



Antrag 6786-01-0162

**Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch veränderten Kartoffeln
(Solanum tuberosum; Seresta, Kuras)**

**im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,
durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde**

Berlin, den 15. April 2005

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 Fragment der kodierenden Region eines Kartoffel-Stärkesynthasegens („granule bound starch synthase“, GBSS) in Antisense-Orientierung

Das Fragment der kodierenden Region eines Kartoffel-Stärkesynthasegens („granule bound starch synthase“, GBSS) in Antisense-Orientierung wird unter der Kontrolle des kartoffeleigenen GBSS-Promotors vorwiegend in den Kartoffelknollen exprimiert. In den gentechnisch veränderten Pflanzen wird dadurch die Bildung einer antisense-RNA bewirkt, die das endogene Transkript des Gens inaktiviert und so die Bildung des entsprechenden Enzyms verhindert.

Die Abnahme des GBSS-Proteins in den zur Freisetzung beantragten Linien wurde durch Polyacrylamid-Gelelektrophorese nachgewiesen. Als Folge davon wird in den Knollen eine Stärke mit einem geringeren Amylosegehalt synthetisiert. Die Reduktion des Amylosegehaltes wurde durch Jodfärbung der Stärkekörner und spektrophotometrisch bestimmt.

Die gentechnisch veränderten Kartoffeln sollen in dem beantragten Freisetzungsvorhaben nicht zur Herstellung von Lebensmitteln oder Futtermitteln verwendet werden. Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt sind im Rahmen der beabsichtigten Versuchsdurchführung durch die Veränderung der Zusammensetzung der Stärke der gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen nicht zu erwarten.

- (b) Das *ahas*-Gen

Zur Selektion von Transformanten wurde ein mutiertes *ahas*-Gen aus *Arabidopsis thaliana* unter der Kontrolle des *nos*-Promotors und der *ocs*-Polyadenylierungssequenz aus *Agrobacterium tumefaciens* verwendet. Das *ahas*-Gen kodiert für das Enzym Acetohydroxyacid-Synthase (AHAS), auch als Acetolactat-Synthase (ALS) bezeichnet, das in Pflanzen die ersten Schritte im Biosyntheseweg der Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin katalysiert, nämlich die Reaktion von zwei Pyruvat-Molekülen zu 2-Acetolactat bzw. die Reaktion von Pyruvat mit 2-Ketobutyrat zu 2-Acetohydroxybutyrat.

AHAS ist das Zielenzym für verschiedene Klassen von Herbizidwirkstoffen, darunter Sulfonylharnstoffe und Imidazolinone. Die Wirkung der Herbizide beruht auf einer Störung der Biosynthese der verzweigten Aminosäuren, was zum Absterben der Pflanzen führt.

Aus einer *Arabidopsis thaliana*-Mutante wurde ein Gen für eine AHAS-Variante isoliert, die aufgrund einer geringeren Affinität zu den Herbizidwirkstoffen den Pflanzen eine Herbizidtoleranz verleiht. Die Variante unterscheidet sich von der Wildtyp-AHAS durch einen Aminosäureaustausch (S653N, d. h. Asparagin statt Serin in Position 653).

Die herbizidtolerante AHAS-Variante katalysiert in den gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen die gleichen Reaktionen wie die entsprechenden kartoffeleigenen Enzyme. Mit dem Entstehen neuer Stoffwechselprodukte in den transgenen Kartoffeln aufgrund der Expression des *ahas*-Gens aus *Arabidopsis thaliana* ist nicht zu rechnen, Risiken für die Umwelt oder die menschliche Gesundheit als Folge der Übertragung dieses Gens sind im Rahmen der beantragten Versuchsdurchführung nicht zu erwarten.

(c) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

In der Regel wird bei Transformationen mit Hilfe von Agrobakterien nur die innerhalb der Borderregionen liegende DNA ins Pflanzengenom integriert. Über eine Übertragung von DNA-Abschnitten jenseits der Borderregionen wurde jedoch berichtet.

Die gentechnisch veränderten Kartoffellinien wurden durch Transformation mit dem Plasmid pAP2 erhalten. Das Plasmid pAP2 enthält außerhalb der Borderregionen

- das *aadA*-Gen für Resistenz gegen die Antibiotika Streptomycin und Spectinomycin,
- die *bom*-Site aus pBR322 zur Mobilisierung des Plasmids aus *E. coli* in *Agrobacterium tumefaciens*,
- die Replikationsursprünge ColE1 und pVS1 zur Replikation in *E. coli* bzw. *Agrobacterium*.

Durch Real-time-PCR wurde gezeigt, dass es in den zur Freisetzung beantragten Linien weder zu einer Integration von Plasmidsequenzen über die rechte T-DNA-Border noch über die linke Border hinaus gekommen ist. Es ist daher davon auszugehen, dass die oben aufgeführten Sequenzen, insbesondere das *aadA*-Gen, in diesen Linien nicht enthalten sind.

(d) Positioneffekte 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 Eigenschaften der gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen 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 zu machen. Pollen von Kartoffelpflanzen wird ohnehin nur in geringem Umfang durch den Wind verbreitet und 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

Kartoffeln befinden sich in Mitteleuropa seit mehreren hundert Jahren im landwirtschaftlichen Anbau. Auf landwirtschaftlich genutzten Flächen können in Abhängigkeit von den Temperaturen im Winter nach Kartoffelanbau im Folgejahr Durchwuchskartoffeln auftreten, die aus nach der Ernte im Boden verbliebenen Knollen oder Samen hervorgegangen sind. Eine Etablierung von Kartoffeln in natürlichen Ökosystemen wurde jedoch in Europa nicht beobachtet, da Kartoffeln gegenüber Wildpflanzen konkurrenzschwach und außerdem nicht frostresistent sind. Kartoffeln werden zwar gelegentlich außerhalb kultivierter Flächen angetroffen, jedoch nur auf nicht-natürlichen Standorten wie Wegrändern und anderen Ruderalflächen. Auch an solchen Standorten kommt es wegen der fehlenden Frosthärte der Kulturkartoffeln nicht zu einer dauerhaften Ansiedlung.

Die Knollen der gentechnisch veränderten Versuchspflanzen sollen maschinell oder manuell geerntet, in geschlossene und gekennzeichnete Behältnisse verpackt und für anschließende Untersuchungen oder zur Lagerung in entsprechende Anlagen gebracht werden. Überschüssiges Knollenmaterial, das nicht zur Wiederaussaat verwendet wird, wird durch geeignete Methoden, z. B. Dämpfen, Autoklavieren, Verbrennen, Häckseln oder Fermentation in einer Biogasanlage, inaktiviert. Das Kartoffelkraut soll zur Verrottung auf den Freisetzungsf lächen liegen bleiben.

Kartoffelpflanzen können blühen und Beeren bilden. Dass unter den mitteleuropäischen Klimabedingungen Kartoffelsamen überwintern, und dass daraus Pflanzen aufwachsen, ist nicht wahrscheinlich. Es ist vorgesehen, die oberirdischen Teile der Kartoffelpflanzen vor der Ernte mechanisch oder chemisch abzutöten. Dadurch wird einem Heranreifen von Samen entgegengewirkt. Sollten Knollen oder Samen im Boden verbleiben, würden aus diesen aufwachsende Pflanzen durch die Nachkontrolle erfasst. Die Fruchtfolge wird so gestaltet, dass es auf den einzelnen Freisetzungsf lächen im folgenden Jahr nicht zu einem Nachbau von Kartoffeln kommt. Falls im Folgejahr aus bei der Ernte nicht erfassten Knollen oder aus Samen gentechnisch veränderte Kartoffelpflanzen auflaufen, können diese erkannt und durch in der Landwirtschaft übliche Maßnahmen inaktiviert werden. In diesem Fall wird die Freisetzungsf läche ein weiteres Jahr auf Durchwuchs kontrolliert.

In den bisherigen Freisetzungsvorhaben zeigten die gentechnisch veränderten Kartoffellinien keine signifikanten Habitusveränderungen. Knollengröße, Pflanzenwachstum und Ertragsleistung wichen nicht signifikant von konventionellen Vergleichslinien ab. Eines der Ziele des Freisetzungsvorhabens ist es, Untersuchungen zur Überwinterungsfähigkeit von Knollen der gentechnisch veränderten Kartoffeln durchzuführen. Dazu sollen ausgewählte Teile der Versuche nicht im Herbst beerntet werden, sondern die Knollen sollen bis zum folgenden Frühjahr im Boden bleiben. Im April des Folgejahres soll dann bestimmt werden, ob bzw. wieviele der Knollen noch vermehrungsfähig sind.

Selbst wenn es zu einer Veränderung der Frostempfindlichkeit der Knollen als Folge der gentechnischen Veränderung kommen sollte, wäre dieses durch die vorgesehene Anbaupause für Kartoffeln, die gemäß der Nebenbestimmungen II.9. und II.10. durchzuführende Nachkontrolle und durch die vorgesehenen Isolationsmaßnahmen ausreichend berücksichtigt. Während der Nachkontrolle nach Beendigung der Freisetzung sind auf den zu kontrollierenden Flächen keine Pflanzen oder nur solche Pflanzen anzubauen, welche die Nachkontrolle nicht behindern.

Auch unter Berücksichtigung dieser Faktoren ist jedoch nicht davon auszugehen, dass die gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen im Vergleich zu konventionellen Kulturkartoffeln veränderte pflanzenökologische Eigenschaften aufweisen und natürliche Ökosysteme besiedeln können. Selbst wenn es zu einer Vertragung von Beeren, Samen oder Knollen der gentechnisch veränderten Pflanzen durch Tiere kommen würde, was unwahrscheinlich ist, wäre daher keine Etablierung der gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen in der Umwelt zu erwarten.

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

Versuche zur Kreuzung von Kartoffeln mit in Mitteleuropa vorkommenden Solanaceen waren erfolglos. Unter Freilandbedingungen fand keine Einkreuzung von gentechnisch veränderten Kartoffeln in *Solanum nigrum* (Schwarzer Nachtschatten) statt. Auch nach künstlicher Pollenübertragung auf *S. nigrum* wurden keine lebensfähigen Samen erhalten. Eine Regeneration einiger Hybriden, die sich allerdings als steril erwiesen, war nur mit Hilfe artifizieller Methoden ("embryo rescue") unter Bedingungen möglich, die in der Natur nicht auftreten. Kartoffeln und *Solanum dulcamara* (Bittersüßer Nachtschatten) erwiesen sich als streng bilateral inkompatible Arten; bei Kreuzungsversuchen kam es nicht zu einer Befruchtung der Samenanlagen. Auch mit der Tomate (*Lycopersicon esculentum*) ist die Kartoffel nicht kreuzbar. Die Vermehrung von Kartoffeln erfolgt in der landwirtschaftlichen Praxis vegetativ über Knollen.

Im Folgenden wird daher nur auf eine mögliche Pollenübertragung von den gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen auf andere Kartoffelpflanzen eingegangen. Pollen von Kartoffelpflanzen können durch Insekten oder durch den Wind übertragen werden. Eine Übertragung durch den Wind geschieht jedoch nur über kurze Entfernungen. Bei Kartoffeln findet in erster Linie Selbstbefruchtung statt, eine Fremdbefruchtung bereits innerhalb eines blühenden Kartoffelfeldes ist selten. Sie geschieht am ehesten zwischen benachbarten Pflanzen.

Die zur Freisetzung beantragten gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen zeigten in den bisherigen Freisetzungsversuchen keine signifikanten Habitusveränderungen gegenüber konventionellen Vergleichslinien. Der in dem beantragten Versuch vorgesehene Abstand von mindestens 10 m zwischen den Freisetzungsfeldern und landwirtschaftlichen Nutzflächen mit nicht gentechnisch veränderten Kartoffeln wird als ausreichend angesehen. Sollte es dennoch zu einer Pollenübertragung auf Kartoffelpflanzen kommen, die zur Erzeugung von Speisekartoffeln angebaut werden, so wäre auch dadurch nicht mit schädlichen Einwirkungen zu rechnen, da Pflanzgut für den landwirtschaftlichen Anbau von Kartoffeln vegetativ vermehrt wird, d. h. nicht über Samen.

Die Wahrscheinlichkeit, dass aus möglicherweise gebildeten Samen Pflanzen auflaufen würden, ist, wie weiter oben bereits ausgeführt wurde, unter den gegebenen klimatischen Bedingungen sehr gering. Solche Pflanzen würden auf landwirtschaftlich genutzten Flächen im Rahmen einer Fruchtfolge durch die üblichen feldbaulichen Maßnahmen eliminiert werden.

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 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.

- (a) Das Fragment der kodierenden Region eines Kartoffel-Stärkesynthasegens („granule bound starch synthase“, GBSS)

Die Genfragmente stammen aus Kartoffeln, kommen also in der Umwelt ohnehin häufig vor. Ein horizontaler Gentransfer in Mikroorganismen könnte daher mit weit höherer Wahrscheinlichkeit aus nicht gentechnisch veränderten Organismen erfolgen.

- (b) Das *ahas*-Gen

Durch induzierte und erworbene Mutationen hervorgebrachte, herbizidtolerante Varianten von AHAS-Enzymen sind in verschiedenen Pflanzenarten bekannt. Die AHAS-Enzyme von Enterobacteriaceen weisen natürlicherweise häufig eine um bis zu zwei Größenordnungen geringere Sensitivität gegenüber Sulfonylharnstoff- und Imidazolinon-Herbiziden auf als die entsprechenden pflanzlichen Enzyme. Das Isoenzym AHAS II aus *E. coli* ist z. B. ähnlich tolerant gegenüber Sulfonylharnstoffen wie die in den gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen gebildete AHAS-Variante S653N.

Die Wahrscheinlichkeit einer Verbreitung von Genen für herbizidtolerante AHAS-Varianten durch Übertragung zwischen Bakterien oder durch horizontalen Gentransfer aus nicht-transgenen Pflanzen ist daher weitaus größer als die Wahrscheinlichkeit einer Verbreitung durch horizontalen Gentransfer von den gentechnisch veränderten Pflanzen auf Mikroorganismen.

- (c) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

Für die zur Freisetzung beantragten gentechnisch veränderten Kartoffellinien wurde durch Real-time-PCR gezeigt, dass es weder zu einer Integration von Plasmidsequenzen über die rechte T-DNA-Border noch über die linke Border hinaus gekommen ist.