



Bescheid 6786-01-0090 / 42010.0090

**Zusammenfassung der Risikobewertung von gentechnisch verändertem Raps
(*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk.) MS8 und RF3
im Rahmen eines Freisetzungsvorhabens,
durchgeführt von der deutschen zuständigen Behörde
Berlin, den 22. Juli 1998**

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 *barnase*-Gen; das *barstar*-Gen

Das *barnase*-Gen in der Rapslinie MS8 stammt aus *Bacillus amyloliquefaciens* und kodiert die RNase Barnase. Das *barnase*-Gen steht in den gentechnisch veränderten Pflanzen unter der Kontrolle des Tapetum-spezifischen Promotors PTA29 aus *Nicotiana tabacum*. Das Tapetum ist für die Ernährung und Wandbildung der heranwachsenden Pollenkörner essentiell. Die Barnase-Aktivität in den Zellen des Tapetums führt zum Absterben dieser Zellschicht.

Die Blüten von Pflanzen der Rapslinie „MS8“ sind durch eine fehlende Entwicklung der Antheren gekennzeichnet. Sie bilden keine befruchtungsfähigen Pollenkörner und sind somit männlich steril.

Das *barstar*-Gen in der Rapslinie RF3 stammt ebenfalls aus *Bacillus amyloliquefaciens* und kodiert den Barnase-Inhibitor Barstar. Unter der Kontrolle des Promotors PTA29 wird das *barstar*-Gen, ebenso wie das *barnase*-Gen, spezifisch im Tapetum-Gewebe während der Antheren-Entwicklung exprimiert. Das Barstar-Protein hemmt spezifisch die Barnase und ermöglicht bei Hybridpflanzen, die durch Kreuzung von Nachkommen der Linien MS8 und RF3 entstanden sind, die Entwicklung der Antheren und die Ausbildung von Pollenkörnern. Aufgrund der hohen Spezifität des Inhibitors Barstar für die Barnase ist nicht zu erwarten, daß er auch pflanzliche oder tierische RNasen hemmen kann.

Die Expression des *barnase*-Gens und des *barstar*-Gens ist in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen sowohl räumlich (Tapetum-Gewebe der Antheren) als auch zeitlich (Entwicklung der Antheren) eng eingegrenzt. Beide Gene stammen aus einem ubiquitär auftretenden Bakterium. RNasen mit einer vergleichbaren Aktivität wie die Barnase sind natürlicherweise in Pflanzen enthalten.

Weitere Auswirkungen auf den pflanzlichen Stoffwechsel als die beschriebenen sind aufgrund der Gewebespezifität des verwendeten Promotors PTA29 und der Eigenschaften der gebildeten Proteine (Barnase und Barstar) nicht zu erwarten.

(b) Das *bar*-Gen

Das *bar*-Gen in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen wird unter der Kontrolle des PSSuAra-Promotors in grünen Pflanzengeweben exprimiert. Das Gen kodiert das Enzym Phosphinothricin-Acetyltransferase (PAT).

L-Phosphinothricin ist ein Glutaminsäure-Analogon und inhibiert die pflanzliche Glutaminsynthetase. Die Hemmung der Glutaminsynthetase hat durch die Akkumulation von Ammonium den Zelltod zur Folge. Aus diesem Grund findet Phosphinothricin (Glufosinat) als Wirkstoff in dem nicht-selektiven Herbizid Basta® (Liberty®) Verwendung. Basta® enthält die Enantiomeren D- und L-Phosphinothricin im Verhältnis 1 : 1. D-Phosphinothricin wirkt nicht als Glutaminsynthetase-Hemmstoff.

Im Unterschied zu nicht gentechnisch veränderten Pflanzen, die mit Basta® (Liberty®) behandelt werden, wird in den gentechnisch veränderten Pflanzen das L-Phosphinothricin durch die Phosphinothricin-Acetyltransferase (PAT) acetyliert, wodurch N-Acetyl-L-Phosphinothricin entsteht, das keine herbizide Wirkung hat. Die gentechnisch veränderten Rapspflanzen sind dadurch tolerant gegenüber dem Herbizid Basta®. Die Substratspezifität der Phosphinothricin-Acetyltransferase ist hoch. Selbst das Phosphinothricin-Analogon Glutamat wird kaum umgesetzt. Aufgrund der hohen Substratspezifität des PAT-Enzyms ist nicht zu erwarten, daß dieses in den gentechnisch veränderten Pflanzen andere Substrate als L-Phosphinothricin umsetzen und so zu einer Beeinflussung des pflanzlichen Stoffwechsels führen kann. D-Phosphinothricin wird durch die Phosphinothricin-Acetyltransferase nicht metabolisiert.

Das nach der Behandlung mit Basta® in den gentechnisch veränderten Pflanzen gebildete N-Acetyl-L-Phosphinothricin wird aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit während des weiteren Pflanzenwachstums in den Pflanzen verteilt. Dabei findet durch die Zunahme der Biomasse eine Konzentrationsabnahme statt. Es gibt keine Hinweise, daß N-Acetyl-Phosphinothricin in den gentechnisch veränderten Pflanzen weiter metabolisiert wird.

Aus den auf dem Feld verbleibenden Teilen der gentechnisch veränderten Pflanzen gelangt das in diesen noch befindliche N-Acetyl-Phosphinothricin bei der Verrottung in den Boden und wird dort durch Mikroorganismen wieder in L-Phosphinothricin umgesetzt. D/L-Phosphinothricin wird im Boden ebenfalls durch Mikroorganismen abgebaut.

Nach den vorliegenden Daten weist N-Acetyl-L-Phosphinothricin eine deutlich geringere Toxizität als Phosphinothricin (= Wirkstoff des Herbizids Basta®) auf. Basta® ist von der Biologischen Bundesanstalt nach dem Pflanzenschutzgesetz zugelassen. Im Rahmen dieser Zulassung wurde auch eine toxikologische und ökotoxikologische Bewertung des Mittels und seiner Metabolite vorgenommen. Gefährdungen der Gesundheit von Menschen oder Tieren oder der Umwelt durch in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen enthaltene Rückstände oder Metabolite des Herbizids Basta® sind aufgrund der toxikologischen und ökotoxikologischen Daten von Phosphinothricin und N-Acetyl-L-Phosphinothricin nicht zu erwarten.

Schädliche Einwirkungen der in den gentechnisch veränderten Pflanzen enthaltenen Phosphinothricin-Acetyltransferase wären bei einem Verzehr von Pflanzenteilen durch Tiere oder Menschen ebenfalls nicht zu erwarten. Bei einer oralen Aufnahme wäre davon auszugehen, daß das Enzym ebenso wie Proteine im allgemeinen im Verdauungstrakt abgebaut würde. Das PAT-Protein besitzt keine der für allergene Proteine aus Nahrungsmitteln typischen Eigenschaften (Hitzebeständigkeit, Stabilität im Verdauungstrakt) sowie keine Sequenzhomologie zu bekannten Allergenen.

(c) Bordersequenzen aus Ti-Plasmiden und Regulationssequenzen

Die gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten Sequenzen der linken und der rechten Borderregion der T_L-DNA des Plasmids pTiB6S3 aus *Agrobacterium tumefaciens*. Abhängig von den Genprodukten der *vir*-Region des in dem zur Transformation verwendeten *Agrobacterium*-Stamm vorhandenen Helferplasmids pGV4000, das nicht in die Pflanzen übertragen wurde, bewirkten diese Sequenzen die Integration der zwischen den Borderregionen liegenden Gene in Chromosomen der Rapspflanzen. Diese Borderregionen des Ti-Plasmids sind in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen funktionslos und lassen keine Veränderungen in den Pflanzen erwarten.

Als Regulationselemente wurden das Tapetum-spezifische Promotorfragment PTA29 aus *Nicotiana tabacum*, das Terminationssignal des Nopalinsynthase-Gens aus *Agrobacterium tumefaciens*, der Promotor der kleinen Untereinheit der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase aus *Arabidopsis thaliana* (PSsuAra) sowie das Terminationssignal des Gens 7 der TL-DNA aus *Agrobacterium tumefaciens* in die gentechnisch veränderten Rapspflanzen übertragen. Die Promotor- und Terminationssequenzen regeln die Expression der zwischen ihnen liegenden kodierenden Sequenzen der übertragenen Gene (*barnase*, *barstar*, *bar*) in den gentechnisch veränderten Pflanzen. Ausführungen zu den Auswirkungen der Expression dieser Gene in den Pflanzen finden sich unter III.1.2.1.(a) und (b).

(d) Außerhalb der T-DNA gelegene Sequenzen

Durch PCR-Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß bei den Transformationen keine Sequenzen außerhalb der Borderregionen der verwendeten Vektoren übertragen wurden.

(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 Pflanzen der Linie MS8 nicht vollständig männlich-steril sind, daß Pflanzen der Linie RF3 nicht vollständig in der Lage sind, durch Kreuzung mit Pflanzen der Linie MS8 die männliche Fertilität wiederherzustellen, oder daß die gentechnisch veränderten Pflanzen eine verringerte Toleranz gegenüber Phosphinothricin (Glufosinat) aufweisen. 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 des Anbaus der gentechnisch veränderten Pflanzen im Rahmen vieler Freisetzungen 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.

Mit den gentechnisch veränderten Pflanzen der Linien MS8 und RF3 und deren Nachkommen wurden seit 1990 eine Vielzahl von Freisetzungen durchgeführt. 1996 wurde auf der Grundlage der gewonnenen Daten ein Antrag auf Inverkehrbringen dieser Pflanzen in der EU eingereicht. Für zwei vergleichbare Rapslinien (MS1 und RF1), in die ebenfalls die Gene *bar* und *barnase* bzw. *barstar* eingeführt wurden, wurde 1996 der Firma PGS eine eingeschränkte Genehmigung zum Inverkehrbringen (Anbau zur Erzeugung von Saatgut) in der EU erteilt. Aus den bisherigen Freisetzungen mit den Pflanzen der Linien MS8 bzw. RF3 sowie aus dem Anbau von Pflanzen der Linien MS1 und RF1 und deren Nachkommen ergaben sich keine Hinweise auf eine erhöhte Allergenität oder auf andere schädliche Einwirkungen der Pflanzen auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt. Aufgrund der Gewebespezifität der verwendeten Promotoren ist nicht davon auszugehen, daß die Proteine Barnase, Barstar oder PAT in Pollen der gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten sind.

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

Sommerraps ist eine einjährige Pflanze, Winterraps ist 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. Eine Überdauerung von Rapssamen kann 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.

Nach Durchführung dieser Maßnahmen dennoch im Boden verbliebene Rapssamen gelangen im Verlauf der vorgesehenen landwirtschaftlichen Nutzung durch Bodenbearbeitung wieder in die Nähe der Bodenoberfläche und können keimen. Die Antragstellerin hat vorgesehen, die Versuchsflächen nach der Freisetzung einer einjährigen Nachkontrolle zu unterziehen, die sich bei um jeweils ein Jahr verlängert, wenn auf den Flächen gentechnisch veränderte Rapspflanzen festgestellt werden.

Gentechnisch veränderte Rapssämlinge, die nach Ende der Freisetzung auf der Versuchsfläche auflaufen könnten, stellen weder bezüglich einer Pollenübertragung auf andere Pflanzen (s. 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 sich durch die eingebrachten Gene in dieser Beziehung von nicht gentechnisch verändertem Raps unterscheiden oder andere Biotop besiedeln können. Einen Selektionsvorteil besitzen diese Pflanzen gegenüber anderen Pflanzen nur dort, wo Glufosinat als Herbizidwirkstoff zur Anwendung kommt. Durch mechanische Maßnahmen bzw. durch andere Herbizidwirkstoffe als Glufosinat können die Pflanzen zerstört werden.

Deshalb ist auch im Falle des Auflaufens gentechnisch veränderter Rapssämlinge nach Ende der Freisetzung und eventuell möglicher Pollenübertragung auf nicht gentechnisch veränderte Pflanzen eine nachhaltige, dauerhafte Verbreitung des gentechnisch veränderten Raps 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 vorwiegend durch Insekten, insbesondere Bienen, und über geringere Entfernungen auch durch den Wind verbreitet.

Es ist möglich, daß Rapspflanzen in der Nähe der Freisetzungsfäche durch Pollen der gentechnisch veränderten Rapspflanzen bestäubt werden. Die Folge einer Befruchtung von nicht

gentechnisch verändertem Raps und eines eventuellen Nachbaus dieses Rapses als Zwischenfrucht zur Gründüngung oder zur Grünfütterproduktion wäre das vorübergehende Vorkommen einzelner gentechnisch veränderter Rapspflanzen in der Umgebung der Freisetzungsfläche. Da die eingebrachten Gene den Pflanzen ohne Anwendung von Glufosinat keinen Selektionsvorteil verleihen, sind Risiken für die Umwelt oder die Landwirtschaft daraus nicht abzuleiten.

Samen, die an nicht gentechnisch veränderten Rapspflanzen durch eine Bestäubung mit Pollen der gentechnisch veränderten Rapspflanzen entstanden sind, könnten zur Gewinnung von Rapsöl verwendet werden. Aufgrund der Gewebespezifität der verwendeten Promotoren ist nicht davon auszugehen, daß die Proteine Barnase, Barstar oder PAT in Pollen oder ernsterreifen Samen der gentechnisch veränderten Pflanzen enthalten sind. Sollten sie dennoch dort auftreten, so würden sie bei der Gewinnung von Öl aus Rapssamen durch die üblichen Verarbeitungsschritte zusammen mit den übrigen Proteinen vom Öl getrennt. Die Proteine verbleiben in dem Preßrückstand, dem sog. "Ölkuchen", der als Viehfutter verwendet wird. Die Bewertung der durch die übertragenen Nukleinsäuresequenzen bewirkten Veränderungen in den gentechnisch veränderten Rapspflanzen (siehe III.1.2.1.) hat ergeben, daß daraus keine Gefährdungen zu erwarten wären.

Zur gleichen Art wie der Raps gehört die Kohlrübe (*Brassica 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 herangezogen 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 (*Brassica napus*) ist ein Bastard aus Rübsen (*Brassica rapa*) und Kohl (*Brassica oleracea*) und deshalb - mit den nachfolgend genannten Einschränkungen - mit diesen Arten prinzipiell kreuzbar.

Hybride aus *Brassica 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 (*Brassica 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. na-*

pus 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 oder anderer Kulturpflanzen der Familie der Brassicaceen 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 (*Brassica juncea*), Schwarzer Senf (*Brassica nigra*), Weißer Senf (*Sinapis alba*), Ackersenf (*Sinapis arvensis*), Retticharten (*Raphanus sativus*), Hederich (*Raphanus raphanistrum*) und Grauer Bastardsenf (*Hirschfeldia incana*). Aufgrund der geringen Chromosomenhomologie dieser Pflanzenarten mit Raps treffen für Bastarde dieser Pflanzen mit Raps die oben für *Brassica rapa* und *Brassica 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 Erbmaterials in Wildpflanzenpopulationen befürchten.

Für alle theoretisch möglichen Hybriden aus den gentechnisch veränderten Pflanzen und nicht gentechnisch veränderten Kultur- oder Wildpflanzen gilt, daß die eingebrachten Gene den Pflanzen nur bei Anwendung des Herbizids Basta® oder anderer Glufosinat-haltiger Herbizide einen Selektionsvorteil verleihen würde. Die Befürchtung der unbeabsichtigten Verbreitung solcher Pflanzen ist daraus nicht abzuleiten.

III.1.2.4. Bewertung der Möglichkeit einer Übertragung der eingeführten Fremdgene von den gentechnisch veränderten Rapspflanzen über horizontalen Gentransfer auf Mikroorganismen

Die eingeführten Sequenzen sind integriert in Chromosomen der Empfängerorganismen. 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 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.

Eine Übertragung des *barnase*-Gens würde für Mikroorganismen, die das Gen durch einen horizontalen Gentransfer erhalten könnten, grundsätzlich einen gravierenden Selektionsnachteil bedeuten. Zudem sind Gene für RNasen ubiquitär vorhanden. Auch bei dem Spender *Bacillus amyloliquefaciens* handelt es sich um ein ubiquitär auftretendes Bakterium.

Das *barstar*-Gen, das für einen spezifischen Inhibitor der Barnase kodiert, stammt ebenfalls aus *Bacillus amyloliquefaciens*. Das Gen kann sich also auch durch horizontalen Gentransfer von nicht gentechnisch veränderten Mikroorganismen ausbreiten.

Die Inaktivierung von Phosphinothricin durch Acetylierung ist ein bei Bodenmikroorganismen natürlicherweise vorkommender Prozeß. Bakterien mit einer entsprechenden Resistenz sind in der Umwelt verbreitet. Diese Resistenz kann sich also auch durch horizontalen Gentransfer von nicht gentechnisch veränderten Mikroorganismen ausbreiten. Selbst im Falle eines Transfers des *bar*-Gens von den gentechnisch veränderten Pflanzen in Mikroorganismen würde die Gesamtfrequenz dieser Resistenz in der Umwelt nicht erkennbar erhöht.

Auch bei einer Übertragung der in dem Konstrukt verwendeten Regulationssequenzen ist eine Erhöhung der Gesamtfrequenz der entsprechenden DNA-Sequenzen nicht zu befürchten. Diese Regulationssequenzen stammen aus *Arabidopsis thaliana* (Ackerschmalwand) bzw. aus Tabak. Beide Pflanzenarten kommen natürlicherweise in der Umwelt vor.

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

Die gentechnisch veränderten Rapspflanzen wurden durch Transformation mit Agrobakterien erzeugt, die die zu übertragenden Gene zwischen den Borderregionen binärer Vektorplasmide (pTHW107 bzw. pTHW118) 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.

Das zur Freisetzung vorgesehene Saatgut der gentechnisch veränderten Rapslinien wird durch Kreuzungen oder Selbstbestäubungen gewonnen. Durch diese generativen Phasen sind ggf. nach der Transformation noch verbliebene Agrobakterien aus den gentechnisch veränderten Rapslinien entfernt worden.