       | 0,526                    |                     |
| 9A1d                                 | 0,477                    |                     | 9B1d       | 0,699                    |                     |
| 9A1e                                 | 0,214                    |                     | 9B1e       | 0,484                    |                     |
| 9A2a                                 | 0,018                    | 20 - 40 m           | 9B2a       | 0,011                    | 20 - 40 m           |
| 9A2b                                 | 0,014                    |                     | 9B2b       | 0,000                    |                     |
| 9A2c                                 | 0,001                    |                     | 9B2c       | 0,001                    |                     |
| 9A2d                                 | 0,000                    |                     | 9B2d       | 0,001                    |                     |
| 9A2e                                 | 0,000                    |                     | 9B2e       | 0,001                    |                     |

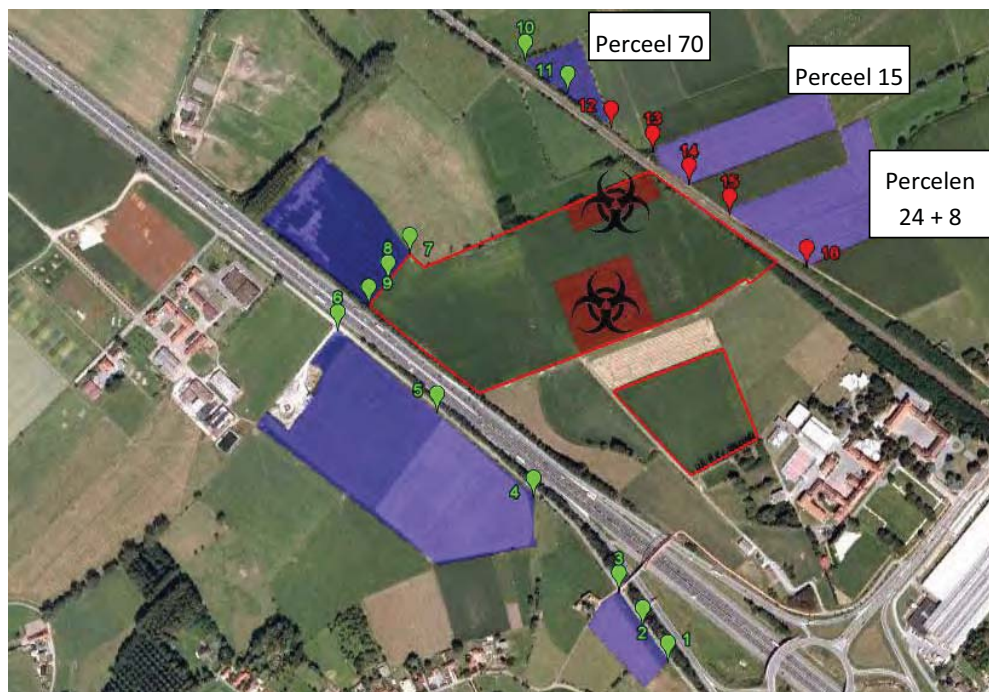
Tot slot werd, op basis van alle verzamelde kwalitatieve en kwantitatieve data, zowel voor de handmatige geoogste kolven als voor de stalen geoogst met de mini-dorser en de mini-hakselaar, een gewogen gemiddeld GGO-gehalte bepaald voor elk van de 4 niet-GGO percelen rond het centrale GGO veld. Hierbij werd het slechts mogelijke scenario gehanteerd, uitgelegd aan de hand van volgend voorbeeld. Voor de zone afgebakend tussen twee puntstalen werd steeds het GGO gehalte aangenomen voor het puntstaal genomen het dichtst bij het GGO veld. Zo zal voor de zone 0-2m tussen de puntstalen genomen op 0 en 2 meter, het GGO gehalte worden gehanteerd dat kon worden vastgesteld in het puntstaal genomen op 0 meter. Het gewicht toegekend aan deze zone is de verhouding van de oppervlakte van deze zone tot de verhouding van het volledige veld. Onderstaande *Tabel 7* geeft de aldus berekende globale gemiddelden weer voor de 4 percelen, bemonsterd op drie verschillende wijzen: handmatig geoogste kolven, mini-dorser en mini-hakselaar.

**Tabel 7 Globale gewogen gemiddelde GGO gehalten berekend op basis van puntstalen (% cp)**

| <b>Experiment:</b>        | <b>Gewogen gemiddelde per perceel (% cp)</b> |               |               |              |
|---------------------------|----------------------------------------------|---------------|---------------|--------------|
|                           | Veld 3 - 80 m                                | Veld 4 - 50 m | Veld 7 - 50 m | Veld 9 - 0 m |
| Handmatig geoogste kolven | 0,004                                        | 0,036         | 0,000         | 0,159        |
| Mini-dorser               | 0,000                                        | 0,023         | 0,000         | 0,127        |
| Mini-hakselaar            | 0,000                                        | 0,000         | 0,000         | 0,103        |

#### 4.1.2. Omliggende percelen

Naast de percelen specifiek aangelegd voor het evalueren van de verspreiding via pollen op het ILVO proefperceel, werd er ook een aantal belendende private percelen met maïs bemonsterd. Deze percelen werden eveneens bemonsterd door Greenpeace. In onderstaande Figuur 15, ter beschikking gesteld door Greenpeace, is aangegeven welke **puntstalen** werden genomen aan de randen van deze maïspercelen.



**Figuur 15** Schematische weergave van de omliggende percelen waarvan Greenpeace aan de rand puntstalen heeft ingezameld.

In de stalen genummerd in het groen (nrs 1-11) kon volgens Greenpeace geen MON810 DNA worden waargenomen. Dit was wel het geval voor de stalen 12 -16, op deze figuur in rood gelabeld, in totaal afkomstig van drie verschillende partijen maïs. Het centrale GMO veld, alsook het veld ingezaaid na het GGO perceel, worden in deze figuur aangeduid als rode blokken.

#### Staalname en verwerking

Om de informatie verspreid door Greenpeace op een objectieve, onbetwistbare en wetenschappelijk correcte manier te verifiëren werden er door beëdigd staalnemers en onder het toezien van een deurwaarder puntstalen genomen op dezelfde plaatsen als aangegeven in Figuur 15 voor punten 12 tot en met 16. Bovendien werden op dezelfde moment ook kolven verzameld volgens een raster dat het gehele veld bestrijkt. Dit om in functie van de toepassing van de regelgeving ook een resultaat te bekomen dat representatief is voor de ganse partij. Het monster bestaande uit al deze kolven kan dus als representatief beschouwd worden voor het gehele veld. Voor de puntstalen 12 tot en met 16 werden 50 kolven geoogst. Voor de bulkstalen werden in functie van de grootte van het veld een verschillend aantal kolven geplukt, verspreid over het ganse veld:

- Perceel 24 + 8 is ongeveer 2,53 ha groot – in dit veld werden 200 kolven verzameld
- Perceel 15 is ongeveer 1,91 ha groot – in dit veld werden 150 kolven verzameld
- Perceel 70 is ongeveer 1,51 ha groot – in dit veld werden 120 kolven verzameld

Alle puntstalen en de samengestelde perceelstalen werden machinaal gedorst, één voor één en afzonderlijk. Tussen twee stalen werden de machine gecontroleerd en indien nodig gereinigd zodat er geen enkele korrel meer in de machine aanwezig was. De korrels van elk staal werden opgevangen en uitverdeeld in drie substalen. Eén ervan blijft ter beschikking voor een eventuele tegenexpertise. Elk van de substalen bevatte minstens 1,3 kg.

In het labo werden deze substalen integraal vermalen tot poeder. Na homogeniseren van het bekomen poeder werd 100 mg gebruikt in een PCR analyse.

Ook hier werd het bekomen DNA gebruikt om een real-time PCR analyse uit te voeren volgens de EURL methode voor event-specifieke detectie en kwantificatie van MON810 maïs. Om de kwantitatieve resultaten te kunnen vergelijken met de resultaten gecommuniceerd door Greenpeace, werd voor de kwantificatie gebruik gemaakt IRMM gecertificeerde poeders. Deze laatste werden immers steeds als standaarden gebruikt in de EURL methode.

## Resultaten

In de puntstalen 12 en 16 (in het rood aangeduide punten in Fig. 15) alsook in de bulkstalen van percelen 24+8 en perceel 70, werd geen MON810 maïs teruggevonden (negatief in de kwalitatieve analyse). De overige stalen bleken positief voor MON810 en werden verder gekwantificeerd volgens de hierboven beschreven methode.

Uit de kwantitatieve resultaten (zie onderstaand tabelletje) kon, zoals enigszins te voorspellen was, worden vastgesteld dat er aan de rand van de bemonsterde percelen met private maïs nog een zeer lage frequentie kruisbestuiving heeft plaats gevonden. De resultaten gevonden voor de puntstalen aan de rand van de percelen en bekomen met de EURL methode stemmen in grote orde overeen met deze gecommuniceerd door Greenpeace.

| Staalnummer                    | GGO-gehalte (cp %) |
|--------------------------------|--------------------|
| 2010/000103521-22/15 punt 13   | 0.041              |
| 2010/000103521-22/15 punt 14   | 0.089              |
| 2010/000103521-22/24+8 punt 15 | 0.076              |
| 2010/000103521-22/15 perceel   | 0.004              |

Gezien de reeds zeer lage GGO gehalten die werden teruggevonden in de kolven van de planten die het meeste kans hadden om bestoven te worden met GGO pollen, lag het dan ook volledig binnen de verwachtingen dat er in de drie bulkstalen representatief voor de volledige percelen amper nog MON810 DNA kon worden gedetecteerd. Enkel in het bulkstaal van perceel 15 kon 0,004 % (cp) worden gedetecteerd.

#### 4.1.3. Discussie Verspreiding via pollen

##### Invloed van de isolatieafstand

Uit bovenstaande resultaten blijkt duidelijk dat de in de BVR voorgestelde isolatieafstand van 50 meter ruim voldoende is om het GGO gehalte van een naburige niet GGO maïs veld onder de 0,9% te houden. Dit geldt zowel voor maïs geoogst als snijmaïs en korrelmaïs. Het hoogste berekende globale gemiddelde wordt waargenomen, zoals verwacht voor het veld op 0 m. Zelfs dit veld blijft ruim onder de 0,9% etiketeringsdrempel. De gehalten in de velden op 50 meter liggen één grootteorde lager. Dit is althans het geval voor veld 4 dat in een gunstige windrichting voor GGO bestuiving lag (zie hieronder): het berekende gemiddelde voor de korrelmaïs van dit veld komt uit op een GGO gehalte van 0,036% . Veld 3 tenslotte, op 80 meter, vertoont zoals verwacht een nog lager berekend gemiddelde. Op basis van de resultaten verzameld via de handmatig geoogste kolven kon een gemiddelde van 0,004% worden bepaald.

Opvallend is ook de goede correlatie tussen resultaten bekomen met de handmatige geplukte kolven en deze afkomstig van de mini-dorser (zie *Tabel 7*).

De berekende gemiddelden op basis van de puntstalen genomen met de mini-hakselaar liggen uiteraard lager dan deze gevonden op basis van de korreldata. Enkel voor veld 9 kon in de rand, vlak bij het GGO veld, MON810 worden gedetecteerd (*Tabel 5* en *Tabel 6*).

De hogere waarden vastgesteld in de snijmaïsstaal 9A1 in vergelijking met het GGO gehalte voor staal 9B2 (*Tabel 5*), die zoals uitgelegd, werden samengesteld uit deelmonsters die allen genomen zijn op een zelfde afstand tot de rand van het GGO veld, is ook te verklaren door de ligging van de helft van perceel 9 dat als snijmaïs werd geoogst. Staal 9A1 werd genomen in het rechterdeel van de helft van dit perceel. Bijgevolg ligt dit stuk van het veld dus in een positie die er voor zorgt dat er meer wind uit de west- tot zuidelijke richting is overgewaaid. Dit zijn net de windrichtingen die er kunnen voor gezorgd hebben dat er pollen uit het GGO in dit deel van het perceel is terechtgekomen. Wanneer we kijken naar de deelresultaten van stalen 9A1, 9B1, 9A2 en 9B2 dan kan inderdaad opnieuw worden vastgesteld dat de B-stalen lagere gehalten vertonen dan de A-stalen. Bovendien is in de deelstalen 9A2 en 9B2, die in tegenstelling tot de deelstalen van 9A1 en 9B1 wel op een lijn loodrecht van het GGO veld zijn bemonsterd wel de afname in het GGO gehalte waar te nemen. Het verdunningseffect door het maternale niet-GGO materiaal, vegetatieve plantendelen is dus duidelijk waar te nemen.

De percelen private maïs buiten de ILVO proefopzet liggen uiteraard op grotere afstand. Dit vertaalde zich in lagere maximale waarden vastgesteld in de puntstalen, en in GGO gehalten van de perceelstalen die op 0 % of net erboven uitkwamen.

**Samenvattend kan in elk geval gesteld worden dat de isolatieafstand van 50 meter voorgesteld in het BVR ruim voldoende is om het maximale GGO gehalte in omliggenden niet-GGO percelen ruim onder de 0,9% etiketteringsdrempel te houden. Dit geldt zowel voor de korrelmaïs als voor de snijmaïs.**

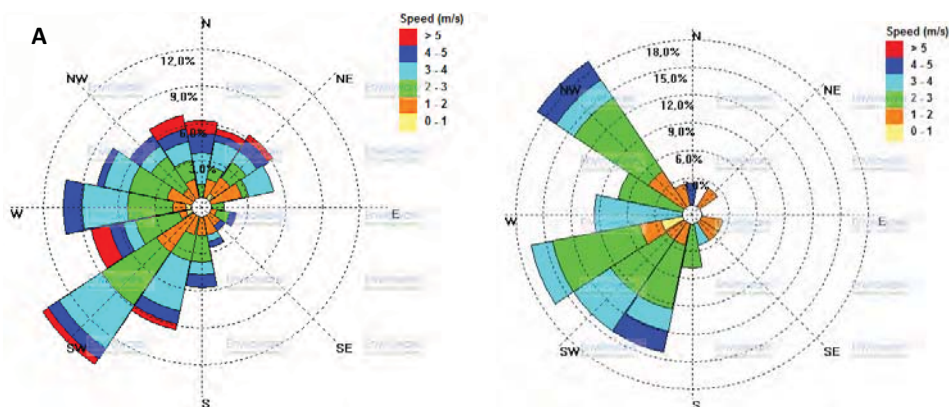
### Invloed van de wind

Maar uiteraard is het niet alleen de afstand tot het GGO veld die uitkruising naar omliggende niet-GGO percelen beïnvloedt. Uit de literatuur (o.a. Devos et al. 2005; Van De Wiel & Lotz, 2006) blijkt dat ook wind een belangrijke impact heeft op de al dan niet waargenomen kruisbestuiving.

In onderstaande *Figuur 16* worden de windroosdiagrammen weergegeven die winrichting en –snelheid weergeven gedurende het gehele teeltseizoen, en meer specifiek gedurende de periode van pollenvorming van de maïs.

Wat onmiddellijk opvalt is het feit dat gedurende de periode van pollenvorming in de maïs (10 juli – 20 augustus 2010) de wind het vaakst vanuit het noordwesten kwam. Gedurende 18% van deze periode kwam de wind uit deze richting, en bereikte bovendien ook de hoogste windsnelheden. Dit is dan ook meteen een verklaring voor een aantal van de bekomen resultaten.

Eerst en vooral voor het feit dat er geen MON810 DNA kon worden gedetecteerd in **veld 7**, gelegen op 50 m van het GGO veld. Veld 7 ligt immers ‘voor’ het centrale GGO veld rekening houdende met de meest voorkomende windrichtingen gedurende het pollenseizoen. Uit *Figuur 14B* is immers duidelijk te zien dat de wind slechts zelden uit windrichting kwam die pollen uit het GGO veld in veld 7 zou kunnen doen belanden. Op de weinige dagen dat de wind dan al eens uit O, NO of ZO richting kwam, lag de snelheid zeer laag waardoor het pollen mogelijk zelfs niet tot in veld 7 geraakte.



**Figuur 16** Windroos grafiek met distributie van de voorkomende windrichtingen en –snelheden voor het gehele teeltseizoen (A) en gedurende periode van pollenvorming (B)

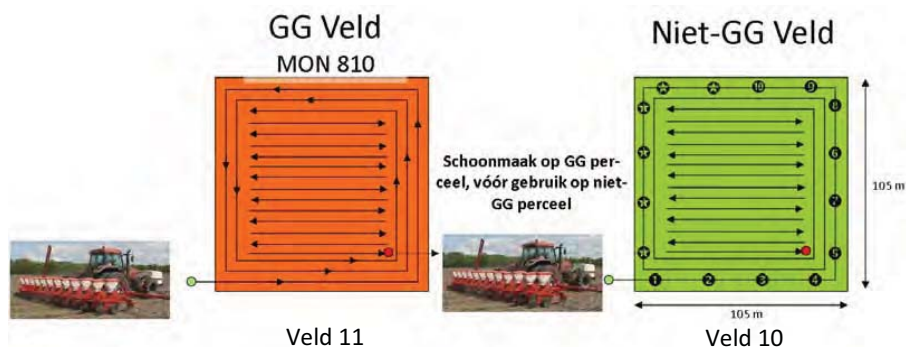
De hoge windsnelheden uit NW richting verklaren ook de waarneming dat er dieper in veld 3 kruisbestuiving kon worden vastgesteld dan in veld 4 (cfr. *Tabel 2* en *Tabel 3*), en dit ondanks het feit dat veld 3 30 meter verder verwijderd lag van het centrale GGO veld. Veld 3 ligt immers perfect in de baan van de wind die vanuit het noordwesten over het GGO veld heeft geblazen tijdens de periode van pollenvorming.

Ook voor de resultaten bekomen uit de monsters genomen in de private percelen buiten de ILVO proefopzet kan de winddata veel verklaren. Alle velden waarin positieve puntstalen werden gevonden liggen in de windrichtingen die zijn voorgekomen tijdens de periode van pollenvorming. Bijkomende verklaring voor het vaststellen van kruisbestuiving in de rand van deze percelen kan ook

komen uit de nabijheid van veld 10. Dit perceel werd onmiddellijk ingezaaid na het GGO perceel en dit om verspreiding via de zaaimachine te bekijken. Zoals verder besproken wordt, kon er inderdaad verspreiding van GGO korrels via de zaaimachine worden vastgesteld. De GGO planten die uit deze korrels zijn uitgegroeid zijn immers een bijkomende GGO pollenbron die tot kruisbestuiving in deze private percelen hebben geleid.

#### 4.2. Experiment 2 - Verspreiding via zaaimachine

Naast verspreiding via de wind, is ook verspreiding en vermenging via menselijke handelingen mogelijk. Verspreiding via de zaaimachine is één van deze potentiële bronnen van verspreiding. Om dit te kunnen evalueren werd perceel 10 ingezaaid. Dit perceel werd onmiddellijk na het GGO perceel ingezaaid en dit nadat de zaaimachine, zoals voorgeschreven in het BVR, op het GGO veld werd gereinigd. De reiniging werd uitgevoerd volgens de huidige standaard praktijk (Figuur 15B). De gebruikte zaaimachine was een 6-rijige GASPARDO maïsplanter.



*Figuur 17 Proefopzet voor evaluatie van de verspreiding via de zaaimachine*

##### 4.2.1. Staalnames, analyses en verwerking

In het geval van verspreiding via achterblijvende GGO maïskorrels in de zaaimachine in een niet-GGO perceel onmiddellijk ingezaaid na een GGO perceel, is het mogelijk om vaststellingen van verspreiding te doen op basis van analyses van vegetatief plantenmateriaal. Alle plantendelen van planten die uitgroeien uit een ingezaaide GGO maïskorrel zullen immers GGO DNA bevatten. Bladmateriaal van jonge planten kan dus bemonsterd worden om te testen of de bemonsterde plant al dan niet is uitgegroeid uit een ingezaaide GGO maïskorrel. Twee verschillende analysetechnieken werden gebruikt om vast te stellen of een plant GGO is of niet.

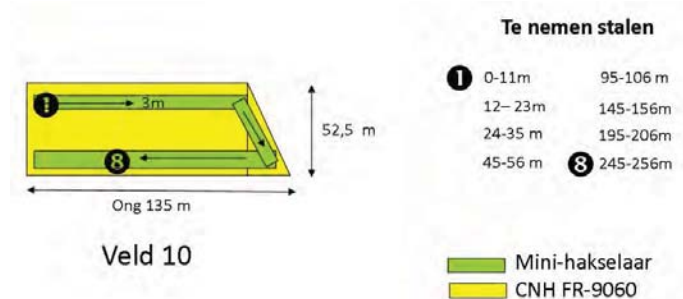
##### ELISA dipstick als kwalitatieve sneltest

De **ELISA dipsticks** sneltest, die slechts enkele minuten duurt, geeft alleen een kwalitatief resultaat: is het Cry1 Ab eiwit dat aangemaakt wordt door de MON810 GGO planten aanwezig of niet in het geteste monster?

##### Real-time PCR

Op basis van de positieve resultaten van de dipstick tests, werden besloten eveneens stalen te nemen van de planten in perceel 10 voor een meer gedetailleerde real-time PCR analyse. Er werden bladstalen genomen van individuele planten, alsook werden er stalen genomen op het tijdstip van de

snijmaïssoogst dd. 12 oktober 2010 met de mini-hakselaar zoals beschreven in onderstaande Figuur 18



*Figuur 18 Schematische weergave van de staalname in veld 10 met de mini-hakselaar*

In totaal werden er dus 9 stalen genomen met de mini-hakselaar, waarvan 2 in de eerste 20 m. Zoals eerder beschreven is elk van deze negen stalen opgebouwd uit vijf deelstalen. Elk deelstaal bevat ongeveer 1 kg geoogste snijmaïs. Het geoogste materiaal werd gedroogd, daarna door een 1 mm zeef vermalen en gehomogeniseerd. Hieruit werd 100 mg genomen voor analyse d.m.v real-time PCR.

#### Simulatie zaai

Aangezien uit zowel de real-time PCR analyses als de ELISA dipstick tests duidelijk de aanwezigheid van GGO planten in veld 10 kon worden afgeleid, werd de het zaaiproces meer in detail bekeken. Hiertoe werd een zaaismulatie in een loods uitgevoerd. Hiervoor werd gebruik gemaakt van hetzelfde zaaigoed als gebruikt voor het inzaaien van alle niet-GGO percelen in de proefvelden. Een deel van normaal rode korrels werd zwart gekleurd (Figuur 19). De rode standaardkleur van de maïskorrels is afkomstig van de omhulling met het zaadbehandelingsmiddel MESUROL<sup>®</sup> dat de ingezaaide maïs beschermt tegen vogels en de fritvlieg.



*Figuur 19 Gekleurde maïskorrels gebruikt in de zaaismulatie*

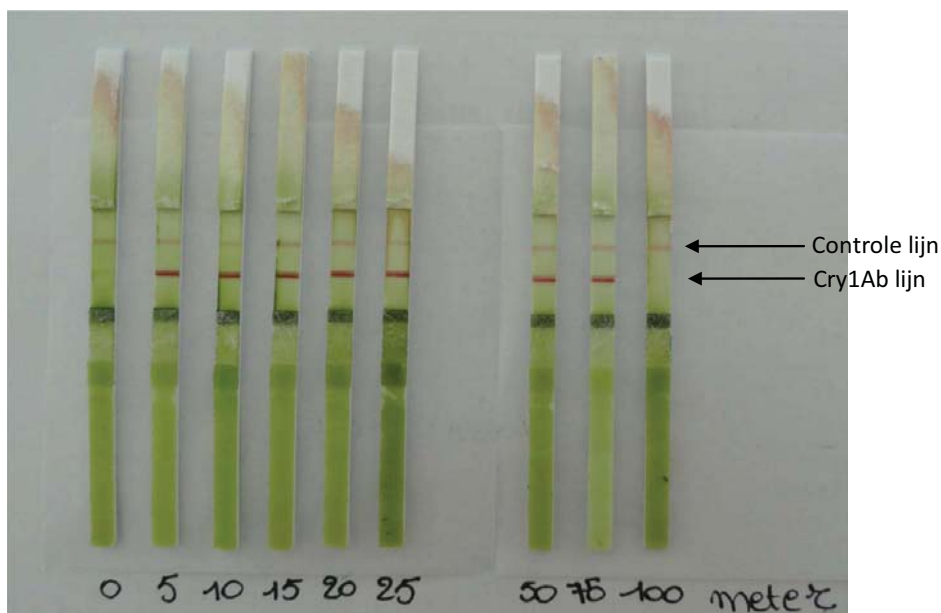
In de gesimuleerde zaaioproef werd de zaaimachine eerst gevuld met rode zaden (GGO zaad). Vervolgens werd er een aantal meter gereden met de zaaimachine, waardoor rode zaden het gehele traject door de zaaimachine van begin tot einde hadden gevuld. Daarna werd deze geledigd zoals gebeurde tijdens het veldexperiment. Dit bestaat enkel uit ledigen van de zaadreservoirs door onderaan de zaaischijven de kleppen te openen en het zaad op te vangen, zonder verder nog iets te doen.

Na deze handeling werden de zaadreservoirs gevuld met zwarte zaden (niet-GGO zaden). Vervolgens werden er met de zaaimachine in de loods trajecten van 35 meter gereden, dit tot wanneer 2 maal na elkaar (70 meter) geen rode zaden meer werden gevonden. Om een beeld te krijgen van de frequentie waarmee rode korrels nog uit de zaaimachine vallen werden per lopende meter telkens het aantal zwarte (niet-GGO) en rode (GGO) korrels genoteerd.

#### 4.2.2. Resultaten

##### ELISA dipsticks als sneltest

Als monsters in deze sneltest werd bladmateriaal genomen van de 6 planten op eenzelfde welbepaalde afstand. De zaaimachine zaait immers 6 rijen te gelijk. Er werd bladmateriaal genomen op 0, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75 en 100 m vanaf de start van de inzaai. Dit bladmateriaal werd in een proefbuisje gekneusd met een stampertje om het celvocht dat het MON810 specifieke eiwit kan bevatten vrij te stellen. In dit celvocht wordt dan de ELISA dipstick geplaatst om de test uit te voeren. In Figuur 20 worden de resultaten gevisualiseerd van deze ELISA dipstick testen.



**Figuur 20 Resultaat van de ELISA dipstick sneltest op bladmateriaal verzameld in de eerste 100m**

Uit dit experiment was dus al snel duidelijk dat er zeker tot op 75 meter nog GGO planten in het niet-GGO veld voorkomen. In de dipstick van 75 meter zijn duidelijk twee rode lijnen te zien: de bovenste

controle lijn die bevestigt dat de assay goed is verlopen en de onderste rode lijn die aangeeft dat het MON810 specifieke eiwit Cry1Ab in het staal werd gevonden.

#### Real-time PCR

In onderstaande tabel worden enkel de resultaten weergegeven van de real-time PCR analyse van de snijmaïsstalen genomen met de mini-hakselaar. Deze staalname met de mini-hakselaar reikte immers dieper in het veld (tot 285 m) dan de individueel bemonsterde planten. Voor dit experiment werden enkel kwalitatieve analyses uitgevoerd. We wilden immers vooral een antwoord op de vraag tot hoever in het veld er nog GGO zaadjes uit de zaaimachine zouden vallen na reinigen .

**Tabel 8 Resultaten van de kwalitatieve analyse van stalen genomen met de mini-hakselaar in veld 10**

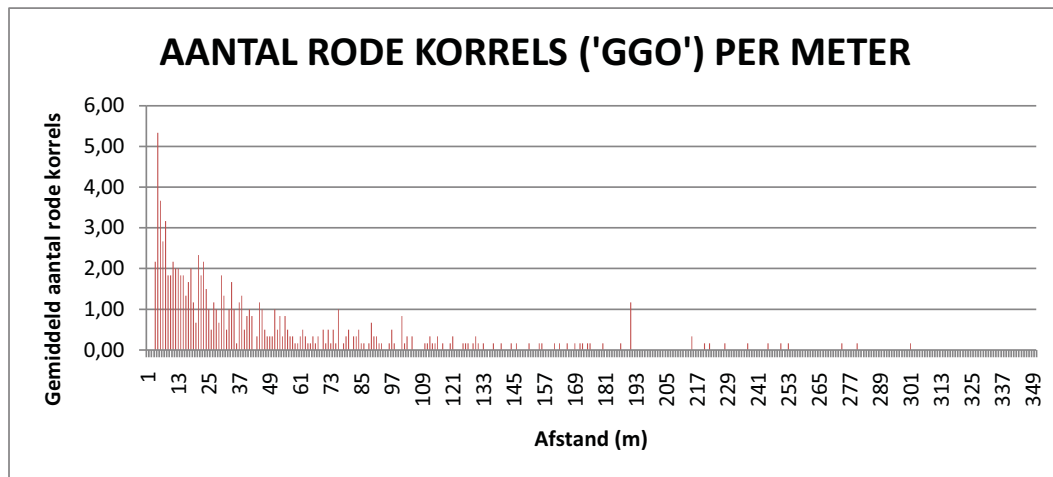
| Veld 10 - Verspreiding via zaaimachine |       |           |                  |
|----------------------------------------|-------|-----------|------------------|
| staaln.                                | CT    | QL MON810 | Plaats staalname |
| 10.1                                   | 28,20 | positief  | 0-11 m           |
| 10.2                                   | 29,66 | positief  | 12-23 m          |
| 10.3                                   | 31,24 | positief  | 24-35 m          |
| 10.4                                   | 33,60 | positief  | 45-56 m          |
| 10.5                                   | 34,17 | positief  | 95-106 m         |
| 10.6                                   | 36,17 | <LOD      | 145-156 m        |
| 10.7                                   | 37,79 | <LOD      | 195-206 m        |
| 10.8                                   | 35,01 | <LOD      | 245-256 m        |

Op basis van de resultaten van de kwalitatieve real-time PCR wordt er duidelijk bevestigd dat er zeker tot 100 meter ver in het veld nog MON810 DNA in de stalen kon gedetecteerd worden. Mogelijks gaat dit nog verder, want het laatste geanalyseerde staal, 10.8, vertoont een  $C_T$  waarde die maar net onder de LOD ligt, wat er kan op wijzen dat er toch nog een zeer kleine hoeveelheid MON810 in dit staal aanwezig was. Merk wel op dat we hier samengestelde snijmaïsstalen analyseren en geen individuele korrels of bladeren meer. Doordat de GGO korrels in het veld werden uitgezaaid en tot het moment van oogsten uitgroeiden tot volledige GGO planten, kunnen deze ook goed in de snijmaïs-stalen gedetecteerd worden. Bovendien kan er een lokaal vermenigvuldigingseffect zijn opgetreden: de planten gekiemd uit GGO korrels kunnen de naburige planten hebben bestoven met GGO pollen en op die planten aanleiding gegeven hebben tot kolven die GGO DNA bevatten.

#### Simulatie zaai

In de gesimuleerde zaaiproef werd de zaaimachine eerst gevuld met rode zaden (GGO zaad). Vervolgens werd er een aantal meter gereden met de zaaimachine, waardoor rode zaden het gehele traject door de zaaimachine van begin tot einde hadden gevuld. Daarna werd deze geledigd zoals tijdens van het veldexperiment werd gedaan. Dit bestaat enkel uit ledigen van de zaadreservoirs door onderaan de zaaischijven de kleppen te openen en het zaad op te vangen, zonder verder nog iets te doen.

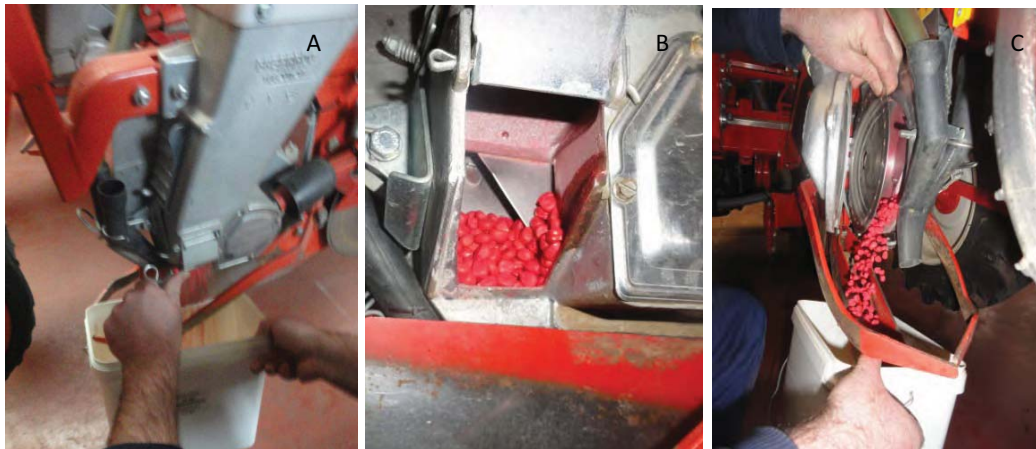
Na deze handeling werden de zaadreservoirs gevuld met zwarte zaden (niet-GGO zaden). Vervolgens werd er met de zaaimachine in een loods trajecten van 35 meter gereden, dit tot wanneer 2 maal na elkaar (70 meter) geen rode zaden meer werden gevonden. Om een beeld te krijgen over de frequentie waarmee rode korrels nog uit de zaaimachine vallen werden per lopende meter telkens het aantal zwarte (niet-GGO) en rode (GGO) korrels genoteerd. In onderstaande Figuur 19 wordt het resultaat van de zaaisimulatie weergegeven.



Figuur 21 Resultaat van de zaaisimulatie

Per meter worden er normaliter 8 korrels uitgezaaid. In de eerste meters worden uiteraard het hoogste aantal rode korrels waargenomen. Maximaal 5 van de 8 korrels waren in de eerste meters rood, daarna was er een snelle daling waar te nemen. Merk op dat het aantal rode korrels weergegeven het gemiddelde is van de 6 zaadbakken. Opvallend is verder ook dat de laatste rode korrel pas na 301 meter werd uitgezaaid.

Om een beter zicht te krijgen op de mogelijke verklaring voor de vaststelling dat er tot zover in het veld nog rode korrels kon worden waargenomen, werd de zaaimachine in meer detail bekeken. Een eerste vaststelling was dat er makkelijk tot 300 korrels per zaadbak kunnen achterblijven wanneer deze worden geledigd volgens de huidige praktijk (Figuur 20 B). Dit is mogelijk doordat het laagste punt van de openingsklep onderaan de zaaischijven zich nog boven het laagste punt van de zaaischijven zelf bevindt. Hierdoor kunnen er dus makkelijk korrels achterblijven, zelfs na ledigen via de hiervoor voorziene klep. Wanneer de zaaimachine langs de andere zijde werd geopend kon worden vastgesteld dat de achtergebleven korrels makkelijk allemaal te verwijderen zijn door de zaaischijf eventjes te verwijderen. De achtergebleven zaden vallen er dan onmiddellijk uit (Figuur 20 C). Aangezien de kamer rond de zaaischijf makkelijk kan geopend worden door het losdraaien van één vleugelmoer per zaaischijf, vraagt het voor een zesrijige Gaspardo ST300 slechts een kwartiertje tijd om er voor te zorgen dat de zaadmachine tot de laatste korrel is leeggemaakt.



**Figuur 22** Detailstudie van de zaaimachine

In Figuur A wordt het ledigen via de klep onderaan geïllustreerd. Foto B toont duidelijk dat er nog een grote hoeveelheid korrels kan achterblijven wanneer enkel wordt gereinigd via het openen van de kleppen, zoals normaliter in de praktijk gedaan wordt. In de foto C van Figuur 22 is verder duidelijk te zien dat de achtergebleven korrels meteen uit de zaaimachine vallen wanneer de zaaischijf eventjes wordt verwijderd.

#### 4.2.3. Discussie: verspreiding via zaaimachine

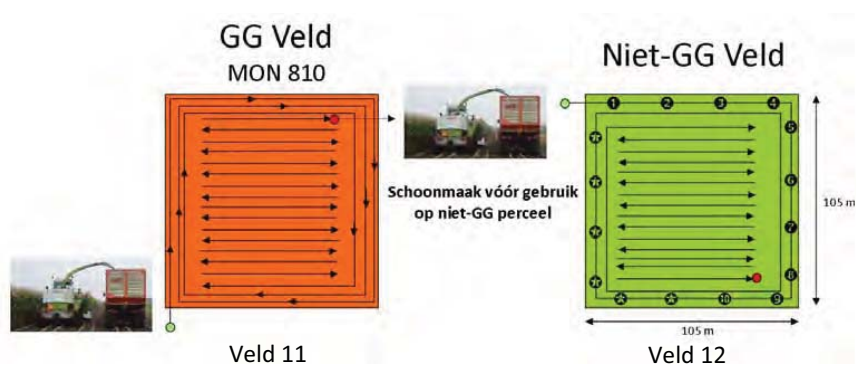
Zowel uit de ELISA sneltest als uit de real-time PCR analyse kon worden vastgesteld dat er wel degelijk verspreiding via de zaaimachine is opgetreden. Een simulatie bevestigde dat er nog tot 300 meter ver in het veld ingezaaid na het GGO veld nog GGO korrels kunnen voorkomen. Een grondige studie van de zaaimachine leverde echter een vrij eenvoudige oplossing op: om de verspreiding via de zaaimachine in te perken kan de loonwerker makkelijk tot de allerlaatste zaadkorrel uit zijn machine verwijderen door na een zaaibeurt de zaadschijven open te schroeven en het reservoir onderaan manueel te ledigen. Dat kost hooguit 15 minuten tijd.

### 4.3. Experiment 3: Verspreiding via de oogstmachines

Na het inzaaien van de maïs is de oogst het volgende tijdstip waarop machines worden ingezet die mogelijk de oorzaak van vermenging kunnen zijn. Een Case New Holland FR- 9060 hakselaar werd ingezet om de snijmaïs te oogsten. Een tweetal weken later werd een Case New Holland CX-8050 dorser gebruikt om de korrelmaïs te oogsten. Om verspreiding via de oogstmachines te evalueren, werden er stalen genomen op deze commerciële oogstmachines tijdens de oogst van het veld dat onmiddellijk na het GGO veld werd geoogst (Figuur 23). De helft van dit perceel 12 werd dus geoogst als snijmaïs, de andere helft als korrelmaïs. Zoals voorgeschreven in het BVR werden ook de oogstmachines eerst gereinigd op het GGO perceel, in de mate van het mogelijke en volgens de gangbare praktijk.



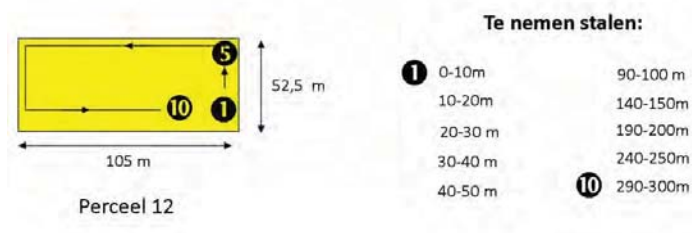
*Figuur 23 Ingezette oogstmachines - CNH FR-9060 voor oogst snijmaïs (A) en CNH CX-8050 voor oogst korrelmaïs (B)*



*Figuur 24 Proefopzet voor evaluatie van de verspreiding via de oogstmachines*

### Staalname en verwerking

Zoals schematisch weergegeven door de zwarte cijfers op het rijtraject in Figuur 24 werden op welbepaalde plaatsen tijdens het oogsten stalen genomen op de commerciële machines. Er worden 10 stalen genomen, waarvan 4 in eerste 50 m, en vervolgens om de 50 meter. Op die manier worden er dus stalen genomen in de eerste 300 meter die de oogstmachine aflegt op het te oogsten veld. Deze 300 meter stemt overeen met het afrijden van de buitenrand van de helft van perceel 12. Van de snijmaïs werd per staal minstens 5 kg materiaal verzameld (materiaal van 10 planten), voor de korrelmaïs werd er telkens meer dan 300 g korrels verzameld (ongeveer 1000 korrels).



**Figuur 25 Staalname in kader van de evaluatie van de verspreiding via de zaaimachine**

Na staalname werd het geoogste materiaal, zowel de snijmaïs als de korrelmaïs, gedroogd, vermalen en gehomogeniseerd. Van het verpoederde materiaal werd zoals steeds 100 mg genomen om te gebruiken in de MON810 specifieke real-time PCR analyse.

#### 4.3.1. Oogstmachine snijmaïs: hakselaar

In onderstaande Tabel 9 worden de resultaten weergegeven van de kwalitatieve real-time PCR analyse van de snijmaïsstalen genomen op de CNH FR-9060 hakselaar op perceel 12. Deze kwalitatieve analyse geeft een antwoord op de vraag of er een kwantificeerbare hoeveelheid MON810 DNA gevonden werd in het staal.

**Tabel 9 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de snijmaïsstalen genomen op perceel 12**

| Veld 12 – Verspreiding via hakselaar |       |           |                  |
|--------------------------------------|-------|-----------|------------------|
| staaln.                              | CT    | QL MON810 | Plaats staalname |
| 12.1                                 | 40,33 | <LOD      | 0-10 m           |
| 12.2                                 | n.d.  | negatief  | 10-20 m          |
| 12.3                                 | 40,37 | <LOD      | 20-30 m          |
| 12.4                                 | 43,53 | <LOD      | 30-40 m          |
| 12.5                                 | n.d.  | negatief  | 40-50 m          |
| 12.6                                 | n.d.  | negatief  | 90-100 m         |
| 12.7                                 | n.d.  | negatief  | 140-150 m        |
| 12.8                                 | n.d.  | negatief  | 190-200 m        |
| 12.9                                 | n.d.  | negatief  | 240-250 m        |
| 12.10                                | n.d.  | negatief  | 290-300 m        |

Zoals blijkt uit de bekomen  $C_T$  waarden (Tabel 9) kon in geen enkel snijmäis staal een detecteerbare hoeveelheid MON810 DNA worden gevonden. Zelfs niet in de snijmaïstalen in de eerste meters van het veld geoogst na het GGO veld.

#### 4.3.2. Oogstmachine korrelmaïs: dorser

In onderstaande Tabel 10 worden vervolgens de resultaten weergegeven van de kwalitatieve real-time PCR analyse van de korrelmaïsstalen genomen op de CNH CX-8050 dorser op perceel 12.

*Tabel 10 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de stalen genomen met de dorser*

| Veld 12 – Verspreiding via dorser |       |           |                  |
|-----------------------------------|-------|-----------|------------------|
| staalnr.                          | CT    | QL MON810 | Plaats staalname |
| 12.1                              | 24,56 | positief  | 0-10 m           |
| 12.2                              | 27,72 | positief  | 10-20 m          |
| 12.3                              | 29,92 | positief  | 20-30 m          |
| 12.4                              | 33,34 | positief  | 30-40 m          |
| 12.5                              | 29,95 | positief  | 40-50 m          |
| 12.6                              | 32,49 | positief  | 90-100 m         |
| 12.7                              | 35,54 | positief  | 140-150 m        |
| 12.8                              | 33,37 | <LOD      | 190-200 m        |
| 12.9                              | 33,97 | positief  | 240-250 m        |
| 12.10                             | n.d.  | negatief  | 290-300 m        |

In tegenstelling tot de stalen genomen op de hakselaar kon er in 8 van de 10 stalen genomen op de dorser werd MON810 DNA worden gedetecteerd. Voor al deze stalen werd het GGO gehalte bepaald via een kwantitatieve real-time PCR analyse. Tabel 11 geeft de resultaten weer van deze analyse.

*Tabel 11 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de positieve stalen van de stalen genomen met de dorser op perceel 12*

| Veld 12 - Verspreiding via dorser |                    |                  |
|-----------------------------------|--------------------|------------------|
| Staal nr.                         | GGO gehalte (% cp) | Plaats staalname |
| 12.1                              | 42,022             | 0-10 m           |
| 12.2                              | 1,720              | 10-20 m          |
| 12.3                              | 0,314              | 20-30 m          |
| 12.4                              | 0,020              | 30-40 m          |
| 12.5                              | 0,478              | 40-50 m          |
| 12.6                              | 0,019              | 90-100 m         |
| 12.7                              | -                  | 140-150 m        |
| 12.8                              | 0,008              | 190-200 m        |
| 12.9                              | 0,003              | 240-250 m        |
| 12.10                             | -                  | 290-300 m        |

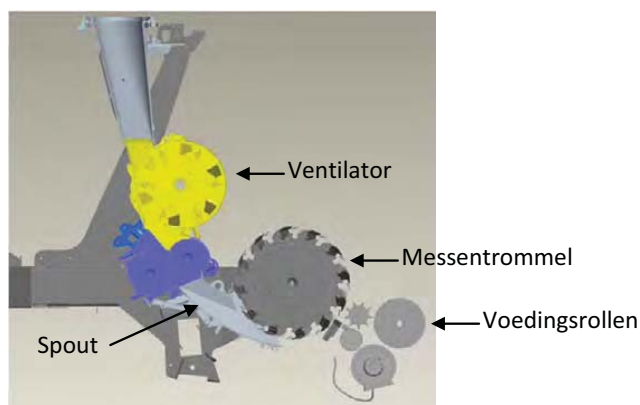
Uit Tabel 11 blijkt dat het GGO gehalte zeer snel daalt. Zoals verwacht wordt het hoogste gehalte gemeten in het eerste staal. Daarna neemt het GGO gehalte in de volgende stalen zeer snel af, om in alle stalen genomen na 50 meter niet meer boven 0,019 % (cp) uit te komen. De laatste stalen schommelen rond 0,005%, terwijl in het allerlaatste staal geen MON810 DNA meer kon worden gedetecteerd.

#### 4.3.3. Discussie: verspreiding via oogstmachines

Uit bovenstaande resultaten blijkt duidelijk dat verspreiding van geoogst GGO materiaal via de **hakselaar** geen probleem vormt. In geen enkel van de stalen genomen tijdens de oogst van het niet-GGO veld kon MON810 DNA worden gedetecteerd. Een minimale reiniging van de hakselaar, op het GGO veld, die enkel bestaat uit het verwijderen van achtergebleven materiaal uit de maaibek, volstaat om verspreiding van GGO materiaal in de daaropvolgende oogst van een niet-GGO veld te vermijden.

De dorsmachine is echter een ander verhaal. Acht van de tien stalen testten positief in de kwalitatieve analyse. Uit de kwantitatieve analyse blijkt echter dat het GGO gehalte in de genomen stalen zeer snel afneemt. Het GGO gehalte in het tweede staal is al 25 maal lager dan wat waargenomen werd in het eerste staal en neemt verder snel af in de stalen genomen na meer dan 50 meter om na 300 meter op 0% (cp) uit te komen. Hieruit valt dus af te leiden dat er toch heel wat geoogst GGO materiaal in de dorsmachine kan achterblijven. Het grootste deel van dit achtergebleven geoogst materiaal wordt echter zeer snel uitgespoeld. Na het oogsten van 1350 m<sup>2</sup>, wat overeenstemt het oogsten van 6 rijen over 300 lopende meters, is de machine volledig uitgespoeld.

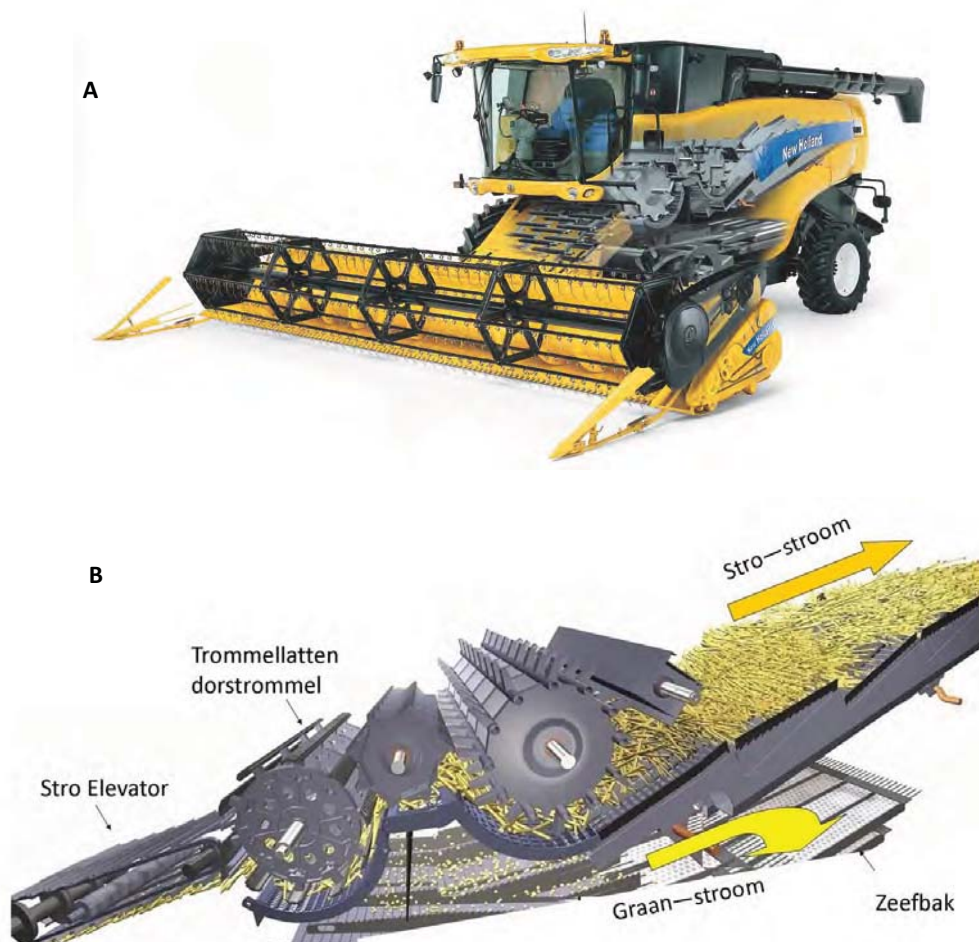
Echt verrassend zijn de verschillende resultaten voor de twee types oogstmachines niet als we de technische opbouw van een hakselaar en een dorser vergelijken. Onderstaande figuren geven de bouw weer van de gebruikte CNH FR-9060 hakselaar en de CNH CX-8050.



**Figuur 26 Doorsnede technische opbouw hakselaar CNH FR-9060**

De afregelbare voedingsrollen zorgen voor de instroom van de maïsplanten. Door de messentrommel wordt het gewas verhakseld. Vervolgens komt het in de overgangskanaal of concave terecht. Dit is een kanaal waarin het materiaal wordt opgevangen. Verderop wordt het materiaal dan door een

ventilator uit de machine geblazen in de blaaspijp of spout en opgevangen in een meerijsende tractor-kipwagen combinatie. Zoals uit Figuur 24 blijkt zijn er in een hakselaar dus in vergelijking met de dorser veel minder plaatsen waar er mogelijk materiaal kan achterblijven.



**Figuur 27** Bewerkt totaalbeeld CNH CX 8050 dorser met inkijk in de mechanische onderdelen (A) en gedetailleerde technische tekening van de opbouw (B)

In overleg met de constructeur, Case New Holland, werd bekeken waar in de gebruikte CNH CX 8050 mogelijk materiaal achter kan blijven. Uit ervaringen bij CNH weten ze dat er makkelijk tot 25 kg materiaal in de dorser kan achterblijven, en wel op de volgende punten:

- Links en rechts in de stro elevator
- Onder de trommellatten van de dorstrommel
- Op de voervijzel naar de graantank
- Aan de zijkant van de zeefbak
- In de graantank zelf

Dit type dorser is echter langs de gehele gewasstroom doorheen de machine ook voorzien van allerlei controleluiken en deksels die makkelijk kunnen opengemaakt worden. Zo is er toegang tot de binnenkant van de machine op volgende punten:

1. Aan de graanvijzel in de zeefkast
2. Aan de retourvijzel
3. Aan de de graanvijzelketting
4. Aan de 'Bubble up tussenbak'
5. Aan de Graantank
6. Aan de losvijzel
7. Via deksels onder de zeven

Deze zouden kunnen gebruikt worden om grondiger te gaan reinigen met behulp van een industriële compressor bijvoorbeeld. De inschatting is dat een reiniging via bovenstaande plaatsen kan gebeuren in een tijdsspanne van 2-3 uur en dat hiermee meer dan 90% van het achtergebleven materiaal zou kunnen verwijderd worden. Dit is een reinigingspraktijk die vandaag al toegepast wordt in Australië waar dorser niet ongekuist de provinciegrenzen mogen overschrijden. Ook erwtenoogstmachines worden op die manier tussen twee percelen gekuist.

In de huidige praktijk worden deze oogstmachines normaliter niet grondig gereinigd tijdens het oogstseizoen. Meestal is er de tijd niet voor. Het toestel moet op dat moment immers maximaal ingezet worden. Bovendien vraagt het ook heel wat tijd om oogstmachines van deze omvang volledig te reinigen.

In dit experiment bestond de reiniging op het GGO veld daarom, net zoals bij de hakselaar, louter uit het verwijderen van achtergebleven materiaal in de maaibek.

Het zou echter een mogelijke aanbeveling aan de loonwerkers kunnen zijn om via de aanwezige controledeurtjes en -luiken een grondigere reiniging uit te voeren. Dit vergt echter de nodige voorbereiding: de nodige sleutels moeten naar het veld meegenomen worden en een luchtcompressor moet beschikbaar zijn ter plaatse. Een voor de hand liggende strategie om verspreiding via machine te vermijden is het gebruiken van machines die ofwel alleen worden gebruikt voor het oogsten van GGO of niet-GGO velden. Een dergelijke strategie lijkt echter pas haalbaar als het areaal GGO-maïs voldoende groot zou worden om dit financieel leefbaar te maken voor de loonwerker.

Een andere oplossing zou er kunnen in bestaan dat de landbouwer die GGO maïs inzaait een voldoende grote oppervlakte niet-GGO maïs mee inzaait. Deze partij zou dan na de bulkoogst van GGO maïs kunnen gebruikt worden om de dorser te spoelen met oogstmateriaal. Uit onze analyses bleek alvast dat het oogsten van niet-GGO materiaal over 300 lopende meters of minder dan 1500 m<sup>2</sup> volstond om dit type dorser te spoelen zodat het GGO gehalte terugviel op 0%.

#### 4.4. Verspreiding tijdens het transport

Transport beperkt zich in vele gevallen vaak tot verplaatsing van het veld naar de (eigen) hoeve waar het geoogste materiaal wordt opgeslagen. Dit geldt zeker voor snijmaïs. Bovendien wordt tijdens het

oogsten van de snijmaïs meestal gekneusd zodat deze makkelijker gaat verzuren tijdens het inkuilproces. Tegelijk zorgt dit kneuzen er voor dat de korrels wanneer ze eventueel zouden terechtkomen in de natuur niet meer zullen kunnen kiemen. Geoogste korrelmaïs werd in ons geval ook naar de hoeve gebracht waar het verwerkt werd tot Corn Cob Mix (CCM). In het geval de korrel wordt verhandeld, wordt deze getest op vochtgehalte. Indien de geoogste korrel nog te veel vocht bevat zal deze van het veld getransporteerd worden naar een bedrijf waar de korrels gedroogd worden. Maar voor zowel het transport van snijmaïs als korrelmaïs is er een eenvoudige regel die verspreiding van geoogst (GGO) materiaal kan voorkomen, namelijk er zorg voor dragen dat de wagens niet te vol worden geladen.

#### 4.5. Representatieve staalname

Omdat het beschikbaar zijn van representatieve monsters en de kwaliteit ervan cruciaal zijn voor de juistheid van de analyseresultaten, werden er tijdens het experiment verschillende bemonsterstrategieën uitgevoerd en geëvalueerd. In de meeste experimenten werden verschillende puntstalen genomen. Op basis van de individuele puntdata kunnen dan globale gemiddelden voor het gehele perceel berekend worden (zie bvb. Experiment 1 – Verspreiding via pollen). In de praktijk zou het echter interessant zijn mocht er per veld 1 bulkstaal kunnen worden samengesteld, gedroogd en bewaard voor eventuele latere analyse. Onderstaande experimenten kaderen in deze gedachtengang.

##### **Staalname, verwerking en analyse**

Om het gebruik van bulkstalen te verifiëren werden op basis van geoogste korrelmaïs en snijmaïs bulkstalen samengesteld. Dit werd uitgevoerd voor de vier percelen die ook in experiment 1 – verspreiding via wind werden opgenomen (perceel 3,4, 7,9). Voor de korrelmaïs werd gebruik gemaakt van korrels geoogst met de mini-dorser voor het samenstellen van een bulkstaal. Uit verschillende zakken geoogste korrelmaïs werd telkens een hoeveelheid korrels genomen zodanig dat er in het bulkstaal uit elke zak eenzelfde hoeveelheid korrels werden genomen en dat de totale hoeveelheid korrels op ongeveer 3000 korrels uitkwam (ongeveer gelijk aan 967 gram).

Voor de snijmaïs werd het bulkstaal samengesteld als volgt. Tijdens het persen van balen werd uit het materiaal dat gebruikt werd voor het persen van elke individuele baal met de hand één stevige greep materiaal genomen. Alle grepen werden samengevoegd en vormden zo het bulkstaal.

De bulkstalen werden opnieuw aan de lucht gedroogd, vermalen en gehomogeniseerd. Voor de korrelmaïs werden de 3000 korrels vermalen tot poeder. Voor de snijmaïs werd het volledige bulkstaal na drogen vermalen tot poeder. Na homogeniseren van dit poeder werd er 100 mg gebruikt voor DNA extractie. Dit DNA werd dan via een kwalitatieve en kwantitatieve real-time PCR geanalyseerd.

## Resultaten

Onderstaande tabel geeft de kwalitatieve resultaten weer van alle gemaakte bulkstalen.

*Tabel 12 Resultaten van de kwalitatieve analyse van de bulkstalen*

|            | Bulkstalen |       |           |
|------------|------------|-------|-----------|
|            | Veld       | CT    | QL MON810 |
| Korrelmaïs | veld 3     | 33,81 | positief  |
|            | veld 4     | 34,04 | positief  |
|            | veld 7     | n.d.  | negatief  |
|            | veld 9     | 30,18 | positief  |
| Snijmaïs   | veld 3     | n.d.  | negatief  |
|            | veld 4     | n.d.  | negatief  |
|            | veld 7     | n.d.  | negatief  |
|            | veld 9     | 41,45 | <LOD      |

Enkel de bulkstalen van de korrelmaïs geoogst op percelen 3 (80m, in een gunstige windrichting), perceel 4 (50 meter in gunstige windrichting) en perceel 9 (0 meter) leverde een  $C_T$  op kleiner dan 35 en werden geanalyseerd in een kwantitatieve analyse om het GGO gehalte in te schatten.

In Tabel 14 zijn de resultaten van de kwantitatieve analyse weergegeven. Voor de volledigheid werd ook veld 7 in de tabel met kwantitatieve data opgenomen. Merk op dat de 0% weergegeven voor veld 7 afgeleid is uit de resultaten van de kwalitatieve analyse.

*Tabel 13 Resultaten van de kwantitatieve analyse van de bulkstalen*

|            | Bulkstalen |        |
|------------|------------|--------|
|            | Veld       | % (cp) |
| Korrelmaïs | veld 3     | 0,010  |
|            | veld 4     | 0,023  |
|            | veld 7     | 0,000  |
|            | veld 9     | 0,408  |

## Discussie

Eerst en vooral is uit de uitgevoerde experimenten in deze studie duidelijk dat de verwerking van de genomen monsters ook in de praktijk zou kunnen geïmplementeerd worden. Het samenvoegen van vers geoogst materiaal (snijmaïs of korrel) tot een bulkstaal, het drogen aan de lucht, het vermalen tot een poeder en vervolgens homogeniseren liet steeds toe om een poeder aan te leveren voor de DNA extractie waaruit DNA bruikbaar voor de real-time PCR analyse kon worden gehaald. Drogen aan de lucht is een gangbare landbouwpraktijk. De gedroogde stalen kunnen aldus bewaard worden tot wanneer verdere analyse gevraagd wordt. Deze stappen in het proces zijn dus makkelijk om te zetten van laboschaal naar praktijkschaal.

Op basis van de onderzoeksresultaten verkregen in deze studie is het tevens de bedoeling een scenario uitwerken voor routine matige bemonstering. Hierbij moet gestreefd worden naar een

balans tussen praktische haalbaarheid, kost en een zo klein mogelijke foutenmarge op het analyseresultaat. Dit scenario moet later in overleg met de overheid en de stakeholders omgezet worden naar de praktijk, om op een gestandaardiseerde manier bemonstering uit te voeren en de monsters in optimale omstandigheden te bewaren tot wanneer een eventuele laboratoriumanalyse vereist is. Door monsters te bewaren kunnen we vermijden dat standaard voor elke niet-GGO partij analyses worden uitgevoerd, wat een hoge kost met zich zou meebrengen. Anderzijds zorgen we er zodoende ook voor dat, indien analyseresultaten noodzakelijk zijn, dit kan gebeuren op één monster representatief voor de ganse partij.

Uit de kwalitatieve analyse van de bulkstalen wordt onmiddellijk duidelijk dat enkel in de korrelmaïs stalen MON810 DNA kon worden gedetecteerd. In geen van de samengestelde snijmaïs bulkstalen werd een detecteerbare hoeveelheid MON810 DNA gevonden.

Deze resultaten zijn grotendeels in overeenstemming met de gewogen gemiddelden op basis van analyseresultaten van de snijmaïs puntstalen. Ook daar kon geen MON810 DNA worden gedetecteerd in de gewogen gemiddelden van velden 3, 4 en 7. Enkel voor veld 9 kon in de puntstalen genomen vlak aan de grens met het GGO veld een positief signaal worden gedetecteerd (cfr. *Tabel 6*). De data van deze puntstalen zorgt er dan ook voor dat het gewogen gemiddelde verschillend is van 0 (*Tabel 7*). De analyse van het bulkstaal van veld 9, samengesteld uit materiaal afkomstig van het volledige veld, resulteert wel nog in een uitleesbare  $C_T$  waarde van 41,45. Deze waarde wijst wel op een minimale hoeveelheid MON810 in het bulkstaal, maar deze is echter te klein voor kwantificatie.

Wanneer we kijken naar de kwantitatieve data van de bulkstalen van de korrelmaïs en deze vergelijken met de globale gewogen gemiddelden, weergegeven in *Tabel 7*, die berekend werden op basis van verschillende puntstalen is er een zeer goede correlatie tussen de datasets waar te nemen. Hieruit kan dus afgeleid worden dat de strategie om te werken met bulkstalen zeker geldig is. Hoe deze bulkstalen in detail worden samengesteld kan in de toekomst verder worden geoptimaliseerd.

Het maken van bulkstaal op basis van materiaal ingezameld op het tijdstip van de oogst lijkt dus zeker een haalbaar scenario. Dit kan in de praktijk uitgevoerd worden tijdens het storten in de silo of het persen in balen wat betreft de snijmaïs of tijdens het afleveren van de geoogste korrels aan de droger of bij de verwerking tot CCM voor de korrelmaïs. Een andere optie is dat een bevoegde persoon kort voor de oogst volgens een gedefinieerd bemonsteringsschema handmatig kolven gaat oogsten. Op deze manier wordt het moment van de staalname wel losgekoppeld van het oogsttijdstip.

Op korte termijn kan dus een strategie worden uitgewerkt om op tijdstip van de oogst een representatieve, manuele staalname te realiseren.

Op langere termijn is ook automatische bemonstering op de oogstmachines een mogelijke optie. Vandaag de dag bevatten de oogstmachines al heel wat sensoren en zijn ze sterk geautomatiseerd. Zo is de gebruikte CNH CX-8050 bijvoorbeeld al uitgerust met een sensor die automatisch stalen gaat nemen in de graanelevator om het vochtgehalte in de korrels te bepalen. De CNH CX-8050 is verder ook uitgerust met een nauwkeurige opbrengstsensor (New Holland, 2011). Het lijkt dus zeker ook haalbaar om in de toekomst de machines aan te passen zodat ze ook automatische stalen gaan nemen tijdens de oogst.

Samenvattend kan dus gesteld worden dat de gevolgde procedure voor het manueel samenstellen van een bulkstaal, het aan de lucht drogen van het staal en het vermalen en homogeniseren, een poeder oplevert dat bruikbaar is voor succesvolle DNA extractie en real-time PCR analyse. Dit is een procedure die vandaag al zou kunnen geïmplementeerd worden. Mocht in de toekomst een geautomatiseerde staalname de manuele staalname kunnen vervangen, dan zou deze procedure nog minder tijdrovend en operator-onafhankelijk kunnen gemaakt worden.

## 5. Conclusies

### **Verspreiding via de wind**

Uit alle experimenten bleek duidelijk dat de voorgestelde isolatieafstand van 50 meter ruim voldoende is om vermenging door kruisbestuiving naar omliggende niet-GGO percelen zodanig in te perken dat de finale GGO gehaltes in de volledige geoogste partijen snijmaïs of korrelmaïs ruim onder de 0,9% blijven.

### **Verspreiding via de zaaimachine**

Verschillende experimenten hebben aangetoond dat de huidige praktijk van reinigen van zaaimachines het risico inhoudt dat per zaadbak tot 300 korrels in de reservoirs kunnen achterblijven. Deze achtergebleven zaden kunnen tot 300 meter ver in het veld worden uitgezaaid. Verspreiding via de zaaimachine kan echter vermeden worden door alle zaaischijven eventjes open te maken en alle achtergebleven korrels manueel te verwijderen. Dit neemt maximaal 15 minuten tijd in beslag.

### **Verspreiding via oogstmachines**

Verspreiding van geoogste GGO snijmaïs in een daaropvolgende oogst van niet-GGO snijmaïs via de hakselaar is zo goed als nihil. Dorsers daarentegen kunnen duidelijk wel voor vermenging van geoogst GGO materiaal in de daaropvolgende niet-GGO oogst zorgen. Dit kan ingeperkt worden door het toestel voor gebruik in een niet-GGO veld grondiger te gaan reinigen dan dat vandaag het geval is. Aanwezige controleluiken en deksels zouden voor dit doel kunnen gebruikt worden en toelaten om met een luchtcompressor meer achterblijvend materiaal uit de oogstmachine te verwijderen. Een alternatieve oplossing is dat de landbouwer die GGO inzaait, een partij niet-GGO maïs voorziet die minstens 1500 m<sup>2</sup> groot is. Deze kan na de GGO partij mee geoogst worden en zorgen voor een 'spoeling' (reiniging) van de dorsmachine.

### **Verspreiding tijdens transport**

Deze vorm van verspreiding is het makkelijkst in te perken. De voor de hand liggende maatregel, om de kipwagens ingezet tijdens het transport niet overvol te laden, verhindert mogelijke verspreiding.

### **Representatieve staalname**

De gevolgde procedure, bestaande uit het manueel samenstellen van een bulkstaal en het aan de lucht drogen van het staal, kan makkelijk geïmplementeerd worden in de praktijk. Het bulkstaal kan bestaan uit geoogst materiaal genomen op het tijdstip van de oogst of uit vooraf geplukte kolven. In de toekomst lijkt ook geautomatiseerde staalname op de commercieel ingezette oogstmachines zeker een optie.

ILVO heeft met dit onderzoek wetenschappelijk kunnen aantonen dat GGO maïs teelt in Vlaanderen in de praktijk perfect haalbaar is op basis van de huidige co-existentieregels, zonder dat hierbij naburige niet-GGO maïs teelten worden gehinderd. Een isolatieafstand van 50 meter is een meer dan voldoende veilige isolatieafstand om vermenging boven de 0.9% grenswaarde door uitkruising te vermijden. Er moet vooral zorgvuldig worden omgesprongen met de zaai- en dorsresten in de machines.

Landbouwers en loonwerkers die in de toekomst met GGO maïs aan de slag willen, stellen zich best goed op de hoogte van het co-existentie onderzoeksrapport en de daaruit volgende praktijkadviezen.

## 6. Bedankingen

Deze praktijktoets van de co-existentieregelgeving was enkel mogelijk dank zij de medewerking van drie ILVO onderzoeksgroepen en de input van tal externe organisaties. Het experiment was een samenwerking van onderzoeksgroepen behorend tot de ILVO Eenheden DIER, PLANT en Technologie en Voeding en werd gecoördineerd door de onderzoeksgroep Productkwaliteit en Innovatie (T&V). We willen de Administrateur-Generaal van het ILVO, Erik Van Bockstaele en alle Afdelingshoofden van de betrokken ILVO Eenheden, met name Lieve Herman, Bart Sonck en Kristiaan Van Laecke, uitdrukkelijk danken voor hun ondersteuning. Een speciaal woord van dank gaat ook uit naar de communicatiedienst van het ILVO, onder leiding van Greet Riebbels, die de externe communicatie van de proefopzet en de resultaten ervan in goede banen heeft geleid.

Voor de proef werd op de site van Eenheid DIER de maïsteelt zodanig georganiseerd dat deze zou toelaten om de waarnemingen uit te voeren. Hierbij willen we vooral Daniël De Brabander, Rudi Danneels en al de medewerkers die o.a. bij de oogst hebben meegewerkt vermelden. De Eenheid PLANT vermelden we omwille van hun input van expertise op het vlak van proefveldwerking en de inzet van specifieke proefveldoogstmachines. Meer bepaald vermelden we hier Johan Van Waes, Filip De Brouwer en medewerkers die betrokken waren bij de oogst van de snijmaïs. Van de Eenheid Technologie en Voeding willen we enerzijds de techniekers Annique Staelens, Mieke D'Hondt en Cindy Merckaert vermelden die de stalen hebben genomen en die de vele analyses hebben uitgevoerd, en anderzijds de medewerkers van Agrotechniek waaronder de verantwoordelijke onderzoeker Jürgen Vangeyte en de techniekers Bart Eloot en Olav Van Malderen. Tenslotte vermelden we nog de medewerking op piekmomenten bij de oogst van Rolinde De Meyer en Nathalie Bernaert. In het kader van een eindwerk hebben ook twee studenten van de HoGent meegewerkt aan dit project. Speciaal willen we ook melding maken van de steun vanwege het Beleid, met name Joris Relaes en Frans Coussement en de Administratieve Werkgroep co-existentie, waarvan Cindy Boonen de trekker is. Tenslotte heeft de input van tal van externen, zowel op technisch als theoretisch vlak, bijgedragen tot een vlot verloop van de proef, zoals daar zijn Case New Holland en loonwerkers bij de zaai- en oogstactiviteiten, de beëdigde staalnemers onder leiding van Bartel De Muynck en de Gerechtsdeurwaarder Smet. Ook de bijdragen van Marc Van Den Bulcke en collega's van het Joint Research Centre (EU) voor de pollen monitoring, van Dirk Reheul voor advies bij de opzet van het experiment en de begeleiding van de Politie Wetteren waren zeer waardevol. Finaal willen we Greenpeace vermelden voor het bediscussiëren van de resultaten.

## 7. Referenties

Charels D., Broeders S., Corbisier P., Gioria S., Vincent S., Schimmel H., Trapmann S., Emons H. (2007) Certification of a MON 810 Maize Reference Material for its DNA copy number ratio, ERM®-BF413d, 18 pp.

CRL (2006) CRL assessment on the validation of an event specific method for the relative quantitation of maize line MON 810 DNA using real-time PCR as carried out by Federal Institute for Risk assessment (BfR), 9 pp.

Devos Y., Reheul D. De Schrijver A. (2005) The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. *Environmental Biosafety Research* 4, pp. 71–87.

EU (2004) Commission Recommendation (EC) No 787/2004 of 4 October 2004 on technical guidance for sampling and detection of genetically modified organisms and material produced from genetically modified organisms as or in products in the context of Regulation (EC) No 1830/2003, *Official Journal of the European Union* (2004), L 348: 18-26.

Henry, C., D. Morgan, R. Weekes, R. Damels & c. Boffey, 2003. Farm scale evaluation of GM crops: monitoring gene flow from GM crops to non-GM equivalent crops in the vicinity. Final report EPG 1/5/138. Part I: Forage maize. DEFRA, London, 25 pp.

IRRM (2011) Certified Reference Materials Catalogue 2011, 108 pp.

Kuribara H., Shindo Y., Matsuoka T., Takubo K., Futo S., Aoki N., Hirao T., Akiyama H., Goda Y., Toyada M., Hino A. (2002) Novel Reference Molecules for Quantitation of Genetically Modified Maize and Soybean. *J. AOAC Int* 85, 1077-1089.

New Holland (2011) NEW HOLLAND CX Productbrochure, Modellen CX8030, CX8040, CX8050, CX8060, CX8070, CX8080 en CX8090. Cod. n. 62005/NLO, 28 pp.

Papazova N., Taverniers I., Degrieck I., Van Bockstaele E., Joost H., De Loose M. (2006) Real time polymerase chain reaction (PCR) quantification of T25 maize seeds – influence of the genetic structure in the maize kernel on the quantitative analysis. *Seed Sci Technol*, 34: 321-331

Trapmann S., Le Guern L., Prokisch J., Robouch P., Kramer G.N., Schimmel H., Querci M., Van den Eede G., Anklam E., Pauwels J. (2001) The Certification of Reference Materials of Dry Mixed Maize Powder with different Mass Fractions of MON 810 Maize. *Certified Reference Materials IRMM-413*. ISBN 92-894-1978-4. EC certification report EUR 20111 EN.

Trifa Y., Zhang D. (2004) DNA content in embryo and endosperm of maize kernel (*Zea mays* L.): impact on GMO quantification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:1044–1048.

Van De Wiel C.C.M. , Lotz L.A.P. (2006) Outcrossing and coexistence of genetically modified with (genetically) unmodified crops: a case study of the situation in the Netherlands. *Wageningen Journal of Life Sciences* 54, 17–35.

Van De Wiel C.C.M., Groeneveld R.M.W., Dolstra O., Kok E.J., Scholtens I.M.J., Thissen J.T.N.M., Smulders M.J.M., Lotz L.A.P. (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 Wageningen Journal of Life Sciences 56, 405-423.

## Een illustratieve tijdlijn

### *De co-existentieproef: het parcours in beelden*



Foto 1: Actievoerders ontvouwen tijdens de uitzaai spandoeken met de slogan "Zaaï veilig of zaaï niet" op het perceel in Wetteren. Zij strooien even later ook biologisch bloemenzaad uit op de plaats waar de gg-maïs moet komen. (27 april 2010)



Foto 2: Erik Van Bockstaele, administrateur-generaal van ILVO, en Marc De Loose, wetenschappelijk directeur Productkwaliteit en –innovatie, gieten het eerste MON810-zaad in de zaaimachine. (27 april 2010)



Foto 3: Erik Van Bockstaele en Marc De Loose staan de pers te woord. (27 april 2010)



Foto 4: Bemonstering van vers bladmateriaal in het niet-gg-veld. Dit perceel werd ingezaaid na het gg-veld, ter controle van verspreiding van gg zaad via de zaaimachine. (juli 2010)



Foto 5: *Pollen traps* om de verspreiding van gg pollen te controleren. Deze vallen werden reeds voor de start van de bestuivingsperiode opgesteld. (juli 2010)



Foto 6: Bemonstering van mäiskolven. (augustus 2010)



Foto 7: Bemonstering op het naburig perceel in aanwezigheid van een beëdigd staalnemer en gerechtsdeurwaarder. (september 2010)



Foto 8: Er was behoorlijk wat belangstelling voor de proef bij landbouwers, beroepsorganisaties en andere stakeholders, zoals deze Turkse delegatie. (oktober 2010)



Foto 9: Oogst van de gg-snijmaïs. (12 oktober 2010)



Foto 10: De planning van de oogst werd ter plaatse besproken. (12 oktober 2010)



Foto 11: Persbelangstelling bij de oogst. (12 oktober 2010)



Foto 12: Transport van snijmaïs. (12 oktober 2010)



Foto 13: Staalname van snijmaïs. (12 oktober 2010)



Foto 14: Verpakking van snijmaïs. (12 oktober 2010)



Foto 15: Stockeren en nummeren van de geoogste snijmais per perceel. (12 oktober 2010)



Foto 16: De oogst is technisch perfect en volgens plan verlopen. Bij het vallen van de duisternis werd het laatste perceel bemonsterd en geoogst. (12 oktober 2010)



Foto 17: Verzamelde monsters van snijmaïs. (oktober 2010)



Foto 18: De gedroogde en vermalen monsters zijn klaar voor analyse. (oktober 2010)



Foto 19: Oogst van de CCM-maïs (korrelmaïs). (27 oktober 2010)



Foto 20: De proefveldoogstmachine voor korrelmaïs aan het werk.  
(27 oktober 2010)



Foto 21: Stockage van de CCM-maïs. (27 oktober 2010)



Foto 22: De zaaiproef werd ook gesimuleerd met gekleurde maïskorrels in een loods. (februari 2011)