



Bescheid 6786-01-0107 / 42010.0107

**Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch veränderten Zuckerrüben
(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) T120-7 und T252
im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,
durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde
Berlin, den 13. Juli 1999**

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 Zuckerrüben

(a) Das synthetische *pat*-Gen

Das synthetische *pat*-Gen in den gentechnisch veränderten Zuckerrüben kodiert eine Phosphinothricin-Acetyltransferase (PAT).

L-Phosphinothricin ist ein Glutaminsäure-Analogon und inhibiert die pflanzliche Glutaminsynthetase. Die Hemmung der Glutaminsynthetase hat durch die Akkumulation von Ammonium

den Zelltod zur Folge. Aus diesem Grund findet Phosphinothricin als Wirkstoff in dem nicht-selektiven Herbizid Basta® (bzw. Liberty®) Verwendung. Basta® enthält die Enantiomere D- und L-Phosphinothricin im Verhältnis 1 : 1. D-Phosphinothricin wirkt nicht als Glutaminsynthetase-Hemmstoff.

Im Unterschied zu nicht gentechnisch veränderten Pflanzen, die mit Basta® behandelt werden, wird in den gentechnisch veränderten Pflanzen das L-Phosphinothricin durch die Phosphinothricin-Acetyltransferase acetyliert, wodurch N-Acetyl-L-Phosphinothricin entsteht, das keine herbizide Wirkung hat. Die gentechnisch veränderten Pflanzen sind dadurch tolerant gegenüber dem Herbizid Basta®. Die Substratspezifität der Phosphinothricin-Acetyltransferase ist hoch. Selbst das Phosphinothricin-Analogon Glutamat wird kaum umgesetzt. D-Phosphinothricin wird durch die Phosphinothricin-Acetyltransferase nicht metabolisiert.

Das nach der Behandlung mit Basta® in den gentechnisch veränderten Pflanzen gebildete N-Acetyl-L-Phosphinothricin wird aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit während des weiteren Pflanzenwachstums in den Pflanzen verteilt. Dabei findet durch die Zunahme der Biomasse eine Konzentrationsabnahme statt. Es gibt keine Hinweise, daß N-Acetyl-L-Phosphinothricin in den gentechnisch veränderten Pflanzen weiter metabolisiert wird.

Aus den auf dem Feld verbleibenden Teilen der gentechnisch veränderten Pflanzen gelangt das in diesen noch befindliche N-Acetyl-L-Phosphinothricin bei der Verrottung in den Boden und wird dort durch Mikroorganismen gegebenenfalls wieder in L-Phosphinothricin umgesetzt. D/L-Phosphinothricin wird im Boden, ebenfalls durch Mikroorganismen, abgebaut.

Nach den vorliegenden Daten weist N-Acetyl-L-Phosphinothricin eine deutlich geringere Toxizität als Phosphinothricin (= Wirkstoff des Herbizids Basta®) auf. Basta® ist von der Biologischen Bundesanstalt nach dem Pflanzenschutzgesetz zugelassen. Im Rahmen dieser Zulassung wurde auch eine toxikologische und ökotoxikologische Bewertung des Mittels und seiner Metabolite vorgenommen. Gefährdungen der Gesundheit von Menschen oder Tieren oder der Umwelt durch in den gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen enthaltene Rückstände oder Metabolite des Herbizids Basta® sind aufgrund der toxikologischen und ökotoxikologischen Daten von Phosphinothricin und N-Acetyl-L-Phosphinothricin nicht zu erwarten.

Die kodierende Region des *pat*-Gens wurde aus der Aminosäuresequenz des PAT-Enzyms des Bodenbakteriums *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 abgeleitet und chemisch synthetisiert. Das ursprüngliche Gen weist einen für diese Bakteriengruppe typischen hohen GC-Gehalt auf (70%). Um eine effektive Expression des Gens in Pflanzen zu gewährleisten, wurden bei der Gen-Synthese Codons gewählt, die für Pflanzengene typisch sind. Eine Gefährdung aufgrund dieser Veränderung der Nukleinsäuresequenz ist nicht zu erwarten, da die Aminosäuresequenz des Genprodukts, des PAT-Enzyms, dadurch nicht verändert wird.

Schädliche Einwirkungen der in den gentechnisch veränderten Pflanzen enthaltenen Phosphinothricin-Acetyltransferase wären bei einem Verzehr von Pflanzenteilen durch Tiere oder Menschen nicht zu erwarten. Bei einer oralen Aufnahme wäre davon auszugehen, daß das Enzym ebenso wie Proteine im allgemeinen im Verdauungstrakt abgebaut würde. Das PAT-Protein besitzt keine der für allergene Proteine aus Nahrungsmitteln typischen Eigenschaften

(Hitzestabilität, Stabilität im Verdauungstrakt) sowie keine Sequenzhomologie zu bekannten Allergenen.

(b) Das *nptII*-Gen

Das *nptII*-Gen kodiert das Enzym Neomycin-Phosphotransferase und wurde als Markergen zur Selektion transformierter Zuckerrübenzellen eingeführt.

Die Neomycin-Phosphotransferase ist eine Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase des Typs II (APH(3')II), die die ATP-abhängige Phosphorylierung der 3'-OH-Gruppe des Aminohexose-Rings bestimmter Aminoglycosid-Antibiotika katalysiert, wodurch diese inaktiviert werden. Das Enzym zeichnet sich durch hohe Substratspezifität aus. Zu den Substraten der APH(3')II-Enzyme zählen die Antibiotika Kanamycin, Neomycin, Geneticin, Butirosin, Gentamicin A und B sowie Paromomycin. Die in der Humanmedizin therapeutisch bedeutsamen Gentamicine und sonstigen Aminoglycoside und Aminocyclitole gehören nicht zum Substratspektrum der APH(3')II-Enzyme. In der Tiermedizin finden Kanamycin und Neomycin jedoch breite Anwendung.

Aufgrund dieser Substratspezifität der Neomycin-Phosphotransferase ist zu erwarten, daß unter Freilandbedingungen in den gentechnisch veränderten Pflanzen bei fehlendem Substrat keine neuen Stoffwechselprodukte entstehen. Da die betreffenden Antibiotika im Boden nicht in höheren Konzentrationen vorliegen, vermittelt die Neomycin-Phosphotransferase den gentechnisch veränderten Pflanzen im Freiland keinen Selektionsvorteil. Eine Toxizität des Enzyms für Pflanzen, Tiere, Mikroorganismen oder den Menschen liegt nicht vor.

(c) Das Plasmid π AN7 und die *cos*-site des Bakteriophagen λ

Auf π AN7 liegt der *ori* von pBR322 und das Sup F t-RNA-Gen aus *E. coli*. Das Sup F t-RNA-Gen kodiert für eine bakterielle Tyrosin-t-RNA und unterdrückt das Stop-Kodon UAG. Mit einer Funktionsfähigkeit des bakteriellen Sup F t-RNA-Gens in Pflanzen ist nicht zu rechnen. Das Gen ist mit bakteriellen Regulationssequenzen versehen. Darüber hinaus stellt die Erzeugung einer beladenen, funktionsfähigen t-RNA einen spezifischen Prozeß dar. Auch eine Funktionsfähigkeit des *ori* von pBR322 und der *cos*-site des Bakteriophagen λ ist in Pflanzen nicht zu erwarten.

(d) Bordersequenzen aus Ti-Plasmiden

Die gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen enthalten Sequenzen der linken und rechten Borderregionen der T-DNA der Plasmide pTiT37 und pTiAch5. Beide Plasmide stammen aus *Agrobacterium tumefaciens*. Diese Sequenzen bewirkten, abhängig von den Genprodukten der *vir*-Region der in den zur Transformation verwendeten *Agrobacterium* C58C1-Stämmen vorhandenen Helferplasmide pMP90RK und pEHA101, die nicht in die Pflanzen übertragen wurden, die Übertragung der zwischen den Borderregionen liegenden Gene in das Kerngenom der Zuckerrübenpflanzen. Die in die Pflanzen übertragenen Border-

regionen der Ti-Plasmide sind in den gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen ohne Funktion und lassen keine Veränderungen in den Pflanzen erwarten.

(e) In Pflanzen wirksame Regulationssequenzen

Die gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen enthalten ins Genom integriert den 35S-Promotor und -Terminator des CaMV sowie den Promotor des Nopalinsynthase-Gens und den Terminator des Octopinsynthase-Gens aus *Agrobacterium tumefaciens*. Die 35S-Promotor- und Terminatorsequenzen bzw. die Promotorsequenzen des Nopalinsynthase-Gens und die Terminatorsequenzen des Octopinsynthase-Gens regeln die Expression der zwischen ihnen liegenden kodierenden Sequenz der Phosphinothricin-Acetyltransferase bzw. der Neomycin-Phosphotransferase in den gentechnisch veränderten Pflanzen. Ausführungen zu den Auswirkungen der Bildung dieser Enzyme in den Pflanzen finden sich unter III.1.2.1 (a)-(b).

(f) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

In der Regel werden bei Transformationen mit Hilfe von Agrobakterien nur die innerhalb der Borderregionen liegenden Sequenzen ins Pflanzengenom integriert. Durch molekularbiologische Untersuchungen, Southern-Blot-Analyse und PCR, konnte die Antragstellerin nachweisen, daß bei der Transformation der beiden transgenen Zuckerrübenlinien T120-7 und T252 jeweils eine Kopie der T-DNA in die Empfängerpflanzen übertragen wurde. PCR-Analysen mit DNA der gentechnisch veränderten Zuckerrüben ergaben, daß unter Verwendung von Primern, die außerhalb der T-DNA hybridisieren, keine PCR-Produkte synthetisiert werden, was darauf hindeutet, daß nur die T-DNA unter Respektierung der T-DNA-Bordersequenzen übertragen wurde. Darüber hinaus konnten die außerhalb der T-DNA auf den Transformationsvektoren pOCA18/Ac und pHoe6/Ac gelegenen Tetracyclin- bzw. Streptomycin-Resistenzgene mit Hilfe der PCR nicht in der DNA der gentechnisch veränderten Zuckerrüben nachgewiesen werden.

Durch diese von der Antragstellerin vorgelegten Untersuchungsergebnisse ist hinreichend belegt, daß außerhalb der T-DNA gelegene Transformationsvektorsequenzen nicht in die Zuckerrüben übertragen worden sind.

(g) 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 Glufosinat-Ammonium sind, wie unter Klimakammer- oder Gewächshausbedingungen. Dies könnte bei Anwendung von Basta® (bzw. Liberty®) zu einer Schädigung der gentechnisch veränderten Pflanzen führen. Risiken für die Umwelt oder die Gesundheit von Menschen oder Tieren sind daraus nicht abzuleiten. Auch im Hinblick auf die übrigen übertragenen Eigenschaften kann aus einer veränderten Expressionsstärke kein Risiko für die Umwelt oder die Gesundheit von Menschen oder Tieren abgeleitet werden.

Durch die Insertion der Fremdgene kann es zu Beeinflussungen der Expression oder Regulation pflanzeneigener Gene am bzw. in der Nähe des Insertionsorts kommen. Beeinflussungen pflanzlicher Stoffwechselwege durch solche Vorgänge sind möglich. Während der Verwendung der gentechnisch veränderten Pflanzen im Rahmen von Gewächshausversuchen wurden jedoch nach Angaben der Antragstellerin 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 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 eine mögliche allergene Wirkung des Proteins zu machen. Jedoch liegen aus den bisherigen Versuchen mit den gentechnisch veränderten Pflanzen im Gewächshaus und im Freiland sowie aus Freisetzungen anderer gentechnisch veränderter Pflanzen, die die entsprechenden Gene unter der Kontrolle nicht-gewebespezifischer Promotoren exprimieren, keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität der Pflanzen vor.

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

Bei Bedarf sollen während der Versuchsdauer Pflanzenproben vegetativ angebaute Zuckerrüben entnommen und in einem Labor analysiert werden (z. B. zur Ermittlung von Qualitätsparametern). Die übrigen vegetativ angebauten Zuckerrübenpflanzen sollen gegen Ende der Vegetationsperiode maschinell geerntet werden. Dabei werden die Zuckerrüben geköpft und dadurch vermehrungsunfähig gemacht. Ein Anteil der geernteten Rüben soll zu Analysezwecken 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 eine Breiherstellung für den Analyseprozeß die Inaktivierung notwendigerweise mit sich.

Gemäß Nebenbestimmung II.8. ist das nach der Ernte auf den Versuchsflächen verbleibende, gentechnisch veränderte Pflanzenmaterial zu zerkleinern oder chemisch zu inaktivieren und anschließend flach in den Boden einzuarbeiten. Die Flächen, auf denen gentechnisch veränderte Zuckerrüben nur vegetativ angebaut werden, werden im Folgejahr nicht mit Zuckerrüben bestellt und auf das Auftreten von Durchwuchsrüben kontrolliert.

Die gentechnisch veränderten Rüben sollen mit Drillmaschinen oder mit der Hand ausgesät werden. Vernalisierte Rüben sollen ausgepflanzt werden. Zu einer Samenbildung an den vegetativ angebauten Pflanzen wird es nicht kommen, da die Pflanzen nicht zur Blüte gelangen

werden. Zuckerrübensamen sind unter Umständen, insbesondere wenn sie in tiefere Bodenschichten gelangen, 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.

Am Standort „Wetze“ und gegebenenfalls weiteren im Rahmen des vereinfachten Verfahrens nachzumeldenden Standorten werden zusätzlich zu den ausgebrachten Samen im Laufe des Versuchs Samen an den vernalisierten Pflanzen in den Selbstungs-, Kreuzungs- und Vermehrungspartellen entstehen. Das gentechnisch veränderte Versuchssaatgut wird maschinell oder von Hand geerntet und anschließend in eine gentechnische Anlage gebracht. Die Reste der generativen Pflanzenteile sollen nach der Ernte durch Autoklavieren oder Dämpfen inaktiviert werden.

Bei den an den generativen Pflanzen gebildeten Samen ist davon auszugehen, daß solche Samen in den Boden gelangen können. Die in der Nebenbestimmung II.9. enthaltene Auflage, die eine nichtwendende Bodenbearbeitung für das erste Jahr der Nachkontrolle zur Auflage macht, soll gewährleisten, daß in den Boden gelangte Samen nicht durch anschließende Bodenbearbeitungen in eine Tiefe gelangen, in der sie längere Zeit überdauern könnten. Dennoch im Boden überdauernde Samen würden zu einem Auflaufen gentechnisch veränderter Pflanzen in den Folgejahren führen. Diese Pflanzen würden durch die durchzuführende Nachkontrolle erfaßt und vor der Blüte entfernt werden. Die Nachkontrolle auf den Parzellen für die Saatgutproduktion verlängert sich bei Auflaufen von gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen im letzten Jahr des Kontrollzeitraums um jeweils ein weiteres Jahr.

Aus den genannten Erwägungen sind die laut Antrag vorgesehenen Maßnahmen in Verbindung mit den Nebenbestimmungen dieses Bescheids ausreichend, um eine Etablierung der freigesetzten gentechnisch veränderten Pflanzen selbst zu verhindern und eventuell auftretende gentechnisch veränderte Durchwuchspflanzen zu erfassen und zu beseitigen. Selbst im Falle der Verbreitung einzelner gentechnisch veränderter Samen als Folge des Versuchs wäre keine unkontrollierbare Ausbreitung gentechnisch veränderter Pflanzen zu befürchten, da diese durch mechanische Maßnahmen (Hacken) bzw. durch andere Herbizide zerstört werden könnten.

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

Zuckerrüben sind mit allen Arten der Sektion Beta kreuzbar. Als mögliche Kreuzungspartner kommen in Deutschland die kultivierten *Beta*-Arten (u. a. Mangold, Runkelrübe, Rote Bete) sowie Wildrüben (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) vor. Wildrüben wachsen in Deutschland nur auf Helgoland und an der Ostseeküste. Weiterhin treten in Rübenanbaugebieten einjährige „Unkrautrüben“ auf, die nach neuen molekulargenetischen Untersuchungen auf Kreuzungen zwischen Zuckerrüben und Wildrüben zurückgehen, die in den Saatgutproduktionsgebieten (z. B. Südfrankreich, Italien) als Folge von Polleneinstäubungen stattfinden können.

Zuckerrüben gehören zu den Fremdbefruchtern, Selbstbefruchtung kommt jedoch auch vor. Die Bestäubung wird hauptsächlich durch den Wind vollzogen, eine Bestäubung durch In-

sekten hat nur eine geringe Bedeutung. Eine Pollenverbreitung durch den Wind kann über mehrere Kilometer erfolgen. Bei Versuchen zur Ausbreitung von Zuckerrübenpollen in Dänemark und Belgien zeigte sich jedoch, daß die Frequenz einer Pollenübertragung bereits innerhalb der ersten 100 m um die Pollenquelle deutlich abnahm (beispielsweise in einem Versuch von 32% auf 3%), und daß die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Befruchtung bei ausreichend vorhandenem, eigenem befruchtungsfähigen Pollen der jeweiligen Empfängerpflanzen erheblich reduziert war.

An den Standorten Klein Wanzleben und Prosselsheim sowie an weiteren Standorten, die im Rahmen des vereinfachten Verfahrens nachgemeldet werden können und an denen nur vegetative Rüben angebaut werden sollen, gelangen die gentechnisch veränderten Pflanzen nicht zur Blüte.

Am Standort Wetze und gegebenenfalls an weiteren Standorten, die im Rahmen des vereinfachten Verfahrens nachgemeldet werden können, sollen die in den Selbstungs-, Kreuzungs- und Vermehrungspartellen angebauten gentechnisch veränderten Pflanzen blühen und Samen ansetzen. Gleichzeitig sollen nicht-transgene Vergleichspflanzen geselbstet und gekreuzt werden. Insgesamt sollen an diesen Standorten pro Jahr und Standort maximal 10.000 gentechnisch veränderte Rübenpflanzen zur Blüte gelangen.

Nach der Verordnung über den Verkehr mit Saatgut landwirtschaftlicher Arten und von Gemüsearten (Saatgutverordnung) ist zur Erzeugung von Basissaatgut für von Futterrüben oder Zuckerrüben eine Mindestentfernung von 1000 m zu Bestäubungsquellen der Gattung *Beta* einzuhalten. Dieser Isolationsabstand von 1000 m zu Saatgutproduktionsfeldern für Basissaatgut oder zertifiziertes Saatgut von Futterrüben oder Zuckerrüben ist in der Antragstellung für alle Versuche mit generativen, gentechnisch veränderten Zuckerrüben vorgesehen.

Die Nebenbestimmung II.7. legt fest, daß während der Blüte gentechnisch veränderter Zuckerrüben Schosser alle mit der Zuckerrübe kreuzbaren *Beta vulgaris*-Formen in einem Umkreis von 1000 m um die Freisetzungsfelder zu entfernen sind. Durch eine 5 m breite Hanfummantelung bzw. gegebenenfalls zusätzlich oder alternativ durch das Aufstellen von Bastmatten oder Trennwänden läßt sich diese Maßnahme auf einen Umkreis von 500 m beschränken. Diese Maßnahmen dienen dem Zweck, eine Übertragung von Pollen der gentechnisch veränderten Pflanzen auf andere Pflanzen zu verringern.

Durch die vorgesehenen bzw. zusätzlich zur Auflage gemachten Isolations- und Abschirmmaßnahmen wird eine Pollenverbreitung und damit eine mögliche Pollenübertragung von den gentechnisch veränderten Pflanzen auf Pflanzen außerhalb der Versuche wirksam minimiert. Ausgeschlossen werden kann solch eine Übertragung jedoch nicht.

Sollte ein Pollentransfer von den gentechnisch veränderten Zuckerrüben auf Unkrautrüben oder Wildrüben stattfinden, würden die entsprechenden Kreuzungsnachkommen voraussichtlich eine Resistenz gegen Glufosinat-Ammonium und ggf. gegen bestimmte Aminoglycosid-Antibiotika aufweisen. Es ist nicht davon auszugehen, daß Unkrautrüben oder Wildrüben aufgrund einer Resistenz gegenüber Glufosinat-Ammonium oder gegenüber den in Frage kommenden Antibiotika veränderte pflanzensoziologische Eigenschaften entwickeln und andere Biotope besiedeln könnten. Da Glufosinat-Ammonium-haltige Herbizide in den natürlichen Habitaten von Wildrüben nicht zur Anwendung kommen, würde diese Eigenschaft den

Wildrüben keinen grundsätzlich neuen Selektionsvorteil verschaffen. Eine Resistenz gegen Aminoglycosid-Antibiotika stellt unter Freilandbedingungen ebenfalls keinen Selektionsvorteil dar.

Bezüglich einer möglichen Einkreuzung in Zuckerrüben oder andere kultivierte Formen von *Beta vulgaris* ist zu berücksichtigen, daß dies nicht zu einer zahlenmäßig bedeutsamen Verbreitung der Fremdgene führen würde, da solche Pflanzen im allgemeinen nur vegetativ angebaut werden. Die Erzeugung von Zuckerrübensaatgut für kommerzielle Zwecke findet in maritimen Klimagebieten (Südfrankreich, Poebene, Südengland) statt. Ein Anbau anderer Formen von *Beta vulgaris* zum Zweck einer privaten Saatgutvermehrung ist unüblich, jedoch nicht auszuschließen. Selbst im Falle einer Einkreuzung der Fremdgene z. B. in Mangold oder Rote Beete und einem Verzehr solcher Pflanzen wäre aus den unter III.1.2.1. dargelegten Gründen nicht mit einer gesundheitlichen Gefährdung zu rechnen.

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

Die eingeführten Sequenzen sind in Chromosomen der Empfängerorganismen integriert. Untersuchungen zur Transformationsfähigkeit von Bodenbakterien unter natürlichen Bedingungen lassen folgern, daß 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 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 Erbmateriale, also jedweder pflanzlicher DNA, möglich wäre.

Die Inaktivierung von Phosphinothricin durch Acetylierung ist ein bei Bodenmikroorganismen natürlicherweise vorkommender Prozeß. Bakterien mit einer entsprechenden Resistenz sind in der Umwelt verbreitet. Diese Resistenz kann sich also auch durch horizontalen Gentransfer von nicht gentechnisch veränderten Mikroorganismen ausbreiten. Selbst im Falle eines Transfers des *pat*-Gens von den gentechnisch veränderten Pflanzen in Mikroorganismen würde die Gesamtfrequenz dieser Resistenz in der Umwelt nicht erkennbar erhöht.

Die durch die Neomycin-Phosphotransferase inaktivierten Antibiotika sind, wie unter Punkt III.1.2.1.(b) bereits dargestellt, in der Humanmedizin nur von geringerer Bedeutung, werden in der Tiermedizin jedoch vielfältig angewendet. Es war somit zu prüfen, ob durch einen möglichen horizontalen Gentransfer des *nptII*-Gens der therapeutische Einsatz der betreffenden Antibiotika beeinträchtigt würde.

Der Resistenzmechanismus der Inaktivierung von Aminoglycosid-Antibiotika durch Phosphorylierung kommt natürlicherweise bei Bodenmikroorganismen vor. APH(3')II-Enzyme wurden zudem in klinischen Isolaten von Menschen gefunden. Die weite Verbreitung von Genen, die eine Resistenz gegen Aminoglycosid-Antibiotika vermitteln, ist durch die häufige Anwendung

dieser Antibiotika sowie dadurch zu erklären, daß diese Gene oft auf Plasmiden lokalisiert sind, wodurch eine effektive Übertragung durch Konjugation möglich ist. Selbst im Falle eines horizontalen Gentransfers von den gentechnisch veränderten Zuckerrüben auf Mikroorganismen würde somit die Gesamtfrequenz dieses Resistenzmechanismus nicht erkennbar erhöht.

Die *cos*-Region stammt aus dem Bakteriophagen λ . Bei λ handelt es sich um einen *E. coli*-infizierenden Phagen. Eine Anwesenheit der *cos*-Region in Bakterien ist somit ohnehin gegeben. Das gleiche gilt für die Nukleinsäure-Abschnitte auf π AN7 sowie für die außerhalb der T-DNA-Border gelegenen DNA-Abschnitte, die alle bakteriellen Ursprungs sind.

Auch bei einer Übertragung der in dem Konstrukt verwendeten Regulationssequenzen ist eine Erhöhung der Gesamtfrequenz der entsprechenden DNA-Abschnitte nicht zu befürchten. Diese Regulationssequenzen stammen aus *A. tumefaciens* und CaMV. *A. tumefaciens* ist in Böden weit verbreitet, und die genannten DNA-Abschnitte befinden sich in Wildtyp-Agrobakterien auf Ti-Plasmiden, die durch Konjugation zwischen verschiedenen Rhizobiaceen ausgetauscht werden können. CaMV ist ein pflanzeninfizierendes doppelsträngiges DNA-Virus, das in Pflanzen ohnehin anzutreffen ist.

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

Zur Erzeugung der Originaltransformanten, von denen die freizusetzenden gentechnisch veränderten Zuckerrübenpflanzen abstammen, wurden Keimblätter mit Agrobakterien inokuliert, die die zu übertragenden Gene zwischen den Borderregionen der entsprechenden binären Transformationsvektor-Plasmide enthielten. 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. Nach erfolgter Transformation wurde zur Eliminierung der Agrobakterien eine Antibiotikabehandlung durchgeführt. Die freizusetzenden Pflanzen sind außerdem über Samen vermehrt worden. Durch diese generative Vermehrung sind ggf. nach der Antibiotikabehandlung noch verbliebene Agrobakterien aus den gentechnisch veränderten Zuckerrübenlinien entfernt worden.