



**Antrag 6786-01-0061**

**Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch veränderten  
Rapspflanzen (*Brassica napus* L.) (Nachkommen der F1-Hybride 23-198)**

**im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,**

**durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde,**

**Berlin, den 25. März 1997**

**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 Rapspflanzen

#### (a) Das Gen für eine C12:0 Acylcarrierprotein-Thioesterase (ACP-TE)

Die Expression des in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen enthaltenen ACP-TE-Gens aus *Umbellularia californica* erfolgt unter Kontrolle des samenspezifischen Napin-Promotors aus *Brassica napus* und des Terminators des Napin-Gens.

Der Napin-Promotor bewirkt die Expression des ACP-TE-Gens im sich entwickelnden Samen. Die gebildete Thioesterase spaltet Lauryl-ACP, so daß Laurinsäure (C12:0) einen Anteil von bis zu 40% des Gesamtfettsäuregehalts des Samens ausmacht. In herkömmlichen Pflanzen liegt der Anteil von Laurinsäure unter 1%. Die Thioesterase aus *Umbellularia californica* weist Homologie zu natürlicherweise im Raps vorkommenden Thioesterasen auf, die andere Substratspezifitäten besitzen. Thioesterasen sind bei verschiedenen Pflanzen beschrieben. Es gibt keine Anhaltspunkte, die eine toxische Wirkung der neu gebildeten Thioesterase erwarten lassen. Laurinsäure ist eine in vielen pflanzlichen Speicherölen, z.B. Palmöl und Kokosnußöl, vorkommende Fettsäure.

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

#### (b) Das *nptII*-Gen aus dem Transposon Tn5

Das *nptII*-Gen für die Neomycin-Phosphotransferase II aus dem Transposon Tn5 steht unter der Kontrolle des 35S Cauliflower Mosaic Virus-Promotors und der *tml* 3'-Terminatorsequenz aus dem *Agrobacterium tumefaciens* Plasmid pTiA6. Das *nptII*-Gen diente als Markergen zur Selektion transformierter Pflanzenzellen.

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. Das in der Humanmedizin therapeutisch bedeutsame Gentamicin und sonstige Aminoglycoside und Aminocyclitole gehören nicht zum Substratspektrum der APH(3')II-Enzyme. In der Tiermedizin finden Kanamycin und Neomycin jedoch breite Anwendung. Aufgrund der Substratspezifität der Neomycin-Phosphotransferase ist zu erwarten, daß unter Freilandbedingungen in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen bei fehlendem Substrat keine neuen Stoffwechselprodukte entstehen. Da die betreffenden Antibiotika im Boden nicht in höheren Konzentrationen vorliegen, vermittelt die Neomycin-Phosphotransferase den gentechnisch veränderten Pflanzen im Freiland keinen Selektionsvorteil. Eine Toxizität des Enzyms für Pflanzen, Tiere, Mikroorganismen oder den Menschen liegt nicht vor.

#### (c) Bordersequenzen aus Ti-Plasmiden, T-DNA-Sequenzen und Regulationssequenzen

Die gentechnisch veränderten Rapspflanzen wurden durch Transformation mit dem binären Vektor pCGN3828 erzeugt. Abhängig von den Genprodukten der *vir*-Region eines in dem zur

Transformation verwendeten *Agrobacterium*-Stamm vorhandenen Helferplasmids, das nicht in die Pflanzen übertragen wurde, bewirkten diese Sequenzen aus *A. tumefaciens* die Integration der zwischen den Borderregionen liegenden Gene in Chromosomen der Rapspflanzen. Diese Borderregionen der Ti-Plasmide sind in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen funktionslos und lassen keine Veränderungen in den Pflanzen erwarten.

Die T-DNA des Vektors pCGN3828 enthielt außerdem das *lacZ'*-Fragment, in dessen multipler Klonierungsstelle das chimäre ACP-TE-Gen inseriert wurde, und eine ca. 300 Bp lange Sequenz aus dem Tn5. Von diesen Nukleinsäuresequenzen ist kein Gefährdungspotential zu erwarten

Weiterhin enthalten die gentechnisch veränderten Pflanzen folgende Regulationssequenzen:

- den 35S-Promotor des Cauliflower mosaic virus (CaMV),
- die Promotorregion des Napin-Genes aus *Brassica napus*,
- die Terminatorregion des Napin-Genes aus *Brassica napus*,
- die *tml 3'*-Terminatorsequenz aus dem *Agrobacterium tumefaciens* Plasmid pTiA6,

Die Promotor- und Terminationssequenzen regeln die Expression der zwischen ihnen liegenden Gene; dies sind das ACP-TE Gen und das *nptII*-Gen. Ausführungen zu den Auswirkungen der Expression dieser Sequenzen in den Pflanzen finden sich unter III.1.2.1.a) und b).

(d) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

In der Regel werden bei Transformationen mit Hilfe von Agrobakterien nur die innerhalb der Borderregionen liegenden Sequenzen ins Pflanzengenom integriert. Eine Übertragung von Sequenzen jenseits der Borderregionen wurde jedoch in der wissenschaftlichen Literatur berichtet.

Nach den vom Antragsteller vorgelegten Untersuchungsergebnissen liegen bei zwei der im Pflanzengenom integrierten T-DNA-Kopien Vektorsequenzen vor, die maximal 600 Basenpaare des Replikationsursprunges des Plasmids pRI aus *Agrobacterium rhizogenes* entsprechen. Es gibt keinerlei Hinweise dafür, daß diese Replikationsregion in höheren Pflanzen eine Funktion hat. Weitere Sequenzen des binären Vektors wurden nicht übertragen.

(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 Veränderung im Laurinsäuregehalt der Samen der gentechnisch veränderten Pflanzen nicht in dem Maße erfolgt wie dies in anderen Freilandversuchen im Ausland beobachtet worden ist. 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 pflanzeneigener Gene am bzw. in der Nähe des Insertionsorts kommen. Beeinflussungen pflanzlicher Stoffwechselwege durch solche Vorgänge sind möglich. Während der Vermehrung der gentechnisch veränderten Pflanzen im Gewächshaus und bei weiteren Freisetzung mit diesen 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 Vorhersagen über eine mögliche allergene Wirkung des Proteins zu machen. Jedoch liegen aus den bisherigen Versuchen in Klimakammern bzw. Gewächshäusern sowie aus Freisetzungen im Ausland mit den gentechnisch veränderten Rapspflanzen, die die Acylcarrierprotein-Thioesterase exprimieren, keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität durch Pollen dieser Pflanzen vor.

Es ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, daß Rapspflanzen, die durch Züchtung aus der F1-Hybride 23-198 entstanden sind, in Kanada und den USA nach Prüfung durch die dortigen Behörden bereits zur uneingeschränkten kommerziellen Produktion und Nutzung freigegeben sind.

#### III.1.2.2. Bewertung der Fähigkeit der gentechnisch veränderten Rapspflanzen, im Freiland zu überdauern oder sich zu etablieren

Eine Verbreitung gentechnisch veränderter Rapspflanzen außerhalb der Versuchsfläche ist aufgrund der vorgesehenen Maßnahmen zur Minimierung einer Ausbreitung durch Pollen oder Samen nicht zu erwarten (siehe hierzu die Versuchsbeschreibung im Antrag, die Nebenbestimmungen II.5. bis II.7. sowie die Ausführungen unter III.1.2.3.).

Sommerraps ist eine einjährige, Winterraps eine überjährige Pflanze. Nach der generativen Phase stirbt die Pflanze ab, nur aus den gebildeten Samen können neue Pflanzen entstehen. Rapssamen können, wenn sie in tiefere Bodenschichten gelangen und eine sekundäre Keimruhe eintritt, im Boden mehr als 20 Jahre überdauern. Neuere Untersuchungen zeigen, daß eine Veränderung der Fettsäurezusammensetzung der Speicherlipide der Samen Einfluß auf die Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen nehmen kann. Ob die in diesen gentechnisch veränderten Rapssamen gebildete Laurinsäure tatsächlich Einfluß auf die Überdauerungsfähigkeit nimmt, ist derzeit jedoch nicht bekannt.

Auf jeden Fall kann die Überdauerung von Samen des gentechnisch veränderten Rapses und von ggf. gebildeten Rapsbastarden dadurch minimiert werden, daß jeweils im Anschluß

an die Ernte durch geeignete Maßnahmen ausgefallene Samen noch während der gleichen Vegetationsperiode zur Keimung gebracht werden. Die daraus auflaufenden Pflanzen können leicht zerstört werden. Entsprechende Maßnahmen sind von der Antragstellerin vorgesehen bzw. sind Gegenstand der Nebenbestimmung II.6.

Nach Durchführung dieser Maßnahmen dennoch im Boden verbliebene Rapsamen und ggf. Samen von Rapsbastarden gelangen im Verlauf der vorgesehenen üblichen landwirtschaftlichen Nutzung durch Bodenbearbeitung wieder in die Nähe der Bodenoberfläche und können keimen. Die daraus entstehenden Pflanzen werden durch die während des Versuches und nach Versuchsende vorgesehenen Kontrollmaßnahmen erfaßt und zerstört. Eine Nachkontrolle auf nachwachsende Rapspflanzen von drei Jahren wird als ausreichend betrachtet. Sollten im dritten Jahr der Nachkontrolle noch gentechnisch veränderte Rapspflanzen oder Rapsbastarde auftreten, so ist die Nachkontrolle um ein Jahr zu verlängern. Zur Gewährleistung des Erfassens von nachwachsenden Rapspflanzen soll auf der Versuchsfäche in der Kontrollphase nach Abschluß des Vorhabens kein Raps angebaut werden. Durch diese Anbaupause sowie die während des Versuches durchgeführten Kontrollmaßnahmen wird gewährleistet, daß die ggf. nachwachsenden Rapspflanzen und Rapsbastarde erfaßt werden können.

Einzelne gentechnisch veränderte Raps sämlinge, die nach Ende der Nachkontrolle auf der Versuchsfäche auflaufen könnten, stellen weder bezüglich einer Pollenübertragung auf andere Pflanzen (siehe III.1.2.3.) noch bezüglich einer längerfristigen Etablierung ein Problem dar.

Raps kommt - außerhalb des landwirtschaftlichen Anbaus - nur auf bzw. in der Nachbarschaft zu Anbauflächen, z. B. auf Wegrändern und Ruderalflächen, als Unkraut vor. In natürlichen, intakten Pflanzengesellschaften kann sich Raps nicht etablieren.

Es ist nicht davon auszugehen, daß die gentechnisch veränderten Rapspflanzen durch die eingebrachten Gene veränderte pflanzensoziologische Eigenschaften entwickeln und andere Biotope besiedeln können, da die Pflanzen keinen erkennbaren Selektionsvorteil gegenüber anderen Pflanzen besitzen. Deshalb ist auch im Falle des noch vereinzelt Auflaufens gentechnisch veränderter Raps sämlinge und eventuell möglicher Pollenübertragung auf nicht gentechnisch veränderte Pflanzen eine nachhaltige, dauerhafte Verbreitung des gentechnisch veränderten Rapses nicht zu erwarten und die räumliche und zeitliche Begrenzung der Freisetzung hinreichend gewährleistet.

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

Innerhalb von Rapsbeständen findet zu etwa zwei Dritteln Selbstbestäubung und zu etwa einem Drittel Fremdbestäubung statt. Dieser Rapspollen wird durch Insekten, insbesondere Bienen, und durch den Wind verbreitet. Bei der landwirtschaftlichen Saatguterzeugung werden, um unerwünschte Fremdeinstäubung zu minimieren, gemäß Saatgutverordnung Isolationsabstände von 100 m bei zertifiziertem Saatgut bzw. 200 m bei Basissaatgut verlangt. Die Antragstellerin hat diese Isolationsabstände für einen Vermehrungsanbau der gentechnisch veränderten Rapspflanzen vorgesehen. Eine zusätzliche Mantelsaat ist bei Anzucht von Pflanzen zur Gewinnung von Saatgut nicht möglich. Für Versuchsfächen, die im Rahmen

des Freisetzungsvorganges von der Antragstellerin als Zuchtgärten genutzt werden sollen, sind die Isolationsmaßnahmen gemäß Nebenbestimmung II.6. einzuhalten. Es ist jedoch davon auszugehen, daß Rapspollen durch Insekten in geringem Umfang auch über den vorgesehenen Isolationsabstand hinausgetragen werden kann.

Die Versuchsfläche wird von der Antragstellerin weiterhin für die Freisetzung von anderen gentechnisch veränderten Rapspflanzen mit veränderter Fettsäurezusammensetzung genutzt. Kreuzbestäubungen zwischen den verschiedenen gentechnisch veränderten Pflanzen sind nicht auszuschließen. Durch die von der Antragstellerin vorgesehenen Maßnahmen in Verbindung mit den in den Nebenbestimmungen formulierten Auflagen ist jedoch hinreichend sichergestellt, daß die möglicherweise auftretenden Pflanzen mit unbeabsichtigten Kombinationen verschiedener gentechnischer Veränderungen kontrolliert und entfernt werden.

Es ist nicht auszuschließen, daß in der Umgebung der Freisetzungsfeldfläche Raps aus selbstgeerntetem Saatgut als Zwischenfrucht zur Gründüngung oder zur Grünfütterproduktion nachgebaut wird. Bei dieser Art des einmaligen Nachbaus kommen die Pflanzen in der Regel nicht zur Blüte. Eine Erzeugung und Verbreitung von gentechnisch verändertem Saatgut kann auf diese Weise daher nicht erfolgen.

Die Folge einer Befruchtung einzelner Blüten von nicht gentechnisch verändertem Raps und eines einmaligen Nachbaus dieses Raps wäre das vorübergehende Vorkommen einzelner Rapspflanzen mit erhöhtem Laurinsäuregehalt in der Umgebung der Freisetzungsfeldfläche. Da die übertragenen Eigenschaften keinen erkennbaren Selektionsvorteil verleihen, sind Risiken für die Umwelt oder die Landwirtschaft daraus nicht abzuleiten.

Bei der Gewinnung von Rapsöl (z. B. auch für Nahrungsmittel) aus Samen, die durch Bestäubung einzelner Rapsblüten mit Pollen der gentechnisch veränderten Rapspflanzen hervorgegangen sein könnten, würden die gebildeten Enzyme zusammen mit den übrigen Proteinen vom Öl getrennt. Die gebildete Fettsäure Laurinsäure ist auch Bestandteil von Ölen und Fetten anderer Herkunft, die der menschlichen Ernährung dienen. Die Proteine würden in dem Preßrückstand, dem sog. "Ölkuchen", verbleiben, der als Viehfutter verwendet wird. Schädliche Einwirkungen auf die Gesundheit des Menschen sind deshalb aus der möglichen Bestäubung einzelner Blüten mit Pollen der gentechnisch veränderten Rapspflanzen nicht zu erwarten.

Zur gleichen Art wie der Raps gehört die Kohlrübe (*B. napus* var. *napobrassica*). Es ist davon auszugehen, daß Raps und Kohlrübe miteinander kreuzbar sind.

Bei der Kohlrübe handelt es sich um eine zweijährige Pflanze, die im ersten Jahr eine Hypokotylknolle ausbildet, jedoch erst im zweiten Jahr blüht. Bei einem Anbau für den Verkauf und Verzehr werden die Pflanzen im ersten Jahr geerntet. Eine Befruchtung mit Pollen von gentechnisch verändertem Raps wäre dann möglich, wenn Kohlrüben zum Zwecke der Saatgutgewinnung (z. B. für den Eigenbedarf) zum Blühen gebracht würden. Kohlrüben und Raps sind, obwohl sie zur gleichen Art gehören, morphologisch deutlich verschieden (Raps bildet keine Hypokotylknolle aus). Es ist davon auszugehen, daß Bastarde aus der Befruchtung von Kohlrüben durch Rapspollen in ihrem Erscheinungsbild von Kohlrüben deutlich verschieden wären. Da untypische Pflanzen nicht zur weiteren Vermehrung von Kohlrüben her-

angezogen würden, ist nicht zu erwarten, daß gentechnisch veränderte Bastarde zum Verzehr kommen oder für eine weitere Saatgutproduktion genutzt würden.

Es gibt unter den Brassicaceen mehrere Arten, die mit Raps eng verwandt sind; diese kommen als mögliche Kreuzungspartner in Betracht. Raps (*B. napus*) ist ein Bastard aus Rübsen (*B. rapa* oder *B. campestris*) und Kohl (*B. oleracea*) und deshalb - mit den nachfolgend genannten Einschränkungen - mit diesen Arten prinzipiell kreuzbar.

Hybride aus *B. napus* und *B. oleracea* konnten experimentell erzeugt werden, indem Embryonen aus den Samenanlagen herauspräpariert und auf Nährmedien zu Pflanzen regeneriert werden ("embryo rescue"). Ein spontanes Entstehen solcher Hybriden unter Freilandbedingungen wurde bisher jedoch nicht beobachtet.

Rübsen (*B. rapa* ssp. *oleifera*) wird als Kulturpflanze zur Ölgewinnung und als Zwischenfrucht angebaut und kommt außerhalb des Anbaus verwildert an vom Menschen beeinflussten Standorten (Ruderalstandorte, Wegränder, Feldränder) vor. Bastarde aus *B. napus* x *B. rapa* treten sporadisch in Rapsfeldern auf, wenn bei der Vermehrung des Rapsaatguts eine Befruchtung mit Pollen von *B. rapa* stattgefunden hat.

Bezüglich der möglichen Folgen der Befruchtung von einzelnen Blüten nicht gentechnisch veränderter Rübsenpflanzen gelten die oben genannten Ausführungen zum Raps entsprechend. Hinzu kommt, daß die Fertilität primärer Bastarde aus *B. rapa* und *B. napus* in der Regel eingeschränkt ist. Sie sind anorthoploid und durch eine starke Funktionsreduktion der Gameten infolge unregelmäßiger meiotischer Verteilung der Chromosomen gekennzeichnet. Nachkommen aus solchen Gameten sind aneuploid, in der Regel schwachwüchsig und besitzen wiederum eine geringe Fertilität.

Als Kreuzungspartner für Raps sind einige weitere Brassicaceen in Betracht zu ziehen, wie Sarepta-Senf (*B. juncea*), Schwarzer Senf (*B. nigra*), Weißer Senf (*Sinapis alba*), Ackersenf (*Sinapis arvensis*), Retticharten (*Raphanus sativus*), Hederich (*Raphanus raphanistrum*), Grauer Bastardsenf (*Hirschfeldia incana*) und Meerkohl (*Crambe maritima*). Aufgrund der geringen Chromosomenhomologie dieser Pflanzenarten mit Raps treffen für Bastarde dieser Pflanzen mit Raps die oben für *B. rapa* und *B. oleracea* gemachten Aussagen in noch stärkerem Maß zu. Eine Ausnahme bilden lediglich amphidiploide Hybride, die bei der experimentellen Kreuzung von Raps mit verwandten Brassicaceen erhalten werden. Diese Hybride, die wahrscheinlich aus unreduzierten Gameten der Elternpflanzen hervorgehen, weisen eine nur leicht eingeschränkte Pollenfertilität auf. Auch wenn es vereinzelt zu Hybridisierungen zwischen den gentechnisch veränderten Rapspflanzen und diesen Brassicaceen kommen sollte, läßt dies wegen der geringen Wahrscheinlichkeit keine Ausbreitung des gentechnisch übertragenen Erbmateri als in Wildpflanzenpopulationen befürchten.

Für alle theoretisch möglichen Hybriden aus den gentechnisch veränderten Pflanzen und nicht gentechnisch veränderten Kultur- oder Wildpflanzen gilt, daß das ACP-TE-Gen den Pflanzen keinen Selektionsvorteil verleihen würde. Die Befürchtung der unbeabsichtigten Verbreitung solcher Pflanzen ist daher nicht abzuleiten.

#### 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 in Chromosomen der Empfängerorganismen integriert. Untersuchungen zur Transformationsfähigkeit von Bodenbakterien unter natürlichen Bedingungen lassen folgern, daß 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 Erbmaterial, also jedweder pflanzlicher DNA, möglich wäre.

Das ACP-TE-Gen stammt aus der Pflanze *Umbellularia californica* und weist Homologie zu natürlicherweise im Raps vorkommenden Thioesterasen auf, die eine andere Substratspezifität besitzen. Thioesterasen sind bei verschiedenen Pflanzen beschrieben. Bakterien könnten ähnliche Thioesterase-Gene - im Falle eines hypothetischen Gentransfers - auch aus anderen Pflanzen aufnehmen. Es ist nicht erkennbar, daß die Aufnahme des ACP-TE-Gens irgendeinen Selektionsvorteil für Bakterien bieten würde, so daß - selbst im Falle eines horizontalen Gentransfers - eine erkennbare Erhöhung der Gesamtfrequenz dieses Gens in der Umwelt resultieren würde.

Die durch die Neomycin-Phosphotransferase 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 wurde vorsorglich geprüft, ob durch einen möglichen horizontalen Gentransfer des *nptII*-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 Rapspflanzen auf Mikroorganismen würde somit die Gesamtfrequenz dieses Resistenzmechanismus nicht erkennbar erhöht.

Auch bei einer Übertragung der sonstigen in den Konstrukten verwendeten Regulationssequenzen ist eine Erhöhung der Gesamtfrequenz der entsprechenden DNA-Sequenzen nicht zu befürchten. Der Napin-Promotor und der Napin-Terminator kommen natürlicherweise im Raps vor. Die übrigen Regulationssequenzen stammen aus *A. tumefaciens* und CaMV. *A. tumefaciens* ist in Böden weit verbreitet, und die genannten Sequenzen befinden sich in Wildtyp-Agrobakterien auf Ti-Plasmiden, die durch Konjugation zwischen verschiedenen

Rhizobiaceen ausgetauscht werden können. Die theoretische Möglichkeit eines Transfers der CaMV-Sequenzen aus den gentechnisch veränderten Pflanzen würde keine neue im Vergleich zur natürlicherweise vorliegenden Situation darstellen, weil CaMV als doppelsträngiges pflanzeninfizierendes DNA-Virus ohnehin in Pflanzen anzutreffen ist.

Die gentechnisch veränderten Rapspflanzen enthalten einen Nukleinsäureabschnitt, der aus einer Region des binären Plasmids pCGN3238 außerhalb der T-DNA stammt (s.III.1.2.1.d). Es handelt sich um eine Teilsequenz des Replikationsursprunges des Plasmides pRI aus dem gramnegativen Bakterium *Agrobacterium rhizogenes*. Da der konjugative Austausch von Nukleinsäuren zwischen Mikroorganismen weit verbreitet, ist für diese Sequenz 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.

#### III.1.2.5.Zur Erzeugung der gentechnisch veränderten Rapspflanzen eingesetzte Agrobakterien

Zur Erzeugung der gentechnisch veränderten Rapspflanzen wurden Hypokotylstücke mit Agrobakterien inokuliert, die die zu übertragenden Gene zwischen den Borderregionen des binären Vektorplasmids enthielten. Der verwendete *Agrobacterium*-Stamm ist, im Gegensatz zu den weit verbreiteten Wildformen von *A. tumefaciens*, „disarmed“ („entwaffnet“), d. h. er ist nicht mehr zur Tumorinduktion befähigt. Nach erfolgter Transformation wurde zur Eliminierung der Agrobakterien eine Antibiotikabehandlung durchgeführt.

Das zur Freisetzung vorgesehene Saatgut der gentechnisch veränderten Rapslinien wurde durch generative Vermehrung der Ausgangstransformanten gewonnen. Durch die Vermehrung über Samen sind ggf. nach der Antibiotikabehandlung noch verbliebene Agrobakterien aus dem gentechnisch veränderten Raps entfernt worden.