



Antrag 6786-01-0198

Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch verändertem Mais

(*Zea mays*) GA21

im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,

durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde

Berlin, den 15. Mai 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 *mepsps*-Gen

Das modifizierte *epsps*-Gen aus Mais kodiert für eine 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat-Synthase (EPSPS). Das endogene EPSPS-Protein, wie auch das infolge der gentechnischen Veränderung in den Maispflanzen exprimierte mEPSPS-Protein, katalysiert im Chloroplasten die Reaktion des Shikimat-3-Phosphat mit Phosphoenolpyruvat zum 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat, einer Zwischenstufe für die Biosynthese aromatischer Aminosäuren und anderer aromatischer Substanzen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels. Das im gentechnisch veränderten Mais zusätzlich exprimierte mEPSPS-Protein katalysiert die gleiche Reaktion wie entsprechende Enzyme, die natürlicherweise in Mais und anderen Kulturpflanzen vorkommen. Im Gegensatz zum endogenen EPSPS-Protein wird das modifizierte EPSPS-Protein durch Glyphosat nicht gehemmt, weshalb der gentechnisch veränderte Mais Applikationen des herbiziden Wirkstoffs Glyphosat toleriert.

Die Expression des in den gentechnisch veränderten Maispflanzen enthaltenen Gens für eine Glyphosat-tolerante EPSPS aus Mais findet konstitutiv unter der Kontrolle des Reis-Aktin-Promotors und der *nos*-Terminatorsequenz aus *Agrobacterium tumefaciens* statt. Die Anwesenheit des ersten nicht-kodierenden Exons und Introns des Aktin-Gens aus Reis in der Transkriptionseinheit zielt auf eine Steigerung der Genexpression, die vermutlich auf den Vorgang der RNA-Prozessierung zurückzuführen ist. Die Vorschaltung des optimierten Transitpeptids bewirkt den post-translationalen Import des mEPSPS-Proteins in die Chloroplasten. Das Transitpeptid wird in der Regel beim Import abgespalten (Prozessierung).

Das im gentechnisch veränderten Mais zusätzlich exprimierte CP4 EPSPS-Protein katalysiert die gleiche Reaktion wie entsprechende Enzyme, die natürlicherweise in Mais und anderen Kulturpflanzen vorkommen. Da den Chloroplasten-Transitpeptid-Sequenzen der Ribulose-1,5-Bisphosphat-Carboxylase aus Mais und Sonnenblume wie auch anderen derzeit bekannten Signalpeptiden, ob prozessiert oder unprozessiert, kein gesundheitsschädliches Potential zuerkannt wird, ist davon auszugehen, dass dies auch für das Polypeptid aus optimiertem Transitpeptid und Enzym (hier mEPSPS) zutrifft. Es gibt keine Anhaltspunkte, die eine schädliche Wirkung des neu gebildeten EPSPS-Proteins erwarten lassen.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt sind durch die Wirkungsweise der infolge der gentechnischen Veränderung in Mais GA21 exprimierten EPSPS-Proteine nicht zu erwarten. Seit 28. März 2008 ist GA21-Mais in der EU als Lebensmittel und Futtermittel zugelassen.

Das Erntematerial aus dem Freisetzungsvorhaben ist nicht für die Verwendung als Lebensmittel oder zur Verfütterung vorgesehen.

(b) Außerhalb der Zielsequenzen gelegene DNA-Abschnitte

Die Transformation von Mais GA21 erfolgte durch Partikelbeschuss mit einem gereinigten NotI Fragment aus dem Plasmid pDPG434. Eine Übertragung von weiteren Plasmidfragmenten ist daher nicht zu erwarten. Die Abwesenheit von Elementen des Plasmidrückgrates wurde durch Southernblot Analysen bestätigt.

Auf eine weitere Bewertung der Elemente kann deshalb verzichtet werden.

(c) 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 Expres-

sionsstärke zudem durch Umwelteinflüsse, z. B. durch die Temperatur, beeinflusst werden. Im vorliegenden Fall könnte dies dazu führen, dass die Eigenschaften der gentechnisch veränderten Maispflanzen 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 Insertionsorts 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 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 sichere Vorhersagen über eine mögliche allergene Wirkung des Proteins abzuleiten. Aus zahlreichen Freisetzungen von Pflanzen, die das *epsps*-Gen unter der Kontrolle nicht gewebsspezifischer Promotoren exprimieren, liegen jedoch keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität der Pflanzen vor.

Es ist in dem zur Genehmigung beantragten Freisetzungsvorhaben nicht vorgesehen, den gentechnisch veränderten Mais als Lebensmittel oder Futtermittel zu verwenden. Pollen von Mais spielt als Auslöser von Pollenallergien generell keine nennenswerte Rolle.

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 Erbmaterialelei verleiht eine Toleranz gegenüber dem herbiziden Wirkstoff Glyphosat. 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.10. zur Auflage gemachte Anbaupause und Nachkontrolle erfasst und beseitigt werden. Damit wird eine zeitliche und räumliche Begrenzung des Freisetzungsvorhabens unterstützt.

Nach Beendigung der Freisetzungsversuche ist vorgesehen, nicht benötigtes Erntematerial der Freisetzungsfläche sowie den gesamten Aufwuchs der Mantelsaat und Maispflanzen, welche ggf. innerhalb einer Isolationszone, die gemäß Nebenbestimmung II.8. einen Abstand von 200 m zu allen weiteren Maisbeständen beinhaltet, angebaut wurden, zu entsorgen. Dies kann durch Häckseln des Erntematerials mit Zerkleinerung der Körner und flaches Ein-

arbeiten in den Boden erfolgen. Alternativ kann das gehäckselte Material zur weiteren Inaktivierung auch in Biogasanlagen verbracht werden. 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. Gleiches ist bei einem Durchgang des Häckselgutes durch den Fermentationsprozess in einer Biogasanlage zu erwarten.

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. Dabei ist die maximale Verbringungsstrecke keineswegs identisch mit der maximalen Auskreuzungsstrecke. Das liegt an der Empfindlichkeit des Pollens gegenüber Witterungseinflüssen wie Hitze, Feuchte und UV-Strahlung, die schnell zum Absterben der Geschlechtszellen im Pollenkorn führen. Daher liegen festgestellte Verbringungsstrecken in der Regel weit über den festgestellten Auskreuzungsstrecken. Weiterhin ist für die Auskreuzung die Fläche der Pollendonator- und Empfängerpopulation wichtig. Je kleiner z. B. die Pollendonatorfläche, desto geringer die Auskreuzungsstrecken. Ferner spielt der Blühzeitraum der Empfängerpopulation eine Rolle. Je länger die weiblichen Blüten empfängnisbereit sind, desto höher ist bei zeitgleicher Blüte die Auskreuzung. Aus diesem Grunde sind Auskreuzungsdaten aus der älteren Literatur oft nicht verwertbar, da die modernen Hochleistungssorten schmalere Zeitfenster für eine Fremdbefruchtung haben als ältere Maissorten. Die zu erwartenden Auskreuzungen in mehr als 200 m Abstand sind äußerst gering. 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 Nebenbestimmung II.8. sieht vor, um die Freisetzungsfeldfläche einen Isolationsabstand von 200 m zu allen weiteren Maisbeständen einzuhalten. Ferner beabsichtigt die Antragstellerin, um die Freisetzungsfeldfläche eine Mantelsaat aus nicht gentechnisch verändertem Mais einer vergleichbaren Reifegruppe von 4 Reihen anzulegen. Durch diese Maßnahme und den ebenfalls in der Nebenbestimmung II. 8. festgelegten Isolationsabstand von 200 m wird der Möglichkeit einer Pollenübertragung in andere Maisbestände ausreichend begegnet.

Aus den unter III.1.2.1. ausgeführten Gründen folgt, dass von Maissamen bzw. daraus aufwachsenden Pflanzen, die durch Bestäubung mit Pollen der gentechnisch veränderten Pflanzen entstehen könnten, selbst bei einem eventuellen Verzehr keine gesundheitlichen Gefährdungen zu erwarten wären. GA21 Mais ist in der EU als gentechnisch verändertes Lebensmittel und Futtermittel zugelassen.

Wie unter III.1.2.2. dargelegt, wären Maissamen bzw. daraus aufwachsende Pflanzen, die durch Bestäubung mit Pollen der gentechnisch veränderten Pflanzen entstehen könnten, nicht winterhart und daher nicht in der Lage, sich zu etablieren.

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

Die eingeführten Sequenzen sind stabil in den Chromosomen 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 heterologem Erbmaterial, also jedweder pflanzlicher DNA, möglich wäre.

(a) Das *mepsps*-Gen

Die Inaktivierung von Glyphosat bzw. die Expression Glyphosat-toleranter EPSP-Synthasen ist bei Bodenmikroorganismen ein natürlich vorkommender Prozess. Bakterien mit einer entsprechenden Resistenz sind in der Umwelt verbreitet. Selbst im Falle eines Transfers dieses Gens von den gentechnisch veränderten Pflanzen in Mikroorganismen würde die Gesamtfrequenz des damit verbundenen Phänotyps einer Glyphosat-toleranten Variante der EPSPS in der Umwelt nicht erkennbar erhöht.

Bei der Konstruktion der eingebrachten Expressionskassetten wurden Kopien des *epsps*-Gens mit der DNA-Sequenz für ein Chloroplasten-Transitpeptid aus Mais und Sonnenblume fusioniert. DNA-Sequenzen, die für Chloroplasten-Transitpeptide kodieren, sind für eine Reihe verschiedener Pflanzenarten beschrieben worden und somit in der Umwelt weit verbreitet. Zudem wären solche Transitpeptid-Sequenzen in Bakterien funktionslos.

(b) Regulationssequenzen

Auch bei einer Übertragung der in den Konstrukten verwendeten Regulationssequenzen ist eine bedeutsame Erhöhung der Gesamtfrequenz der entsprechenden DNA-Sequenzen nicht zu befürchten. Diese Regulationssequenzen stammen aus *Agrobacterium tumefaciens*, *Oryza sativa*, und sind in Pflanzen oder in Bodenorganismen häufig anzutreffen.

Ökologische Konsequenzen eines solchen Gentransfers sind daher nicht wahrscheinlich.

(c) Weitere, außerhalb der Zielsequenzen gelegene DNA-Abschnitte

Die Transformation von Mais GA21 erfolgte durch Partikelbeschuss mit einem gereinigten NotI Fragment aus dem Plasmid pDPG434. Eine Übertragung von weiteren Plasmidfragmenten ist daher nicht zu erwarten. Die Abwesenheit von Elementen des Plasmidrückgrates wurde durch Southernblot Analysen bestätigt.

Auf eine weitere Bewertung der Elemente kann deshalb verzichtet werden.