



Antrag 6786-01-0166

Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch veränderten Kartoffeln

(Solanum tuberosum : Baltica)

im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,

durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde

Berlin, den 30. Mai 2006

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 die Zeaxanthinepoxidase aus *S. tuberosum*

Das in die gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen übertragene cDNA-Fragment der Zeaxanthinepoxidase wird unter der Kontrolle des knollenspezifischen GBSS-Promotors des Gens der Stärkekorngelbungs-Stärkesynthase der Kartoffel und der Terminatorsequenz des Nopalinsynthase Gens aus *A. tumefaciens* überwiegend in den Kartoffelknollen exprimiert. Das Genfragment wurde in sense- oder antisense-Orientierung übertragen.

Xanthophylle dienen in Pflanzen und Tieren als Puffer überschüssiger Lichteinstrahlung. Eine Rolle dabei spielen die Xanthophylle Violaxanthin und Zeaxanthin. Sie werden auch in Kartoffelknollen synthetisiert. Zeaxanthin wird jedoch durch die in den Knollen vorhandene Zeaxanthinepoxidase sofort in Violaxanthin umgesetzt. Die Hemmung der Zeaxanthinepoxidase führt zu einer Anreicherung von Zeaxanthin als Ausgangssubstanz für die Synthese von Carotinoiden.

Die Expression des eingeführten Genfragmentes erfolgt in einer Linie in antisense-Orientierung. 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.

Bei einer weiteren Linie erfolgt die Expression des eingeführten Genfragmentes in sense-Orientierung. Dieses führt in der Regel zu einer Erhöhung der Transkriptmenge des jeweiligen Gens. Zeigt das transferierte Gen jedoch eine Homologie zu einem endogenen Gen, kann es zu einer gegenseitigen Inaktivierung des Fremdgens und des endogenen Gens kommen. Dieser Effekt wird als „Homology dependent gene silencing“, „Cosuppression“ oder „sense-Suppression“ bezeichnet.

Die gentechnische Veränderung führt auf beiden Wegen zu einer Verringerung der Synthese der endogenen Zeaxanthinepoxidase. Northern Blot-Analysen zeigen, dass es in den Knollen der gentechnisch veränderten Kartoffeln zu einer deutlichen Reduktion der Zeaxanthinepoxidase-mRNA kommt, während in den Blättern eine mäßige Reduktion beobachtet wird. Die gentechnische Veränderung bewirkt eine Verschiebung des Stoffwechselgleichgewichtes vom Violaxanthin zum Zeaxanthin in den Knollen. Da Violaxanthin für die Biosynthese des Pflanzenhormons Abszissinsäure, eines Phytohormons, das verschiedene physiologische Prozesse in der Pflanze (Samenreife, Trockentoleranz, Blattwelke) steuert, benötigt wird, ist mit einer verminderten Bildung des Hormons zu rechnen. Eine Beeinflussung weiterer Stoffwechselwege im Sinne einer Verschiebung von Metabolitkonzentrationen kann daher nicht ausgeschlossen werden. Der Antragsteller beobachtete bei den bisher durchgeführten Gewächshaus- und Feldversuchen außer einer unterschiedlichen Knollenfarbe keine phänotypischen Unterschiede zu nicht gentechnisch veränderten Kartoffeln. Es ist davon auszugehen, dass es aufgrund der gentechnischen Veränderung zu Konzentrationsverschiebungen verschiedener pflanzeneigener Inhaltsstoffe kommt.

Da Schwankungen des Zeaxanthingehaltes und der Gehalte anderer Violaxanthine natürlicherweise vorkommen, sind durch die eingeführte Modifikation in den gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen im Rahmen des beantragten Freisetzungsvorhabens keine Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt zu erwarten.

(b) Das *npII*-Gen

Das in die gentechnisch veränderten Pflanzen übertragene *npII*-Gen kodiert das Enzym Neomycin-Phosphotransferase. Es wurde als Markergen zur Selektion transformierter Pflanzenzellen eingeführt.

Die Neomycin-Phosphotransferase ist eine Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase des Typs II (APH(3')II), welche die ATP-abhängige Phosphorylierung der 3'-OH-Gruppe des Aminohexose-Rings bestimmter Aminoglycosid-Antibiotika katalysiert, wodurch diese inaktiviert werden. Das Enzym zeichnet sich durch eine 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 auch Kanamycin und Neomycin breite Anwendung. Das Enzym ist nichttoxisch für Pflanzen, Tiere, Mikroorganismen und den Menschen.

(c) Bordersequenzen aus Ti-Plasmiden und Regulationssequenzen

Die gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten Sequenzen der linken und der rechten Borderregion der T-DNA des Plasmids pTiT37 aus *A. tumefaciens*. Diese Sequenzen sind zusammen mit den Genprodukten der *vir*-Region des in dem zur Transformation verwendeten *Agrobacterium*-Stamm LBA4404 vorhandenen Helferplasmids, das nicht in die Pflanzen übertragen wurde, verantwortlich für die Integration der zwischen den Borderregionen liegenden Gene in Chromosomen der Kartoffelpflanzen. Diese Borderregionen des Ti-Plasmids sind in den gentechnisch veränderten Pflanzen funktionslos und lassen keine Veränderungen in den Pflanzen erwarten.

Die gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten ins Genom integriert folgende Regulationssequenzen:

- GBSS-Promotor des Genes der Stärkekorngelbundenen Stärkesynthase aus *S. tuberosum*,
- Promotor und Terminator des Nopalin-Synthase-Gens (*nos*) aus *A. tumefaciens*,

Die Promotor- und Terminationssequenzen regeln die Expression der zwischen ihnen liegenden DNA-Sequenzen in den gentechnisch veränderten Pflanzen. Weitergehende Funktionen sind nicht bekannt, weitergehende Auswirkungen in den gentechnisch veränderten Pflanzen nicht zu erwarten. (s. a. III.1.2.4.)

(d) 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. Übertragungen von DNA-Abschnitten jenseits der Bordersequenzen wurden in der Literatur jedoch berichtet.

Der zur Erzeugung der gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen verwendete Vektor pPGB121S, ein Derivat des Vektors pBIN19, enthält außerhalb der T-DNA-Borderregionen das *nptIII*-Gen, welches für eine Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase des Typs III kodiert, die eine Resistenz gegenüber Aminoglycosid-Antibiotika vermittelt. Aufgrund der im Antrag angeführten PCR- und Southern Blot-Untersuchungen ist davon auszugehen, dass ein funktionales *nptIII*-Gen sowie das in den nicht funktionalen Teil integrierte *IS1*-Transposon nicht in die Genome der gentechnisch veränderten Kartoffellinien übertragen wurde.

Weiterhin können im vorliegenden Fall durch Integration von außerhalb der Borderregionen gelegenen weiteren DNA-Abschnitten des Vektors pBIN19 in die gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen übertragen worden sein:

- (i) der Replikationsursprung *oriV* des Plasmids RK2;
- (ii) die *traF*-Region, enthaltend den *oriT* des Plasmids RK2;
- (iii) der *trfA*-Lokus des Plasmids RK2 (kodiert zwei Proteine, die für die Replikation des Plasmids erforderlich sind);
- (iv) ein nicht-funktionales Fragment des *kilA*-Gens aus dem Plasmid RK2;
- (v) das *tetA*-Gen des Plasmids RK2 (durch Insertion der T-DNA-Region unterbrochen);
- (vi) der Replikationsursprung des Plasmids pMB1 (*Col E1* ähnlich).

Die Replikationsursprünge *oriV* (i) bzw. *oriT* (ii) des Plasmids RK2 ermöglichen die Replikation des Plasmids in einem weiten Wirtsbereich Gram-negativer Bakterien bzw. seinen konjugativen Transfer, sofern die Mobilisierungsfunktionen durch ein Helferplasmid zur Verfügung gestellt werden. Es gibt keine Hinweise dafür, dass die Replikationsursprünge von RK2, der Replikationsursprung von pMB1 (vi) oder die übrigen DNA-Abschnitte bakteriellen Ursprungs (iii, iv, v, v) in höheren Pflanzen eine Funktion hätten. Einige der DNA-Abschnitte sind zudem unvollständig (iv) bzw. unterbrochen (v).

(e) 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 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 im Gewächshaus sowie im Rahmen des Freilandversuches 6786-01-0135 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 und wurden zuerst beim Mais nachgewiesen. 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. Jedoch liegen aus den bisherigen Versuchen mit den gentechnisch veränderten Pflanzen sowie aus zahlreichen Freisetzungen von Pflanzen, die das *npfl*-Gen unter der Kontrolle nicht gewebespezifischer Promotoren exprimieren, keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität der Pflanzen vor. 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. Eine Etablierung von Kartoffeln in natürlichen Ökosystemen wurde dabei in Europa nicht beobachtet. Kartoffeln werden zwar gelegentlich außerhalb kultivierter Flächen angetroffen, jedoch nur auf nicht-natürlichen Standorten wie Wegrändern und anderen Ruderalflächen. Da Kartoffeln nicht frostresistent sind, kommt es auch an solchen Standorten nicht zu einer dauerhaften Ansiedlung. Infolge des Kartoffelanbaus können auf landwirtschaftlich genutzten Flächen in Abhängigkeit von den Temperaturen im Winter in der folgenden Kultur Durchwuchskartoffeln auftreten, die aus nach der Ernte im Boden verbliebenen Knollen oder Samen hervorgegangen sind.

Die Knollen der gentechnisch veränderten Kartoffelpflanzen sollen nach der Ernte analysiert werden, sämtliche Beeren ebenfalls zu Analysezwecken abgesammelt werden. Das Kartoffelkraut soll verbrannt und nicht benötigte Kartoffelreste gehäckselt und zum mikrobiologischen Abbau auf der beernteten Freisetzungsfläche ausgebracht werden. Nach analytischen Untersuchungen verbleibende Kartoffeln sollen durch Autoklavieren inaktiviert werden. Kartoffeln sollen in der Vegetationsperiode nach der Freisetzung auf der ehemaligen Freisetzungsfläche nicht angebaut werden. Durchwuchskartoffeln werden während dieser Zeit erkannt und vernichtet.

Kartoffelpflanzen der verwendeten Sorten können blühen und Beeren bilden. Dass unter den mitteleuropäischen Klimabedingungen Kartoffelsamen überwintern, und dass daraus Pflanzen aufwachsen, ist nicht wahrscheinlich. Sollten Knollen oder Samen im Boden verbleiben, würden aus diesen aufwachsende Pflanzen durch die vorgesehene Nachkontrolle erfasst. Die Möglichkeit zum Eintrag von Samen wird dadurch minimiert, dass die Beeren abgesammelt werden.

Die gentechnisch veränderten Pflanzen unterschieden sich nach Angaben der Antragstellerin bei Untersuchungen im Gewächshaus und im Freilandversuch phänotypisch außer in der Knollenfleischfarbe nicht von den Kontrollpflanzen. Eine mögliche Veränderung der Dormanz (vorzeitige Keimung) der Knollen als Folge der gentechnischen Veränderungen ist jedoch nicht auszuschließen. Dieses wird durch die vorgesehene Anbaupause von einem Jahr und durch die vorgesehene Nachkontrolle ausreichend berücksichtigt. Auf den zu kontrollierenden Flächen wird Weizen angebaut. Ein Auffinden von Durchwuchskartoffeln wird dadurch ohne Probleme möglich.

Aus den genannten Gründen ist weder eine Etablierung noch eine Überdauerung der gentechnisch veränderten Pflanzen 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 artifizierender 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. Sie geschieht am ehesten zwischen benachbarten Pflanzen.

Die von dem Antragsteller vorgesehene Einhaltung eines Abstands von mindestens 30 m sowie einer 15 m breiten Rahmensaat aus Ackersenf zu anderen mit Kartoffeln bebauten landwirtschaftlichen Nutzflächen wird als ausreichend angesehen. Sollte es dennoch zu einer Pollenübertragung auf Kartoffelpflanzen kommen, die zur Erzeugung von Speisekartoffeln angebaut werden, so wäre dadurch nicht mit schädlichen Einwirkungen zu rechnen. Pflanzgut für den landwirtschaftlichen Anbau von Kartoffeln wird vegetativ vermehrt, 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. Im Rahmen einer Fruchtfolge würden solche Pflanzen durch die üblichen feldbaulichen Maßnahmen eliminiert werden. Selbst wenn Knollen solcher Pflanzen verzehrt würden, wäre dadurch mit keiner Gefährdung der Gesundheit zu rechnen, wie aus der unter III.1.2.1. vorgenommenen Bewertung hervorgeht.

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) Die cDNA für das Gen der Zeaxanthinepoxidase aus *S. tuberosum*

Die eingeführten cDNA's des Gens für die Zeaxanthinepoxidase sowie deren regulatorische Sequenzen stammen aus *S. tuberosum* und *A. tumefaciens*. Sie kommen also in der Umwelt ohnehin häufig vor und könnten daher auch - mit weit höherer Wahrscheinlichkeit - durch horizontalen Gentransfer aus nicht gentechnisch veränderten Organismen in Mikroorganismen in der Umwelt gelangen.

(b) Das *npt II*-Gen

Das *nptII*-Gen befindet sich in den gentechnisch veränderten Pflanzen unter der Kontrolle des *nos*-Promotors. Das Gen kodiert das Enzym Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase II (APH(3')II), das die ATP-abhängige Phosphorylierung bestimmter Aminoglycosid-Antibiotika (Kanamycin, Neomycin, Geneticin) katalysiert, wodurch diese inaktiviert werden.

Die durch die Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase II 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 *npt II*-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 Kartoffeln auf Mikroorganismen würde somit die Gesamtfrequenz dieses Resistenzmechanismus nicht erkennbar erhöht.

Das Wissenschaftliche Gremium für gentechnisch veränderte Organismen (GMO-Panel) der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat das Gen *npt II* in die Gruppe derjenigen Gene eingeordnet, für die bezüglich der Sicherheit kein Grund besteht, ihre Verwendung zu verbieten oder einzuschränken, und zwar weder für Feldversuche noch zum Zweck des Inverkehrbringens. Von der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) wurde das *npt II*-Gen in ihrer Stellungnahme vom 6.7.1999 zur biologischen Sicherheit von Antibiotika-Resistenzgenen im Genom gentechnisch veränderter Pflanzen in die Gruppe der Antibiotika-Resistenzgene eingeordnet, „die (a) in Boden- und Enterobakterien bereits weit verbreitet sind und (b) deren relevante Antibiotika keine oder nur geringe thera-

peutische Bedeutung in der Human- bzw. Veterinärmedizin besitzen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass - wenn überhaupt - das Vorhandensein dieser Antibiotika-Resistenzgene im Genom gentechnisch veränderter Pflanzen keine Auswirkung auf die Verbreitung dieser Antibiotika-Resistenzgene in der Umwelt zur Folge hat“.

(c) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

In der Regel werden bei Transformationen mit Hilfe von Agrobakterien nur die innerhalb der Border liegenden Sequenzen ins Pflanzengenom integriert. Im Fall der durch Transformation mit pPGB121S erzeugten Linien können außerhalb der Borderregionen gelegene Sequenzen in gentechnisch veränderten Pflanzen integriert worden sein. Ein Vorhandensein eines funktionsfähigen Antibiotika-Resistenzgens *npII* sowie des in den nicht funktionalen Teil integrierten Transposons *IS1* wurde in den freizusetzenden gentechnisch veränderten Kartoffellinien nicht nachgewiesen.

Im vorliegenden Fall könnten durch Übertragung von außerhalb der Borderregionen gelegenen Sequenzen folgende DNA-Abschnitte in die gentechnisch veränderten Pflanzen integriert worden sein:

- (i) der Replikationsursprung *oriV* des Plasmids RK2;
- (ii) die *traF*-Region, enthaltend den *oriT* des Plasmids RK2;
- (iii) der *trfA*-Lokus des Plasmids RK2 (kodiert zwei Proteine, die für die Replikation des Plasmids erforderlich sind);
- (iv) ein nicht-funktionales Fragment des *kilA*-Gens aus dem Plasmid RK2;
- (v) das *tetA*-Gen des Plasmids RK2 (durch Insertion der T-DNA-Region unterbrochen);
- (vi) der Replikationsursprung des Plasmids pMB1 (*ColE1* ähnlich).

RK2 gehört zu einer Gruppe von broad host range-Plasmiden (u. a. RP1, RP4, R18, R68), die in einer Vielzahl Gram-negativer Bakterien replizierbar sind. Für die aus RK2 stammenden DNA-Abschnitte (i bis v) ist somit die Wahrscheinlichkeit einer Verbreitung durch Übertragung zwischen Bakterien weitaus größer als die Wahrscheinlichkeit einer Verbreitung durch horizontalen Gentransfer von den gentechnisch veränderten Pflanzen auf Mikroorganismen. Einige der DNA-Abschnitte sind zudem unvollständig (iv) bzw. unterbrochen (v).

Das pMB1-Replikon (vi) gehört zum Typ der ColE1-ähnlichen Plasmide, die einen auf einige Gram-negative Bakterien begrenzten Wirtsbereich haben. Im Wesentlichen kann das Replikon in *E. coli* und nahe verwandten Bakterienspezies, wie z.B. *Serratia* oder *Salmonella*, replizieren. In den meisten Gram-negativen Bodenbakterien erfolgt keine Replikation. In Enterobakterien treten ColE1-Plasmide recht häufig auf. Ein Gentransfer ausgehend von Enterobakterien auf andere Bakterien ist als weitaus wahrscheinlicher anzusehen als ein horizontaler Gentransfer von den gentechnisch veränderten Pflanzen auf Bakterien. Es ist deshalb nicht zu erwarten, dass die eventuelle Präsenz des Replikationsursprungs von pMB1 im Pflanzenchromosom zu einer Erhöhung der Gesamtfrequenz des horizontalen Gentransfers beiträgt.