



Antrag 6786-01-0190

Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch verändertem Mais

(*Zea mays*) 98140

im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,

durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde

Berlin, den 21. April 2009

Hinweis zu diesem Dokument:

Der folgende Text fasst die Risikobewertung von gentechnisch veränderten Organismen zusammen, die für ein Freisetzungsvorhaben in Deutschland genutzt werden sollen. Der Text ist Bestandteil des Genehmigungsbescheids, der zu einem Antrag auf Genehmigung einer Freisetzung von gentechnisch veränderten Organismen nach der Richtlinie 2001/18/EG und dem deutschen Gentechnikgesetz (GenTG) erteilt worden ist. Der Bescheid wurde vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) als der in Deutschland nach dem Gentechnikrecht zuständigen Behörde ausgestellt und enthält die Abschnitte:

- I. Genehmigung
- II. Nebenbestimmungen
- III. Begründung
 - III.1. Genehmigungsvoraussetzungen gemäß § 16 GenTG
 - III.1.1. Genehmigungsvoraussetzungen gemäß § 16 Abs. 1 Nr. 1 GenTG
 - III.1.2. Genehmigungsvoraussetzungen gemäß § 16 Abs. 1 Nr. 3 GenTG
 - III.1.3. Genehmigungsvoraussetzungen gemäß § 16 Abs. 1 Nr. 2 GenTG
 - III.1.4. Genehmigungsvoraussetzungen gemäß § 16 Abs. 4 und 5 GenTG
 - III.2 Würdigung und Bescheid der Einwendungen
- IV. Kosten
- V. Rechtsbehelfsbelehrung

Nur der Bescheid ist rechtlich verbindlich. Der folgende Auszug umfasst das Kapitel III.1.2. des Bescheides und wurde für das Biosafety Clearing House zusammengestellt.

III.1.2.1. Bewertung der durch die übertragenen Nukleinsäuresequenzen bewirkten Veränderungen in den gentechnisch veränderten Pflanzen

a) Das *gat4621*-Gen

Die übertragene Expressionskassette enthält das Gen *gat4621*, welches aus dem Bodenbakterium *Bacillus licheniformis* gewonnen und über ein Gene-Shuffling-Verfahren synthetisiert wurde. Das Gen kodiert für ein Glyphosat-N-Acetyltransferase Protein, welches eine Toleranz gegenüber glyphosathaltigen Herbiziden bewirkt.

Die Expression des veränderten Glyphosat-N-Acetyltransferase-Proteins aus *Bacillus licheniformis* findet unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors statt und bewirkt eine Toleranz gegenüber Glyphosat.

Das Enzym 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat-Synthase (EPSPS) katalysiert im Chloroplasten die Reaktion des Shikimat-3-phosphat mit Phosphoenolpyruvat zum 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat, eine Zwischenstufe für die Biosynthese aromatischer Aminosäuren und anderer aromatischer Substanzen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels. Dieser Stoffwechselweg wird durch den Wirkstoff Glyphosat gehemmt, was in der Folge zum Absterben der Pflanze führt.

Durch die in den genetisch veränderten Maispflanzen exprimierte Glyphosat-N-Acetyltransferase wird der Wirkstoff Glyphosat entgiftet, indem eine Acetylgruppe aus Acetyl-CoA auf die Aminogruppe des Glyphosats übertragen wird. Das so gebildete N-Acetylglyphosat ist nicht in der Lage, die Aktivität des EPSPS-Enzyms zu hemmen, und die gentechnisch veränderten Maispflanzen können trotz Glyphosatbehandlung wachsen.

Für eine Sicherheitsbewertung des exprimierten Proteins wurden von der Antragstellerin die Aminosäuresequenzen mit Sequenzen aus verschiedenen Datenbanken im Hinblick auf potentielle Allergenität oder Toxizität verglichen. In bioinformatischen Analysen konnte für das Protein keine signifikante Ähnlichkeit mit bekannten oder vermuteten Allergenen identifiziert werden.

Für das Protein GAT4621 konnten keine Ähnlichkeiten mit anderen Acetyltransferasen aus Bakterien oder Pilzen identifiziert werden.

Mit dem exprimierten Protein wurde eine Einzeldosis-Fütterungsstudie mit Mäusen durchgeführt. Dabei wurden Mäusen einmalig Dosen von 1640mg/kg Körpergewicht GAT4621-Protein verabreicht. Die Mäuse wurden 14 Tage beobachtet und anschließend getötet und untersucht. Aus den Studien ergaben sich keine Anzeichen für eine akute Toxizität des exprimierten Proteins.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt durch die Freisetzung sind nach Ansicht des BVL in Übereinstimmung mit der ZKBS durch die Wirkungsweise des mittels Transformation eingebrachten Enzyms nicht zu erwarten.

b) Das *zm-hra* –Gen

Die übertragene Expressionskassette enthält ein modifiziertes Gen *zm-hra* aus Mais. Das Gen kodiert für eine modifizierte Acetolaktatsynthase, welche eine Toleranz gegenüber verschiedenen Acetolaktatsynthase-inhibierenden Herbiziden wie beispielsweise Sulfonylharnstoffen bewirkt.

Die Expression des modifizierten Mais-Acetolaktatsynthase-Proteins findet unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors statt und bewirkt eine Toleranz gegenüber einer Reihe von Acetolaktatsynthase inhibierenden Herbiziden.

Das Acetolaktatsynthase-Enzym (ALS) spielt eine Schlüsselrolle im biochemischen Syntheseweg der verzweigten Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin. Durch die Anwendung von ALS-hemmenden Herbiziden wird dieser Syntheseweg blockiert. Der Mangel an den genannten Aminosäuren behindert die Proteinsynthese und führt so zum Absterben der Pflanze.

Die in die beantragte Maislinie eingebrachte modifizierte Variante der endogenen Mais-ALS wird im Gegensatz zur Ausgangsvariante nicht durch die entsprechenden Herbizide in ihrer Aktivität gehemmt. Daher kann in den gentechnisch veränderten Maispflanzen der Biosyntheseweg für die verzweigten Aminosäuren weiter ablaufen und die Pflanzen können sich ungehindert entwickeln.

Für eine Sicherheitsbewertung des exprimierten Proteins wurden von der Antragstellerin die Aminosäuresequenzen mit Sequenzen aus verschiedenen Datenbanken im Hinblick auf potentielle Allergenität oder Toxizität verglichen. In bioinformatischen Analysen konnte für das Protein keine signifikante Ähnlichkeit mit bekannten oder vermuteten Allergenen identifiziert werden.

Ein Vergleich der Proteinsequenz von ZM-HRA zeigte Ähnlichkeiten mit ALS-Enzymen verschiedener Nutzpflanzen und Wildkräuter sowie geringere Übereinstimmungen mit ALS-Sequenzen von Bakterien und Pilzen. Keine der überprüften Proteinübereinstimmungen betraf Toxine oder antinutritive Stoffe oder stellten augenscheinlich Gesundheitsgefahren dar.

Mit dem exprimierten Protein wurde eine Einzeldosis-Fütterungsstudie mit Mäusen durchgeführt. Dabei wurden Mäusen einmalig Dosen von 1236mg/kg Körpergewicht ZM-HRA-Protein verabreicht. Die Mäuse wurden 14 Tage beobachtet und anschließend getötet und untersucht. Aus den Studien ergaben sich keine Anzeichen für eine akute Toxizität des exprimierten Proteins.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt durch die Freisetzung sind nach Ansicht des BVL in Übereinstimmung mit der ZKBS durch die Wirkungsweise des mittels Transformation eingebrachten Enzyms nicht zu erwarten.

(c) Positionseffekte und Kontextänderungen; Allergenität

Die Expressionsstärke von Genen, die mittels gentechnischer Methoden in das Genom von Pflanzen integriert werden, ist abhängig vom Integrationsort im Chromosom bzw. von der Umgebung des Integrationsortes („Positionseffekt“). Unter Freilandbedingungen kann die Expressionsstärke zudem durch Umwelteinflüsse, z. B. durch die Temperatur, beeinflusst werden. Im vorliegenden Fall könnte dies dazu führen, dass die Eigenschaften des gentechnisch veränderten Mais im Freiland nicht in gleichem Maße verändert sind wie unter Klimakammer- oder Gewächshausbedingungen. Risiken für die Umwelt oder die Gesundheit von Menschen oder Tieren sind daraus nicht abzuleiten. Durch die Insertion der Fremdgene kann es zu Beeinflussungen der Expression oder Regulation pflanzeigener Gene am bzw. in der Nähe des Insertionsortes kommen. Beeinflussungen pflanzlicher Stoffwechselwege durch solche Vorgänge sind möglich. Während der bisherigen Arbeiten mit den gentechnisch veränderten Pflanzen wurden jedoch keine Beobachtungen gemacht, die auf ein solches Ereignis schließen lassen.

Bewegliche genetische Elemente (transponierbare Elemente), die durch Transposition im Genom Effekte auf am Zielort vorhandene Pflanzengene ausüben können, kommen natürlicherweise in Pflanzen vor. Inaktivierungen von Genen bzw. Änderungen der Regulation von Genen treten auch durch eine Reihe weiterer natürlicher Vorgänge, z. B. Punktmutationen, Deletionen oder Translokationen, auf und werden üblicherweise in der Pflanzenzüchtung genutzt. Eine mögliche Beeinflussung pflanzlicher Stoffwechselwege durch solche Ereignisse ist daher jederzeit auch in nicht gentechnisch veränderten Pflanzen möglich. Insofern unterscheiden sich die hier freizusetzenden gentechnisch veränderten Pflanzen in ihren diesbezüglichen Eigenschaften nicht grundsätzlich von nicht gentechnisch veränderten Pflanzen. Es ist beim gegenwärtigen Kenntnisstand nicht möglich, aus der Aminosäuresequenz eines Proteins sichere Vorhersagen über eine mögliche allergene Wirkung des Proteins zu machen. Es ist in dem beantragten Freisetzungsvorhaben nicht vorgesehen, den gentechnisch veränderten Mais als Lebensmittel oder Futtermittel zu verwenden.

III.1.2.2. Bewertung der Fähigkeit der gentechnisch veränderten Pflanzen, im Freiland zu überdauern oder sich zu etablieren

Maispflanzen und Maissamen sind nicht winterhart. Mais ist unter den klimatischen Bedingungen Mitteleuropas nicht überdauerungsfähig. Das in die Maispflanzen bzw. -samen eingeführte Erbmateriale verleiht eine Resistenz gegen den Herbizidwirkstoff Glyphosat sowie

Acetolaktatsynthase-inhibierenden Herbiziden wie beispielsweise Sulfonylharnstoffen. Es ist davon auszugehen, dass die Überdauerungseigenschaften nicht verändert worden sind.

Es ist möglich, dass der gentechnisch veränderte Mais im Verlauf der Vegetationsperiode zur Körnerreife gelangt. Eine Etablierung von Durchwuchsmais ist selbst bei Körnermais, der in der Vollreife geerntet wird, in der Flora Mitteleuropas nicht beobachtet worden. Sollten nach Beendigung der Freisetzung auf der Versuchsfläche gentechnisch veränderte Maispflanzen auflaufen, so würden diese durch die in der Nebenbestimmung II.9. zur Auflage gemachte Anbaupause und Nachkontrolle erfasst und beseitigt werden. Damit wird eine zeitliche und räumliche Begrenzung des Freisetzungsvorhabens unterstützt.

Nach Abschluss der vorgesehenen Versuchsreihen ist zur Entsorgung vorgesehen, die gentechnisch veränderten Maispflanzen sowie die nicht gentechnisch veränderten Maispflanzen zu häckseln und in den Boden zur Verrottung einzuarbeiten. Auch wenn ein Teil der Maiskörner durch das Häckseln nicht zerstört werden sollte, so ist davon auszugehen, dass sich aus diesen unter Freilandbedingungen keine überdauerungsfähigen Pflanzen entwickeln können.

Eine Überdauerung oder Etablierung von Maiskörnern aus Silage oder einer Biogasfermentation kann ausgeschlossen werden.

Die nicht gentechnisch veränderten Maispflanzen der Mantelsaat werden wie die gentechnisch veränderten Versuchspflanzen entsorgt.

III.1.2.3. Bewertung der Möglichkeit einer Übertragung der eingeführten Gene von den gentechnisch veränderten Pflanzen durch Pollen auf andere Pflanzen

Eine Übertragung der eingeführten Gene von den gentechnisch veränderten Maispflanzen auf Pflanzen anderer Arten ist nicht möglich, da Mais in der mitteleuropäischen Flora keine Kreuzungspartner besitzt. Im Folgenden wird daher nur auf eine mögliche Pollenübertragung von den gentechnisch veränderten Maispflanzen auf andere Maispflanzen eingegangen.

Maispollen wird in der Regel durch den Wind verbreitet. Bei der Erzeugung von Hybridsaatgut von Mais wird in der Saatgutverordnung - ohne weitere Isolierungsmaßnahmen - eine Mindestentfernung von 200 m zu anderen Maisfeldern vorgeschrieben, um eine Einkreuzung durch sortenfremden Pollen ausreichend zu minimieren.

Die Antragstellerin sieht vor, um die Freisetzungsfäche einen Isolationsabstand von 200 m zu kommerziellen Maisbeständen einzuhalten sowie eine Mantelsaat aus 4 Reihen von nicht gentechnisch verändertem Mais anzulegen. Durch diese Maßnahmen wird der Möglichkeit einer Pollenübertragung in andere Maisbestände ausreichend begegnet, um Vorsorge gegen das Entstehen von Gefahren für die Schutzgüter in § 1 Nr.1 GenTG zu treffen.

III.1.2.4. Bewertung der Möglichkeit einer Übertragung der eingeführten Fremdgene von den gentechnisch veränderten Pflanzen über horizontalen Gentransfer auf Mikroorganismen

Die Expressionskassetten GAT4621 und ZM-HRA

Die eingeführten Sequenzen sind stabil in das Genom der Empfängerorganismen integriert. Beweise für eine unter natürlichen Bedingungen stattfindende Übertragung genetischer Information aus Pflanzen und ihrer Expression in Mikroorganismen liegen nicht vor. Untersuchungen zur Transformationsfähigkeit von Bodenbakterien unter natürlichen Bedingungen lassen jedoch folgern, dass auch eine Übertragung pflanzlichen genetischen Materials auf Bodenbakterien prinzipiell möglich sein kann, wenngleich davon auszugehen ist, dass ein solcher Gentransfer ein sehr seltenes Ereignis darstellen würde.

Soweit anzunehmen ist, dass ein genetischer Austausch zwischen taxonomisch so weit voneinander entfernten Organismen wie Pflanzen und Bakterien tatsächlich stattfindet, wäre zu folgern, dass das Vorkommen eines solchen Austauschs von heterologem Erbmaterial allein betrachtet kein Sicherheitskriterium sein kann, da als Folge eines solchen Austauschs immer die Aufnahme von jedwedem heterologen Erbmaterial, also jedweder pflanzlichen DNA, möglich wäre.

Die in den gentechnisch veränderten Pflanzen enthaltenen Expressionskassetten enthalten regulatorische Elemente, welche für den pflanzlichen Stoffwechsel optimiert sind, und daher im Fall einer Übertragung in Bakterien nicht funktionsfähig wären.

Bacillus licheniformis ist ein weit verbreitetes Bodenbakterium. Es ist daher davon auszugehen, dass die Ausgangsformen der übertragenen Glyphosat-N-Acetyltransferase in der Natur vorkommen und ähnliche Wirkmechanismen aufweisen. Das *zm-hra* Gen ist ein modifiziertes endogenes Mais-Gen mit großer Ähnlichkeit zu Acetolaktatsynthasen aus Mais und anderen Pflanzen. ALS ist ein in der Natur weit verbreitetes und in vielen Varianten vorkommendes Stoffwechsellenzym.

Selbst der unwahrscheinliche Fall einer Übertragung des *gat4621* oder *zm-hra*-Genes auf Mikroorganismen führt daher zu keiner genetischen Konstellation, die anders zu bewerten wäre als die Aufnahme der entsprechenden natürlichen Gene oder -Genfragmente. Ein Selektionsvorteil durch Aufnahme in Folge eines horizontalen Gentransfers ist nicht zu erkennen.