



Antrag 6786-01-0192

**Zusammenfassung der Risikobewertung der
gentechnisch veränderten Zuckerrübe (*Beta vulgaris*) H7-1
durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde**

Berlin, den 31. März 2008

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 Gen für eine Glyphosat-tolerante 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat-Synthase (EPSPS)

Die Expression des in den gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen enthaltenen Gens für eine Glyphosat-tolerante EPSPS aus *Agrobacterium spec.* Stamm CP4 findet konstitutiv unter der Kontrolle des 35S-Promotors des figwort mosaic Virus und der E9-3'-Terminatorsequenz aus *Pisum sativum* statt. Die Nukleinsäuresequenz des *epsps*-Gens wurde für die Expression in Pflanzen optimiert.

Die endogene EPSPS wie auch die durch Transformation in die Zuckerrübenpflanzen eingebrachte EPSPS katalysieren die Reaktion vom Shikimat-3-Phosphat mit Phosphoenolpyruvat zum 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat, einer Zwischenstufe für die Biosynthese aromatischer Aminosäuren. Im Gegensatz zu der endogenen EPSPS wird die gentechnisch in die Zuckerrübenpflanzen eingebrachte EPSPS durch Glyphosat nicht gehemmt. Die Vorschaltung des Transitpeptids CTP2 der EPSPS aus *Arabidopsis thaliana* bewirkt den posttranslationalen Import des chimären Proteins in die Chloroplasten.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt sind durch die Wirkungsweise der mittels Transformation eingebrachten EPSPS im Rahmen der beantragten Freisetzung nicht zu erwarten. Die in den gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen neu gebildete EPSPS katalysiert dort die gleiche Reaktion wie entsprechende Enzyme, die natürlicherweise in Pflanzen vorkommen.

Das Herbizid Roundup®-Ready ist für eine Vielzahl von agronomischen Anwendungen nach dem Pflanzenschutzgesetz zugelassen, unter anderem auch für den Nachauflauf-Einsatz bei Glyphosat-toleranten Zuckerrüben. Im Rahmen dieser Zulassung wurde auch eine toxikologische und ökotoxikologische Bewertung des Mittels und seiner Metabolite vorgenommen.

Ebenso wären schädliche Einwirkungen des in den gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen enthaltenen Glyphosat-toleranten EPSPS-Proteins bei einem Verzehr von Pflanzenteilen nicht zu erwarten. Bei einer oralen Aufnahme wäre davon auszugehen, dass das Enzym ebenso wie Proteine im Allgemeinen im Verdauungstrakt abgebaut würde. Hierzu liegen aus Anträgen auf Inverkehrbringen zahlreiche Studien zur Verdaulichkeit von CP4-EPSPS sowie Fütterungsstudien an Nagern vor. Ferner existieren auch Fütterungsversuche von Glyphosat-toleranten Zuckerrüben mit Schweinen und Wiederkäuern. Da dem Transitpeptid der EPSPS aus *Arabidopsis thaliana* wie auch anderen derzeit bekanntesten Signalpeptiden, ob prozessiert oder unprozessiert, kein gesundheitsschädigendes Potential zuerkannt wird, ist davon auszugehen, dass dies auch für den Komplex aus Transitpeptid und Enzym zutrifft.

(b) In Pflanzen funktionale Regulationssequenzen

Die gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten, in das Genom integriert, in Pflanzen funktionale Regulationssequenzen, und zwar den 35S-Promotor aus dem Figwort-Mosaic-Virus und das 3'-Terminationssignal des Gens 9 aus *Pisum sativum*. Sie regeln als Promotor und Terminator die Expression der oben genannten, zwischen ihnen liegenden kodierenden Sequenzen. Weitergehende Funktionen sind nicht bekannt, weitergehende Auswirkungen in den gentechnisch veränderten Pflanzen nicht zu erwarten.

(c) Außerhalb der T-DNA gelegene DNA-Abschnitte der verwendeten Vektoren

Die zur Erzeugung der gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen mittels *Agrobacterium*-vermittelter Transformation verwendeten Vektoren enthalten außerhalb der T-DNA-Borderregionen das bakterielle Gen *aad* für eine Streptomycin/Spectinomycin-Resistenz (Enzym: Aminoglycosid-3-Adenyltransferase) sowie die Sequenzen "ori-322" zur Replikation in *E. coli* und einen weiteren ori-V zur Replikation des binären Vektors, im vorliegenden Fall in *Agrobacterium tumefaciens*. Aufgrund der im Antrag enthaltenen Angaben ist davon auszugehen, dass die genannten DNA-Abschnitte nicht in das Genom der Linien H7-1 übertragen wurde. Auswirkungen auf den pflanzlichen Stoffwechsel wären auch im Falle einer Übertragung nicht zu erwarten.

(f) Positionseffekte und Kontextänderungen; Allergenität

Die Expressionsstärke von Genen, die mittels gentechnischer Methoden in das Genom von Pflanzen integriert werden, ist abhängig vom Insertionsort im Chromosom bzw. von der Umgebung des Insertionsorts ("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 gentechnisch veränderten Pflanzen im Freiland nicht in gleichem Maß tolerant gegenüber Glyphosat sind wie unter Klimakammer- oder Gewächshausbedingungen. Dies könnte bei Anwendung von Roundup®-Ready zu einer Schädigung der gentechnisch veränderten Pflanzen führen. 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 Insertionsorts kommen. Beeinflussungen pflanzlicher Stoffwechselwege durch solche Vorgänge sind möglich. Während des Anbaus der gentechnisch veränderten Pflanzen im Rahmen mehrerer Freisetzungen wurden jedoch keine Beobachtungen gemacht, die auf ein solches Ereignis hindeuten.

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 grundsätzlich nicht von nicht gentechnisch veränderten Pflanzen.

Es ist beim gegenwärtigen Kenntnisstand nicht möglich, aus der Aminosäuresequenz eines Proteins Vorhersagen über seine mögliche allergene Wirkung zu machen. Im beantragten Freisetzungsversuch kommen die gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen nicht zur Blüte und somit auch nicht zur Pollenbildung. Aus den bisherigen Versuchen mit den gentechnisch veränderten Pflanzen sowie aus Freisetzungen anderer gentechnisch veränderter Pflanzen, die das entsprechenden Gen unter der Kontrolle nicht-gewebespezifischer Promotoren exprimieren, ergaben sich keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität der Pflanzen.

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

Aufgrund der vorgesehenen Maßnahmen ist eine Verbreitung der gentechnisch veränderten Zuckerrüben außerhalb der Versuchsfelder ebenso wenig zu erwarten wie ihre Überdauerung oder Etablierung.

Die freigesetzten Zuckerrübenpflanzen sollen gegen Ende der Vegetationsperiode im vegetativen Stadium von Hand oder mittels Parzellenrodern geerntet werden. Ein Anteil der geernteten Rüben soll zu Analysezwecken (Ermittlung der Inhaltsstoffe, Ertragsbestimmung) in Laboratorien gebracht werden. Sollte unter dem zur Laboranalyse bestimmten Pflanzenmaterial noch vermehrungsfähiges Material vorhanden sein, ist es unter Sicherheitsaspekten als ausreichend anzusehen, wenn die Vermehrungsfähigkeit im Zuge der Analyse beseitigt wird. Hierzu ist z. B. das Nachköpfen der Rübenkörper im Rübenlabor eine geeignete Maßnahme. Im Übrigen bringt der Analyseprozess die Inaktivierung notwendigerweise mit sich.

Nicht benötigtes Erntematerial (Rübenkörper) und sonstiges nicht verwertetes vegetatives Pflanzenmaterial der gentechnisch veränderten Rüben soll z.B. durch Häckseln zerstört werden. Das Material soll danach flach in den Boden eingearbeitet werden. Alternativ ist die Verbringung in Dämpf- oder Kompostieranlagen vorgesehen. Bei dieser Vorgehensweise ist nicht zu erwarten, dass sich aus dem auf dem Feld verbleibenden Material gentechnisch veränderte Pflanzen regenerieren.

Die gentechnisch veränderten Rüben sollen mit Drillmaschinen ausgesät werden. Die Drillmaschinen sollen nach der Aussaat auf dem Freisetzungsgelände von eventuell noch vorhandenem gentechnisch verändertem Saatgut gereinigt werden. Nach Auflaufen der Keimlinge sollen überzählige Pflanzen durch Hacken oder Jäten entfernt werden. Zu einer Samenbildung im Verlaufe der Versuche wird es nicht kommen, da die Pflanzen nicht zur Blüte gelangen werden. Zuckerrübensamen sind unter Umständen, insbesondere bei Einarbeiten in tiefere Bodenschichten, über viele Jahre keimfähig. Nach allgemeiner landwirtschaftlicher Anbauerfahrung kann jedoch davon ausgegangen werden, dass ausgebrachtes Saatgut, das nicht keimt, tot und daher auch in einem nachfolgenden Jahr nicht mehr keimfähig ist. Sollten dennoch einige keimfähige Samen im Boden überdauern, was zu einem Auftreten gentechnisch veränderter Zuckerrübenpflanzen nach Beendigung der Freisetzung führen könnte, so würden diese Pflanzen durch die laut Antrag vorgesehene bzw. in der Nebenbestimmung II.10. vorgeschriebene Nachkontrolle erfasst werden. Selbst im Falle der Verbreitung einzelner gentechnisch veränderter Zuckerrübensamen wäre keine unkontrollierbare Ausbreitung gentechnisch veränderter Pflanzen zu erwarten. Einen Selektionsvorteil besitzen diese Pflanzen gegenüber anderen Pflanzen nur dort, wo Glyphosat als Herbizidwirkstoff zur Anwendung kommt. Durch mechanische Maßnahmen (z.B. Hacken) bzw. durch andere Herbizidwirkstoffe als Glyphosat könnten die Pflanzen zerstört werden.

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

Zuckerrüben sind zweijährige Pflanzen, die in der Regel erst nach einer Kälteinduktion im zweiten Jahr blühen. Die Antragstellerin sieht vor, die Zuckerrübenpflanzen Ende des ersten Jahres im vegetativen Stadium zu ernten. Eventuell während der Freisetzung auf den Freisetzungspartellen auftretende Schosserrüben sind leicht erkennbar und müssen gemäß Nebenbestimmung II.9. vor der Blüte vernichtet werden. Ein Austrag von Pollen gentechnisch veränderter Zuckerrübenpflanzen ist deshalb im Rahmen der beantragten Freisetzung nicht zu erwarten.

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

Die eingeführten Sequenzen sind in die Empfängerorganismen chromosomal integriert. Aus den Ergebnissen von Untersuchungen zur Transformationsfähigkeit von Bodenbakterien unter natürlichen Bedingungen lässt sich folgern, dass eine Übertragung pflanzlichen geni-

schen 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 Samenpflanzen und Bakterien tatsächlich stattfindet, wäre zu folgern, dass das Vorkommen eines solchen Austauschs von heterologem Erbmateriale allein betrachtet kein Sicherheitskriterium sein kann, da als Folge eines solchen Austauschs immer die Aufnahme von jedwedem heterologem Erbmaterial, also jedweder pflanzlicher DNA, möglich wäre.

Die gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten das *epsps*-Gen aus *Agrobacterium spec.* CP4, wobei die kodierende Region dieses Gens an eine pflanzliche „leader-peptid“-Sequenz N-terminal fusioniert ist. Solche „leader-peptid“-Sequenzen wären in Bakterien funktionslos. *epsps*-Gene sind in Bodenmikroorganismen ubiquitär verbreitet. Untersuchungen zum Abbau von Glyphosat in Böden haben gezeigt, dass mikrobielle Stoffwechselaktivitäten, die einen Abbau von Glyphosat und damit dessen Inaktivierung bewirken, weit verbreitet sind. Selbst wenn der Herbizideinsatz zu einer Selektion einer Gruppe von Glyphosat-abbauenden Bakterien führen würde, wird der Ursprung und die Verbreitung dieser Stoffwechselaktivität in den Bakterien selbst begründet sein und nicht auf einen Gentransfer von gentechnisch veränderten Pflanzen auf Mikroorganismen zurückzuführen sein. Zu einer nennenswerten Erhöhung der Gesamtfrequenz Glyphosat-degradierender Stoffwechselaktivitäten bei Bakterien würde ein eventuell stattfindender horizontaler Gentransfer nicht beitragen.

Der binäre Vektor, der für die Erzeugung der gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen verwendet wurde, besitzt außerhalb der T-DNA das *aad*-Gen, welches Resistenz gegen Streptomycin und Spectinomycin verleiht, sowie die bakteriellen Replikationsursprünge *ori322* und *oriV*. Nach den vorgelegten Untersuchungsergebnissen kann ausgeschlossen werden, dass diese Sequenzen in den gentechnisch veränderten Pflanzen vorhanden sind.

III.1.2.5. Zur Erzeugung der gentechnisch veränderten Pflanzen eingesetzte Agrobakterien

Zur Erzeugung der gentechnisch veränderten Pflanzen dienten *Agrobacterium*-vermittelte binäre Transformationssysteme. Es wurde gezeigt, dass die zur Freisetzung vorgesehenen Linien keine Backbone-Sequenzen des zur Transformation verwendeten Vektors enthalten. Es ist daher davon auszugehen, dass die Pflanzen frei von den zur Transformation verwendeten Agrobakterien sind.

Die verwendeten *Agrobacterium*-Stämme sind, im Gegensatz zu den weit verbreiteten Wildformen von *A. tumefaciens*, "disarmed" ("entwaffnet"), d. h. sie sind nicht mehr zur Tumorinduktion befähigt. In dem unwahrscheinlichen, aber theoretisch denkbaren Fall der Übertragung der eingeführten Fremdgene durch solche Agrobakterien in eine Zelle einer anderen

Pflanze, müsste diese Zelle spontan zu einer ganzen, fertilen Pflanze regenerieren, damit die Fremdgene in Keimzellen gelangen würden. Nur auf diese Weise könnten diese Gene an die Nachkommen der Pflanze weitergegeben werden. Damit ist unter natürlichen Bedingungen nicht zu rechnen.

Unter der Annahme, dass ein Vorhandensein geringer Mengen rekombinanter Agrobakterien in den gentechnisch veränderten Pflanzen nicht auszuschließen sei, wäre ferner eine mögliche Übertragung der in den Agrobakterien enthaltenen binären Plasmide durch Konjugation auf in der Umwelt vorkommende Wildtyp-Agrobakterien (*A. tumefaciens* oder *A. rhizogenes*) in Betracht zu ziehen, die dann wiederum möglicherweise die Fremdgene auf einzelne Zellen anderer Pflanzen übertragen könnten. Im Fall einer Infektion und nachfolgenden Transformation durch Wildtyp-*A. tumefaciens* bzw. *A. rhizogenes* entsteht aus der transformierten Pflanzenzelle ein Tumor ("Wurzelhalsgalle" bzw. "hairy roots"). Die Bildung einer Pflanze aus einem solchen Tumor ist unter natürlichen Bedingungen nicht zu erwarten.

Nach erfolgter Transformation wurde zur Eliminierung der Agrobakterien eine Antibiotikabehandlung durchgeführt. Die freizusetzenden Pflanzen sind außerdem über Samen vermehrt worden und haben seit ihrer Erzeugung viele Generationszyklen durchlaufen. Durch diese generative Vermehrung sind ggf. nach der Antibiotikabehandlung noch verbliebene Agrobakterien aus den gentechnisch veränderten Zuckerrübenlinien entfernt worden. Eine Übertragung von Agrobakterien über Saatgut wurde bisher noch nicht beobachtet.