



**Antrag 6786-01-0158**

**Zusammenfassung der Risikobewertung von  
gentechnisch veränderten Erbsen (*Pisum sativum*; Eiffel)  
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 *Vfaap1*-Gen**

Das *Vfaap1*-Gen aus *Vicia faba* kodiert für eine Aminosäure-Permease. Aminosäure-Permeasen transportieren Aminosäuren aus den pflanzlichen Leitgeweben in den Sympلاس-

ten von Pflanzenzellen. Sie werden in unterschiedlichem Ausmaß entwicklungs- und gewebespezifisch exprimiert und weisen unterschiedliche Spezifitätsmuster für Aminosäuren auf. Im Spenderorganismus *Vicia faba* wird das *Vfaap1*-Gen vor allem zu Beginn der Entwicklung in Speicherparenchymzellen der Kotyledonen exprimiert. Die stärkste Expression korrespondiert mit der Bildung von Speicherproteintranskripten. VfAAP1 vermittelt den Transport einer Reihe von Aminosäuren (vor allem Cystein, Arginin, Glutamin, Serin, Leucin, Methionin, Histidin, Glycin und Threonin) mit deutlichem Schwerpunkt auf Cystein.

In der gentechnisch veränderten Erbse wird die Expression des *Vfaap1*-Gens vom Promotor des Legumin B4-Gens (*leB4*-Gen) aus *Vicia faba* kontrolliert. Dieser Promotor reguliert die samenspezifische Expression der von ihm kontrollierten Gene. Auch Expression in Pollen wurde beobachtet. In unreifen Samen der für die Freisetzung bestimmten transgenen Erbsenlinie wurde die Expression des Gens mittels Northern blot belegt. Die Expression in weiteren Pflanzenteilen wurde bislang nicht untersucht.

Bei Pflanzen der gentechnisch veränderten Erbsenlinie 14/10 wurden in Gewächshausuntersuchungen keine Unterschiede zur Kontrolllinie 14/3 im Habitus (Wachstum und Blühzeitpunkt) festgestellt. Auch Samenzahl und -gewicht, Samenproteingehalt sowie C/N-Verhältnis wurden bestimmt. Die gentechnisch veränderten Pflanzen zeigten sich mit Ausnahme des erhöhten Samenproteingehalts phänotypisch normal.

Das Zielgen *Vfaap1* sowie der verwendete Promotor des *leB4*-Gens stammen aus *Vicia faba* (Ackerbohne oder Dicke Bohne). Als Körnerleguminose wird sie in Deutschland auf ca. 21.000 ha (2004) angebaut. Verwendet wird sie vor allem als eiweißreiches Viehfutter (Ackerbohne) oder als Gemüse (Dicke Bohne). Unter Beachtung der üblichen Zubereitungsformen sind humantoxische Wirkungen der Dicken Bohne nicht bekannt. Der Verzehr oder die Verfütterung von Erbsen oder weiterer Pflanzenteile der gentechnisch veränderten Pflanzen ist im Rahmen dieses Freisetzungsvorhabens nicht vorgesehen.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt sind im Rahmen der beabsichtigten Versuchsdurchführung durch die Bildung der Aminosäure-Permease der Ackerbohne in Erbsensamen sowie dem damit verbundenen erhöhten Proteingehalt der Erbsensamen nicht zu erwarten.

(b) Weitere innerhalb der T-DNA gelegene DNA-Abschnitte

Das zur Kotransformation der Erbsen verwendete Plasmid pPZP200/VfAAP1 enthält innerhalb der T-DNA-Border nur das Konstrukt des Zielgens.

Das zur Kotransformation außerdem verwendete Plasmid pCAMBIA3300 enthält außer dem Markergen zur Selektion des gentechnisch veränderten Pflanzengewebes (*bar*-Gen) Nukleotide des *lacZ*-Gens aus *E. coli*. Das *bar*-Gen ist auf Grund der Integration der T-DNAs der beiden Transformationsplasmide an verschiedenen Stellen im Pflanzengenom und der züchterischen Maßnahmen im Anschluss an die Regeneration fertiler Pflanzen nicht mehr in den für die Freisetzung vorgesehenen Pflanzen enthalten. Wider Erwarten in den gentechnisch veränderten Pflanzen enthaltene weitere Bestandteile der T-DNA des Plasmids pCAMBIA3300 sind bakteriellen Ursprungs und wären in Pflanzen nicht aktiv.

(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. Den Antragsunterlagen beiliegende Ergebnisse einer Southern blot-Untersuchung zeigen, dass Bereiche außerhalb der T-DNA des Plasmids pPZP200/VfAAP1 nicht in die gentechnisch veränderte Erbse übertragen worden sind. Wider Erwarten in den gentechnisch veränderten Pflanzen dennoch enthal-

tene weitere Bestandteile des Plasmids pZP200/VfAAP1 (Streptomycin/Spectinomycin-Resistenzgen, Regionen der Plasmidreplikation, -Stabilität und -Mobilisierung aus den Plasmiden pBR322 und pVS1) wären in Pflanzen nicht aktiv. Entsprechendes gilt für die Bestandteile des Plasmids pCAMBIA3300.

(d) 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 Eigenschaften der gentechnisch veränderten Erbsen 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. Wie unter (a) bereits ausgeführt, entstammen das Zielgen sowie die Promotorsequenz aus einer Pflanzenspezies, die für die menschliche Ernährung und als Viehfutter Verwendung findet. Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit sind aus der Verwendung dieser Sequenzen vor diesem Hintergrund nicht zu erwarten. Pollen von Erbsen 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

*P. sativum* zählt zu den einjährigen, sommeranuellen Pflanzen, die sich sexuell über Samen vermehren. Eine Verbreitung der Samen im Bestand kann bei Öffnung der Hülsen vor der Ernte erfolgen. Um ein Verschleppen der Samen durch Ausfall oder durch Tiere zu verhindern, beabsichtigt die Antragstellerin, die einzelnen Hülsen in ein Säckchen zu verpacken und manuell zu ernten. Eine langfristige Etablierung von Kulturpflanzen wie z. B. der Erbsen außerhalb des Kultivierungsbereiches ist nicht wahrscheinlich, da keimende Erbsen konkurrenzschwach sind gegen auf der Keimfläche befindlichen Pflanzenbewuchs (Verunkrautung). Pflanzen der in Deutschland verwendeten Sommererbsensorten sind frostempfindlich und sterben bei  $-5$  bis  $-9^{\circ}\text{C}$  ab. In frostfreien Gebieten ist eine Überwinterung im Herbst ausge-

keimter Samen möglich. Erbsensamen können unter bestimmten klimatischen Bedingungen (milde Winter) im Boden überdauern. Sämlinge, die aus solchen Samen aufwachsen, wären jedoch selten und wenig konkurrenzfähig und würden zudem durch die vorgesehene Nachkontrolle der Versuchsfläche erfasst. Eine vegetative Vermehrung findet nicht statt. Es gibt keine Hinweise auf eine Ausbreitung von Kulturerbsen. Eine Etablierung außerhalb landwirtschaftlicher Nutzflächen ist daher nicht zu erwarten.

Die in der Versuchsplanung des vorliegenden Antrags vorgesehene Verpackung der Hülsen vor der Reife sowie die manuelle Ernte lassen eine unbeabsichtigte Ausbreitung der gentechnisch veränderten Erbsenpflanzen nicht erwarten. Aus gegebenemfalls auf der Freisetzungsfäche verbliebenem Pflanzenmaterial können sich keine Pflanzen mehr regenerieren. Somit ist weder mit einer Überdauerung noch mit einer Ausbreitung der gentechnisch veränderten Pflanzen zu rechnen.

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

*P. sativum* ist fast ausschließlich selbstbefruchtend. Der Anteil der Fremdbefruchtung kann 1-3 % betragen und erfolgt vornehmlich durch Insekten (hauptsächlich Wildbienen). Die Möglichkeit der Pollenübertragung auf andere Sorten der Gartenerbse (*P. sativum* ssp. *hortense*) oder der Futtererbse (*P. sativum* ssp. *arvense*) kann daher nicht ausgeschlossen werden, wird aber durch die vorwiegend erfolgende Selbstbefruchtung weitgehend eingeschränkt. Die Antragstellerin sieht einen Abstand von mindestens 20 m zu der nächsten, mit Erbsen bestellten landwirtschaftlichen Nutzfläche vor, Erbsen aus dem Genbanksortiment des IPK werden in ca. 500 m Entfernung angebaut. Diese Abstände werden als hinreichend angesehen, um eine Pollenübertragung von den gentechnisch veränderten auf weitere Erbsen zu verhindern. In Mitteleuropa kommen keine Wildarten der Gattung *Pisum* vor, die mit *P. sativum* bastardisieren können. Für eine Bastardisierung mit anderen Pflanzenarten liegen keine Hinweise vor.

### 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 *Vfaap1*-Genkonstrukt

Die in dem Konstrukt vorhandenen Sequenzen des *Vfaap1*-Gens und des leB4-Promotors stammen aus *Vicia faba*, 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. Es ist auch nicht zu erwarten, dass das *Vfaap1*-Konstrukt im Fall eines horizontalen Gentransfers in Mikroorganismen in diesen eine Funktion hätte.

(b) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

Auf Grund der Untersuchungsergebnisse, die in den Antragsunterlagen enthalten sind, ist nicht zu erwarten, dass außerhalb der T-DNA-Borderregionen liegende Nukleinsäureabschnitte des Plasmids pPZP200/VfAAP1 in das Genom der gentechnisch veränderten Erbsen übertragen worden sind. Sollten sie wider Erwarten dennoch übertragen worden sein, so wäre auf Grund ihrer bakteriellen Herkunft und ihrer Funktion zu erwarten, dass die Wahrscheinlichkeit einer Verbreitung durch Übertragung zwischen Bakterien weitaus größer wäre als die Wahrscheinlichkeit einer Verbreitung durch horizontalen Gentransfer von den gentechnisch veränderten Pflanzen auf Mikroorganismen. Es wäre deshalb nicht zu erwarten, dass die eventuelle Präsenz dieser Nukleinsäureabschnitte im Pflanzenchromosom zu einer Erhöhung der Gesamtfrequenz des horizontalen Gentransfers beitragen würde. Entsprechendes gilt für das Plasmid pCAMBIA3300.