



Bescheid 6786-01-0163 / 42010.0163

**Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch verändertem Mais
(*Zea mays* L.) NK603 und MON810
im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,
durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde
Berlin, den 01. Juli 2005**

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 *epsps*-Gen

Das *epsps*-Gen kodiert eine Enolpyruvylshikimat-3-phosphat Synthase (EPSPS). Die endogene EPSPS wie auch die durch Transformation in die Maispflanzen eingebrachte CP4 EPSPS katalysieren im Chloroplasten die Reaktion des Shikimat-3-phosphat mit Phosphoenolpyruvat zum 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat, eine Zwischenstufe für die Biosynthese aromatischer Aminosäuren und anderer aromatischer Substanzen des pflanzlichen Sekun-

därstoffwechsels. Im Gegensatz zur endogenen EPSPS wird die CP4 EPSPS durch Glyphosat nicht gehemmt. Auf diese Weise toleriert der gentechnisch veränderte Mais Applikationen des herbiziden Wirkstoffs Glyphosat.

Die Expression des in dem gentechnisch veränderten Mais enthaltenen *epsps*-Gens aus *Agrobacterium* sp. Stamm CP4 findet unter der Kontrolle des Act1-Promotors (*Oryza sativa*) statt. Die Anwesenheit des *act1*-Introns aus Reis in der Transkriptionseinheit zielt auf eine Steigerung der Genexpression. Die Expression einer zweiten Kopie des *epsps*-Gens findet unter der Kontrolle des e35S-Promotors aus dem Blumenkohlmosaik-Virus statt. Die Anwesenheit des *hsp70*-Introns aus *Zea mays* in der Transkriptionseinheit zielt auf eine Steigerung der Genexpression. Die Vorschaltung des Chloroplasten-Transitpeptids der EPSPS aus *Arabidopsis thaliana* (CTP2) bewirkt den post-translationalen Import der CP4 EPSPS in die Chloroplasten und wird in der Regel beim Import abgespalten.

Die im gentechnisch veränderten Mais zusätzlich exprimierte CP4 EPSPS katalysiert die gleiche Reaktion wie entsprechende Enzyme, die natürlicherweise im Mais- und in anderen Kulturpflanzen vorkommen. Da dem Transitpeptid (CTP2) der EPSPS aus *Arabidopsis thaliana* wie auch anderen derzeit bekannten Signalpeptiden, ob prozessiert oder unprozessiert, kein gesundheitsschädliches Potential zuerkannt wird, ist davon auszugehen, dass dies auch für den Komplex aus Transitpeptid und Enzym (hier CP4 EPSPS) zutrifft. Es gibt keine Anhaltspunkte, die eine toxische Wirkung der neu gebildeten EPSPS erwarten lassen.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt sind durch die Wirkungsweise der mittels Transformation eingebrachten EPSPS nicht zu erwarten.

(b) Das *cryIA(b)*-Gen

Das *cryIA(b)*-Gen kodiert für ein Coleopteren-spezifisches Protein-Toxin (Bt-Toxin). Es liegen keine Hinweise für eine enzymatische Aktivität des in dem GVO exprimierten Proteins vor. Es kann folglich davon ausgegangen werden, dass es neben der Bildung des Bt-Toxins in der gentechnisch veränderten Pflanze zu keiner weiteren Beeinflussung des pflanzlichen Stoffwechsels kommt.

Die Expression des in den gentechnisch veränderten Maispflanzen zusätzlich enthaltenen Gens, welches für das *CryIA(b)* aus *Bacillus thuringiensis* ssp *kurstaki* kodiert, findet konstitutiv unter der Kontrolle des 35S Promotors des CaMV statt. Der insektizide Effekt von Cry-Proteinen entfaltet sich nach der Aufnahme des kristallinen Proteins durch das Insekt: Im alkalischen Milieu des Darmtraktes des larvalen Insektes kommt es nach Solubilisierung zur einer Protease-katalysierten Abspaltung des sogenannten δ -Endotoxins, welches die peritrophe Membran permeiert und an spezifische Rezeptoren des Epitheliums im Mitteldarm bindet. In Folge ändert sich die Durchlässigkeit des Darms für Elektrolyte und der pH-Wert des Darmmilieus verschiebt sich. Das Insekt stellt die Nahrungsaufnahme ein und stirbt. Im Säugetier-Verdauungstrakt existieren keine Rezeptoren für das δ -Endotoxin.

In Fütterungsstudien, die den Inverkehrbringensanträgen zu MON810-Mais beilagen, sind keine Hinweise auf negative Effekte des Bt-Proteins in der Nahrung von Mäusen gefunden worden. Hinweise auf ein allergenes Potential von *CryIA(b)* liegen aus diesen Unterlagen gleichfalls nicht vor.

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

In Freilanduntersuchung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft wurde der Einfluss des CryIa(b)-Protein auf die im Boden vorhandene mikrobielle Biomasse, die mikrobielle Aktivität oder die Struktur der Bakteriengemeinschaft ermittelt. Es wurden keine Unterschiede zwischen dem gentechnisch veränderten Mais und den Kontrolllinien nachgewiesen.

Gefahren für die Gesundheit von Menschen und Tieren oder für die Umwelt sind aufgrund des selektiven Wirkungsmechanismus von *Bt*-Toxinen, u.a. durch spezifische Rezeptorbindung im Intestinaltrakt von empfindlichen Insekten, nicht zu erwarten.

(c) Weitere innerhalb der transferierten DNA gelegene Sequenz-Abschnitte

Innerhalb des zur Transformation der Elterlinien eingesetzten Plasmides bzw. Plasmidfragmentes befinden sich nach Angaben der Antragstellerin neben den unter (a) und (b) genannten Konstrukten nur noch kürzere Nukleinsäureabschnitte, die als so genannten Polylinker bei molekularbiologischen Arbeiten als Erkennungssequenzen für DNA-spaltende Restriktionsendonukleasen dienen. Weitere Funktionen sind für diese Nukleinsäureabschnitte nicht bekannt.

(d) Übertragung anderer als innerhalb der transferierten DNA gelegene Sequenzen

Das Partikelbeschussverfahren führt oft zu Cointegrations- und Rearrangementeffekten "upstream" und "downstream" der Insertionsstelle. Beim Ereignis NK603 wurde die Cointegration einer Chloroplasten DNA-Sequenz sowie eines Bruchstückes des Reis-Actin-Promotors festgestellt. In den vorliegenden Antragsunterlagen wird durch Verweis auf Untersuchungsergebnisse hinreichend dokumentiert, dass diese Fragmente keine negativen Auswirkungen auf die Risikobewertung des NK603 Ereignisses haben.

(e) Positioneffekte und Kontextänderungen; Allergenität

Die Expressionsstärke von Genen, die mittels gentechnischer Methoden in das Genom von Pflanzen integriert werden, ist abhängig vom Integrationsort im Chromosom bzw. von der Umgebung des Integrationsortes („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 des gentechnisch veränderten Maises 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 in zahlreichen Freisetzungsversuchen der Elterlinien sowie mit der Hybride in vier Staaten der USA (2002) sowie drei Standorten in Frankreich (2000) 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 in Mais entdeckt. 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 üb-

licherweise 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. Aus zahlreichen Freisetzungen von Pflanzen, die das *epsps*-Gen unter der Kontrolle nicht gewebespezifischer Promotoren exprimieren, liegen jedoch keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität der Pflanzen vor. Auch zu in Pflanzen exprimiertem CryIA(b)-Protein liegen keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität vor.

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 Erbmaterial verleiht eine Resistenz gegen den Befall durch bestimmte Lepidopteren sowie eine Toleranz gegenüber dem Herbizidwirkstoff 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 den Nebenbestimmungen II.8. zur Auflage gemachte Anbaupause und Nachkontrolle erfasst und beseitigt werden. Damit wird eine zeitliche und räumliche Begrenzung des Freisetzungsvorhabens unterstützt.

Nach Abschluss der vorgesehenen Versuchsreihen ist zur Entsorgung vorgesehen, die gentechnisch veränderten Maispflanzen sowie die nicht gentechnisch veränderten Maispflanzen zu häckseln und entweder flach in den Boden zur Verrottung einzuarbeiten, auf der Versuchsfläche zu kompostieren, oder in einer Biogasanlage zu entsorgen. 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.

Gemäß Nebenbestimmung II.9. sind die nicht gentechnisch veränderten Maispflanzen der Mantelsaat wie die gentechnisch veränderten Versuchspflanzen zu entsorgen.

III.1.2.3. Bewertung der Möglichkeit einer Übertragung des eingeführten Gens von den gentechnisch veränderten Maispflanzen 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. Bei der Erzeugung von HybridSaatgut von Mais wird in der Saatgutverordnung - ohne weitere Isolierungsmaßnahmen - ei-

ne Mindestentfernung von 200 m zu anderen Maisfeldern vorgeschrieben, um eine Einkreuzung durch sortenfremden Pollen ausreichend zu minimieren.

Die Nebenbestimmung II.7. enthält Auflagen hinsichtlich der vorzunehmenden Isolationsmaßnahmen für die Versuchsfläche. Diese Maßnahmen dienen zur Einschränkung des Austragens von Maispollen aus dem Versuchsgelände. Es ist dennoch möglich, dass einzelne Maiskörner an nicht gentechnisch veränderten Maispflanzen außerhalb des Isolationsabstandes durch Befruchtung mit Pollen gentechnisch veränderter Pflanzen entstehen können.

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.

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 Maispflanzen über horizontalen Gentransfer auf Mikroorganismen

(a) Die Expressionskassetten des *epsps*-Gens und des *cryIa(b)*-Gens

Die eingeführte Sequenzen wurde im Zuge der Transformation chromosomal in den Empfängerorganismus integriert und durch Kreuzung der single-trait Linien an die Hybride weitergegeben. Untersuchungen zur Transformationsfähigkeit von Bodenbakterien unter natürlichen Bedingungen lassen 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 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 gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten zwei Kopien des CP4 *epsps*-Gens und eine des *cryIa(b)*-Gens, wobei die kodierende Region des *epsps*-Gens an pflanzliche Transitpeptid-Sequenzen N-terminal fusioniert sind. Solche Transitpeptid-Sequenzen wären in Bakterien funktionslos.

Die Expression Glyphosat-toleranter EPSP-Synthasen ist bei Bodenmikroorganismen ein natürlich vorkommender Prozess. Bakterien mit einer entsprechenden Resistenz sind in der Umwelt verbreitet. Das *cryIa(b)*-Gen stammt aus *Bacillus thuringiensis*, einem weiteren, ubiquitär verbreitetem Bodenbakterium. Selbst im Falle eines Transfers dieser Gene von den gentechnisch veränderten Pflanzen auf Mikroorganismen würde die Gesamtfrequenz der Gene in der Umwelt nicht erkennbar erhöht. Ökologische Konsequenzen eines solchen Gentransfers sind nicht wahrscheinlich.

(b) Weitere innerhalb der übertragenen DNA gelegene Abschnitte

Innerhalb der T-DNA enthalten die Transformationsplasmide neben den unter (a) genannten Expressionskassetten nur mehrere kürzere Nukleotidabschnitte mit den Erkennungssequenzen für Restriktionsendonukleasen, die für molekularbiologische Arbeiten von Bedeutung sind. Weitere Funktionen sind für diese kurzen Abschnitte nicht bekannt.