



**Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von MON810
– Neue Studien zur Umweltwirkung von MON810**

Az. 6788-02-13 vom 07. Juli 2009

Zusammenfassung

Die ZKBS hat das Anbauverbot von Bt-Mais MON810 vom April 2009 zum Anlass genommen, ihre Sicherheitsbewertung zum Anbau von Bt-Mais MON810 aus dem Jahr 2007 zu überprüfen, und sechs neue Studien zur Wirkung von Bt-Mais auf Nicht-Zielorganismen einer detaillierten Bewertung zu unterziehen. Diese Studien umfassen zumeist Laboruntersuchungen und sind z.T. maßgeblich herangezogen worden für das vom BMELV verfügte Anbauverbot von MON810. Es handelt sich um die Studien von Rosi-Marshall et al. (2007), Bøhn et al. (2008), Kramarz et al. (2007), Schmidt et al. (2009), Hofmann (2007) und Hofmann et al. (2009).

Eine wissenschaftliche Bewertung der Ergebnisse der Studien hat erbracht, dass keine von ihnen belegt, dass MON810 eine Gefährdung von Nicht-Zielorganismen unter Anbaubedingungen hervorruft. Die Bewertung beruht auch darauf, dass mehrere der Studien von wissenschaftlich geringer Qualität sind. Die Schlussfolgerung der ZKBS steht im Einklang mit der fachlichen Bewertung einer französischen Autorengruppe (Ricroch et al., 2009) und der Stellungnahme der EFSA zum Erneuerungsantrag MON810 (EFSA, 2009). In beiden Dokumenten wird das deutsche Verbot für wissenschaftlich nicht begründet erachtet.

Die ZKBS stellt fest, dass vom Anbau von MON810 keine schädlichen Auswirkungen auf die Umwelt ausgehen.

Einleitung

Im April 2009 wurde der Anbau der Bt-Maislinie MON810 in Deutschland auf Veranlassung des BMELV verboten. Eine Anhörung der ZKBS zur Sicherheit des Anbaus von MON810 erfolgte zu diesem Zeitpunkt nicht. Seit der letzten Bewertung der mit dem Anbau von MON810 verbundenen potenziellen Umwelteffekte durch die ZKBS (ZKBS, 2007) sind zu diesem Thema mehrere wissenschaftliche Studien veröffentlicht worden, in denen bisher wenig beachtete, jedoch nicht völlig auszuschließende Umweltwirkungen untersucht wurden. Einige dieser Studien wurden maßgeblich für das Anbauverbot von MON810 (Bescheid des BVL vom 17. April 2009) herangezogen.

Die biologische Sicherheit von genehmigten Bt-Pflanzen, darunter MON810, wird durch die Veröffentlichung von Ricroch et al. (2009) und die Stellungnahme der EFSA zum Erneuerungsantrag MON810 (EFSA, 2009) insgesamt bestätigt. Ricroch et al. (2009) führen für die Jahre 2008-2009 mehr als 40 Veröffentlichungen zu potentiellen Umweltwirkungen von Bt-Pflanzen an. Auch die Auswertung weiterer in den Jahren 1996 bis 2008 erschienenen Studien (376 nach Ricroch et al., 2009) stellt die biologische Sicherheit von Bt-Pflanzen nicht in Frage. Die EFSA (2009) bezieht sich in ihrer Stellungnahme auf mehr als 250 umweltrelevante Veröffentlichungen. Damit wird grundsätzlich die Sicherheitsbewertung der ZKBS aus dem Jahr 2007 bestätigt.

Die vorliegende Stellungnahme der ZKBS bezieht sich vornehmlich auf die selektiv für die

Begründung des Anbauverbotes ausgewählten Studien. Es handelt es sich um sechs Arbeiten zu fünf Themenbereichen:

- 1) Wirkungen von Bt-Mais-Pollen und Ernterückständen auf Gewässerorganismen (Rosi-Marshall et al., 2007),
- 2) Wirkungen von Bt-Maismehl auf Wasserflöhe (Bøhn et al., 2008),
- 3) Wirkungen von Bt-Mais-Pflanzenrückständen auf gesunde und Nematoden-infizierte Schnecken (Kramarz et al., 2007),
- 4) Wirkungen der Bt-Proteine Cry1Ab und Cry3Bb in Fütterungsversuchen mit Larven des Zweipunktmarientkäfers (Schmidt et al., 2009),
- 5) Pollenverfrachtung aus Maisfeldern in benachbarte Biotope (Hofmann, 2007, Hofmann et al., 2009).

Angesichts der Bedeutung der Studien für das MON810-Anbauverbot wird im Folgenden zu jeder eine inhaltliche Stellungnahme abgegeben.

1) Rosi-Marshall et al., 2007:

Die Autoren haben Eintrag und Transport von Pollen und Ernterückständen aus Bt- und Nicht-Bt-Maisbeständen in feldnahe Gewässer gemessen. Zusätzlich wurden Pollen oder Rückstände von Mais, der das Bt-Protein exprimiert, in Laborversuchen an die sich detritivor ernährenden Larven der Köcherfliegenart *Lepidostoma liba* sowie an die sich filtrierend ernährenden Larven der Köcherfliegenart *Hydropsyche borealis* verfüttert. Im Ergebnis führte die Aufnahme von Bt-Mais-Pflanzenmaterial zu einer geringeren Wachstumsrate bei *L. liba* und die Aufnahme von Bt-Mais-Pollen zu einer erhöhten Mortalität bei *H. borealis*.

Die Verwendung von Köcherfliegenlarven als Testorganismen für das lepidopteren-spezifische Cry1Ab-Protein ist nachvollziehbar, da Köcherfliegen in relativ enger Verwandtschaft zu Schmetterlingen stehen. Effekte des Cry1Ab-Proteins auf Köcherfliegen wären somit denkbar.

Allerdings weist die Arbeit von Rosi-Marshall et al. (2007) erhebliche methodische Schwächen auf. So wird die Quelle des Bt-Mais-Pollens und des Nicht-Bt-Mais-Pollens nicht angegeben. Unklar bleiben auch Sorte, Linie bzw. Isogenität der Bt-Mais-Einträge. Dosis-Wirkungsbeziehungen, wie für toxikologische Untersuchungen üblich, werden für das Bt-Protein nicht erhoben.

Außerdem wurde bei den Untersuchungen zum Eintrag von Pollen und Maisrückständen in die feldnahen Gewässer versäumt, deren Bt-Protein-Gehalte zu messen. Es wurden keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Zersetzungsraten von Bt- und Nicht-Bt-Maisabfällen festgestellt. Es fehlen weiterhin Informationen zur potenziellen Exposition der Köcherfliegenlarven gegenüber dem Bt-Protein im Gewässer. Lediglich aus den in einer Abbildung gemachten Angaben zum Eintrag von Bt-Pollen in die Gewässer und den bekannten Gehalten von Bt-Protein in Maispollen lässt sich überschlägig kalkulieren, dass ein sehr geringer jährlicher Eintrag (9 – 90 ng/m² Wasseroberfläche) besteht. Auch die jährliche Menge an eingetragenen Pflanzenmaterial ist mit max. 8 g/m² als gering einzuschätzen. In beiden Fällen sind die entsprechenden Mengen an Bt-Protein, auch bei kurzfristigem zeitlichen Auftreten der Expositionsquellen (Blühphase), angesichts des sogleich einsetzenden Proteinabbaues als vernachlässigbar für Köcherfliegenlarven einzustufen (Douville et al., 2005, 2007).

Fragen werfen auch die Fütterungsversuche mit der Köcherfliegenart *L. liba* auf. Die Herkunft der Bt-Maisblätter und der Nicht-Bt-Maisblätter wurde ebenfalls nicht angegeben. Es ist jedoch sicher, dass als Nicht-Bt-Variante nicht die Blätter einer isogenen Maislinie verwendet wurden. Begründet wird dies mit der Studie von Saxena & Stotzky (2001), die bei ihren Versuchen in den Blättern der isogenen Bt-Linie einen zwischen 33 bis 97% höheren Ligningehalt fanden. Nach Auffassung der Autoren verschlechtert der höhere Ligningehalt die nutritive Qualität der Blätter. Rosi-Marshall et al. (2007) wählten zum Vergleich daher Blätter einer anderen Maislinie mit einem im Vergleich zum Bt-Mais

vermeintlich ähnlichem Ligningehalt und C/N-Verhältnis aus. Allerdings werden keine quantitativen Angaben über die Inhaltsstoffe (Lignin, C/N oder weitere) der in den Labortest verwendeten Maispflanzen gemacht. Aufgrund der nicht angegebenen Herkunft und der fehlenden Charakterisierung des verwendeten Pflanzenmaterials ist nicht auszuschließen, dass sich die in den Fütterungsversuchen verwendeten Bt- und Nicht-Bt-Pollen bzw. Bt- und Nicht-Bt-Blätter nicht nur im Hinblick auf die Anwesenheit von Bt-Protein unterscheiden. Zudem wurde die Konzentration von Bt-Protein im Blattmaterial nicht bestimmt. Auch die in den Fütterungsversuchen verabreichten Blattmengen wurden nicht angegeben (Zitat: „Leaves were added to aquaria as needed“).

Die fehlende Standardisierung ist ein kardinaler Mangel, der vor allem für die von den Autoren durchgeführten Laboruntersuchungen gilt. Unabhängig davon misst die ZKBS den beobachteten *in vitro* Effekten auf Köcherfliegenlarven trotz u.U. großer Mengen in Gewässer eingetragenen Bt-Maismaterials geringe Bedeutung zu. Gründe für die Einschätzung sind folgende: Die natürliche Exposition von Köcherfliegenlarven gegenüber dem Bt-Protein in Gewässern, die an Bt-Maisfelder grenzen, ist sowohl räumlich (Abstand zu Gewässern und Verteilung von Maisfeldern in der Landschaft) als auch zeitlich (kurze Blütezeit) begrenzt. Darüber hinaus wird die potenzielle Exposition der Wasserorganismen erheblich eingeschränkt durch die geringen Mengen und Konzentrationen des Bt-Proteins im Pflanzenmaterial sowie dessen vergleichsweise raschem Abbau in Gewässern.

Die im Labor beobachteten Mortalitätseffekte wurden nur bei unnatürlich hoher Exposition und nur einer Spezies gefunden. Zwar wiesen die Autoren im Falle von der Köcherfliegenart *H. borealis* eine signifikant erhöhte Mortalität bei Verfütterung von Bt-Maispollen im Vergleich zu Nicht-Bt-Maispollen nach, doch lag die Pollenmenge zwei- bis dreimal höher als der maximal gemessene jährliche Polleneintrag in ein Gewässer. In den Versuchen mit der Köcherfliegenart *L. liba* wurde keine erhöhte Mortalität bei Fütterung mit Pflanzenmaterial von Bt-Mais festgestellt, jedoch eine verminderte Wachstumsrate. Angesichts der in der Natur zeitlich beschränkten Exposition (Blühzeit des Mais) bei gleichzeitig meist niedrigerer Bt-Konzentration am Wirkort ist auch die im Laborexperiment gezeigte verminderte Wachstumsrate als nicht relevante Umweltwirkung einzustufen.

Fazit

Die ZKBS stellt fest, dass in den Untersuchungen an Köcherfliegenlarven von Rosi-Marshall et al. (2007), nicht eindeutig der kausale Zusammenhang zwischen Bt-Protein oder der gentechnischen Veränderung und negativen Wirkungen hergeleitet wurde. Die Studie wurde auch von anderen Autoren hinsichtlich ihrer Durchführung und der getroffenen Schlussfolgerungen kritisiert (Beachy et al., 2008; Parrott, 2008). Die Autoren räumen selbst ein, dass sie nicht ausschließen können, dass Unterschiede zwischen den verwendeten Maissorten und nicht das Bt-Protein Ursache der beobachteten Wirkungen sind (Rosi-Marshall et al., 2008). Darüber hinaus stellt die ZKBS fest, dass die von Rosi-Marshall et al. (2007) in Laborexperimenten erhaltenen Ergebnisse unter Berücksichtigung der anzunehmenden Exposition unter Freilandbedingungen nicht relevant sein dürften. Diese Schlussfolgerung wurde von den Autoren in ihrer Replik ebenfalls erwogen (Rosi-Marshall et al., 2008).

2) Bøhn et al., 2008:

Angelehnt an die OECD-Richtlinie 211 für Toxikologietests mit Daphnien (OECD, 1998) verfütterten Bøhn et al. (2008) Mehl von Bt- und Nicht-Bt-Mais an den Testorganismus ‚Großer Wasserfloh‘ (*Daphnia magna*). Ziel der Studie war die Prüfung, ob die Verfütterung von Bt-Mais die Fitness von Wasserflöhen einschränkt. Dazu wurden Überlebensrate, Wachstum und Reproduktion gemessen. Auf die Fütterung mit Bt-Maismehl reagierten die Wasserflöhe mit verringerten Überlebensraten, früherer Reproduktion und geringerer Eiablage. Die Autoren interpretieren die Ergebnisse als Fitness-Nachteil und interpretieren sie als einen direkten Effekt der Fütterung mit Bt-

Maismehl.

Nach Auffassung der ZKBS besitzt die Studie von Bøhn et al. (2008) eine Reihe gravierender Mängel.

Die Verfütterung, insbesondere die ausschließliche, von Maismehl in toxikologischen Studien mit aquatischen Nichtzielorganismen ist ungewöhnlich. Daphnien sind zwar in der Lage, mit einer Vielzahl von Nahrungsquellen zu überleben, jedoch stellt die Aquakultur mit Maismehl als einziger Nahrung zweifelsfrei eine einseitige Ernährung und eine vollkommen unnatürliche Exposition von Wasserflöhen gegenüber Bt-Protein dar.

Dies spiegelt sich in den Versuchsergebnissen wider. Die sogar in der Kontrollgruppe (Nicht-Bt-Mais) beobachtete sehr späte Reifezeit der Daphnien (50% Maturation erst am 17. – 18. Tag) sowie deren ungewöhnlich hohe Mortalität sind deutliche Indikatoren für unnatürliche, nicht-artgerechte Kulturbedingungen. Gemäß OECD-Richtlinie 211 sollen Wachstums- und Reproduktionsstudien bei Daphnien nicht länger als 21 Tage dauern, weil die natürliche Mortalität in der Regel nach etwa 28 Tagen deutlich zunimmt. Bøhn et al. (2008) verdoppelten jedoch die Versuchszeit (42 Tage), und erhielten in der zweiten Versuchshälfte unterschiedliche Daten zur Reproduktion der Versuchstiere. Den von der OECD gestellten Qualitäts-Anforderungen an Daphnien-Tests entspricht die Studie also keinesfalls.

Eine andere zentrale Schwäche der Studie stellt das eingesetzte Pflanzenmaterial dar. Die verwendeten gemahlene Maiskörner je einer gentechnisch veränderten (Hybrid aus MON810 und einer lokalen Sorte von den Philippinen) und einer Vergleichs-Sorte (die lokale Sorte) wurden 2003 auf den Philippinen geerntet. Angaben zu den Bedingungen, unter denen das Material kultiviert wurde (Pflanzenschutzmaßnahmen, Befall durch Schädlinge, u.a.) wurden nicht gemacht. Auch wurde die nutritive Zusammensetzung bzw. Äquivalenz des verwendeten Bt- und Nicht-Bt-Maismehls nicht untersucht (z.B. Nährstoff- oder Mycotoxingehalte). Nur die Verwendung von eindeutig charakterisierten Materialien oder eine Überprüfung der Ergebnisse (z.B. durch Fütterungsstudien mit weiteren Maissorten klarer Herkunft und Behandlung) hätte eine Einordnung und Interpretation der beobachteten Unterschiede ermöglicht. So bleibt ungeklärt, ob die Effekte auf die An- bzw. Abwesenheit von Bt-Protein zurückgehen.

Die Autoren fanden eine frühere Reproduktion als Folge der Fütterung mit dem Mehl aus Bt-Mais. Sie folgerten daraus, dass erhöhter Stress die frühzeitige Reproduktion bei den mit Bt-Maismehl gefütterten Wasserflöhen verursacht. Als Stressindikator gilt nach OECD-Richtlinie 211 in Daphnientests jedoch eher eine verspätete oder verringerte Reproduktion.

Die von Bøhn et al. (2008) ermittelten Unterschiede in der Gesamtzahl aller produzierten Eier sind unter Berücksichtigung der Versuchsbedingungen als gering einzustufen (insgesamt 80 Eier in der Bt-, 96 in der Nicht-Bt-Behandlung). Der Grund für den Zahlenunterschied liegt jedoch in den stark abweichenden Ergebnissen der Versuchswiederholungen. In zwei von drei Wiederholungen wurde in der Bt-Maisvariante eine erhöhte Reproduktionsrate festgestellt. In der dritten Versuchsvariante wurden stattdessen äußerst geringe Eizahlen pro Weibchen festgestellt. Dies deutet abermals auf technische Probleme hin.

Darüber hinaus fanden die Autoren bei den mit Bt-Maismehl gefütterten Wasserflöhen eine verringerte Überlebensrate. Auch dieses Ergebnis ist aus Sicht der ZKBS vor dem Hintergrund der unausgewogenen Ernährungssituation wenig belastbar. Eine Orientierung an den Prinzipien der für Standardtests geltenden Bedingungen hätte vermutlich zu verlässlicheren Ergebnissen geführt. Auch hätte die Einbeziehung weiterer Mais-Referenzsorten es wahrscheinlich ermöglicht, in den Versuchen zwischen Effekten durch das Bt-Protein und den Einflüssen der Diät als solcher zu unterscheiden.

Fazit

Zusammenfassend kommt die ZKBS zu dem Schluss, dass die Studie von Bøhn et al. (2008) aufgrund der untauglichen Versuchsanstellung (Abweichung von der OECD-

Richtlinie für Tests mit Wasserflöhen, nicht artgerechte Ernährung der Versuchstiere, Verwendung von uncharakterisierten Maisproben, Schwächen bei Versuchsdurchführung und -auswertung) keine verlässlichen und aussagekräftigen Ergebnisse liefert. Die Studie ist nicht geeignet, die bisherige Risikobewertung von MON810 in Frage zu stellen. Zur Prüfung eines Verdachts auf Schädlichkeit von Bt-Protein für Wasserflöhe hätte aktives Bt-Protein direkt eingesetzt werden müssen oder ein einheitliches artgerechtes Futter, das z.T. mit Bt-Protein "gespiked" worden wäre. Solche klaren Versuchsansätze lassen die Autoren vermissen.

3) Kramarz et al., 2007:

Kramarz et al. (2007) verfütterten Pflanzenmaterial von MON810-Mais und einer isogenen Vergleichssorte an die Schnecke *Helix aspersa*. Darüber hinaus wurden die Schnecken zusätzlich mit Schnecken-pathogenen Nematoden infiziert, da Schnecken im Freiland häufig mit dem Parasiten befallen sind. Das verfütterte Bt-Mais-Material hatte keinen negativen Effekt auf Mortalität oder Wachstum der Schnecken. Allerdings war das Wachstum der Schnecken nach einer zusätzlichen Infektion mit Nematoden in der Behandlung mit der größten Nematoden-Konzentration im Vergleich zur Behandlung ohne Nematoden in geringem Maße eingeschränkt. Die Mortalitätsrate änderte sich jedoch nicht.

Die Studie weist ein klares experimentelles Design auf. Es kann jedoch auch hier nicht unterschieden werden, ob die beobachteten Effekte durch die Wirkung des Bt-Proteins oder durch die Unterschiede der Linien verursacht wurden. In zukünftigen Versuchen sollten daher mehrere konventionelle Maissorten als Referenz verwendet werden, um Sortenunterschiede von direkten Bt-Wirkungen unterscheiden zu können (vgl. hierzu die Internetseite zur BMBF Sicherheitsforschung[1]).

Fazit

In der Ökotoxikologie sind synergistische Wirkungen zwischen mehreren gleichzeitig wirkenden Stressoren bekannt. Dieser Aspekt ist in der biologischen Sicherheitsforschung seit längerem ein zentrales Thema. Vorschläge zur Weiterentwicklung von Labortestverfahren unter Berücksichtigung derartiger Aspekte werden diskutiert (vgl. hierzu Duan et al., 2008a; EFSA, 2008).

In eine fundierte umweltbezogene Bewertung von MON810 durch die ZKBS können jedoch nicht nur Ergebnisse aus Laborstudien, wie die vorliegende, eingehen. Besonders große Bedeutung haben Ergebnisse aus Freilanduntersuchungen, wie sie z.B. im Rahmen der Sicherheitsforschung an gentechnisch veränderten Organismen (GVO) durch das BMBF seit vielen Jahren erhoben werden. Nur im Freiland lassen sich Wirkungen von GMO unter Bedingungen untersuchen, wie sie beim kommerziellen Anbau herrschen. Abgesehen von Witterungs- und Nährstoffbedingungen nimmt dort eine Vielzahl potenziell nachteilig wirkender Bedingungen, z.B. Krankheiten, Pflanzenschutzmitteleinsatz, oder begünstigend, z.B. rascher Rückgang freier Bt-Toxine, Wegfall von Pathogenen und Pflanzenschutzmitteln, Einfluss auf Nicht-Zielorganismen.

Vor dem Hintergrund des kleinen gefundenen Effektes, der unter Extrembedingungen (hohe Parasitenlast) erzielt wurde, und einer fehlenden Dosis-Wirkungsbeziehung wird das Risiko von MON810 für Schneckenpopulationen von der ZKBS als gering erachtet.

4) Schmidt et al., 2009:

Die Autoren führten Labor-Toxizitätstests mit den Bt-Proteinen Cry1Ab und Cry3Bb sowie dem Expressionsvektor pBD10 an verschiedenen Entwicklungsstadien (L1-L4) des Zweipunktmariekäfers *Adalia bipunctata* durch. Die Marienkäferlarven wurden mit Eiern der Mehlmotte (*Ephestia kuehniella*) gefüttert, die mit Lösungen besprüht worden waren, in denen das Bt-Protein- bzw. DNA des Expressionsvektors pBD10 enthalten war. Die Bt-

Proteinlösungen wiesen die Konzentrationsstufen 0, 5, 25 und 50 µg/ml auf, die pBD10-DNA wurde in Konzentrationsstufen von 0, 10, 50 und 100 µg/ml appliziert. In den Versuchsvarianten, die mit Cry1Ab- und Cry3Bb-Lösungen besprüht waren, kam es zu einem signifikanten Anstieg der Mortalität gegenüber der Kontrolle. Der Expressionsvektor verursachte keinen Effekt. Nach Auffassung der Autoren ging die beobachtete Schädigung der Marienkäferlarven auf direkte Wirkung der aktivierten Bt-Proteine zurück. Die Autoren zogen vor allem für das Cry1Ab mit Blick auf die Wirkung auf den Zweipunktmariekäfer die bisherige wissenschaftliche Auffassung zur Wirtsspezifität bzw. zum Wirkungsmechanismus von Cry-Proteinen in Zweifel.

Die ZKBS stellt fest, dass die Studie hinsichtlich des eingesetzten Materials, der Versuchsdurchführung und der Interpretation der Ergebnisse erhebliche Mängel aufweist, die die Korrektheit der Ergebnisse bzw. der Aussagen grundsätzlich in Frage stellen:

- Aus der Beschreibung der Versuchsanordnung lässt sich nicht ableiten, wie die Bt-Proteinlösungen auf die *Ephestia*-Eier appliziert worden sind und wie sichergestellt wurde, dass die Marienkäferlarven der jeweiligen Stadien in den Wiederholungen immer den gleichen Cry-Konzentrationen ausgesetzt waren. Eine Abschätzung der Höhe und Einheitlichkeit der Cry-Konzentrationen im Larvenfutter ist nicht möglich. Damit ist die wissenschaftlich solide Versuchsdurchführung nicht gegeben sowie eine Versuchswiederholung durch Dritte verhindert.
- In den verwendeten Lösungen von Bt-Protein wurde weder die Konzentration mittels quantitativem ELISA noch die biologische Aktivität durch Biotests geprüft (vgl. hierzu z.B. Duan et al., 2008b). Schmidt et al. (2009) verwendeten zum lediglich qualitativen Nachweis des Bt-Proteins in den Lösungen Immuno-Strips (Agidia Inc.). Dies ist nach Auffassung der ZKBS nicht ausreichend zur realistischen, wissenschaftlich korrekten Einschätzung der Exposition der Larven gegenüber den aktiven Bt-Proben.
- Die untypischen Effekte der Bt-Proteine auf die Versuchstiere könnten möglicherweise auf schädliche Inhaltsstoffe der Proteinpräparate zurückzuführen sein. Um dies ausschließen zu können, hätten inaktivierte Proben der Bt-Proteinlösungen (z.B. durch thermische Behandlung) als Kontrolle in den Experimenten eingesetzt werden müssen.
- Die methodischen Probleme kommen nach Auffassung der ZKBS in den unklaren bzw. widersprüchlichen Ergebnissen der Studie zum Ausdruck: die beobachteten Effekte sind in mehrfacher Hinsicht untypisch für wissenschaftliche Labortoxizitätstests unter kontrollierten Bedingungen.
 - Klare Dosis-Wirkungsbeziehungen ließen sich weder für das Cry1Ab noch für das Cry3Bb feststellen. In der höchsten Konzentrationsstufe nahm z.B. die Mortalität gegenüber der mittleren Konzentrationsstufe sogar ab. Die Autoren haben keine Erklärung für den Effekt.
 - Die L1-Larven zeigten ungewöhnlich hohe Mortalitätsraten (bis zu 21% ohne Bt-Fütterung und 44% mit Bt). Hinsichtlich der Mortalitätsraten ergaben sich mitunter keine Unterschiede zwischen der Kontrolle und der höchsten Konzentrationsstufe (Tests mit Cry3Bb). Die L2- bis L4-Stadien waren dagegen weitgehend unbeeinflusst.
 - Im Gegensatz zu der Mortalität traten bei den Entwicklungszeiten der Larvenstadien, vor allem der L1-Larven, sowie bei dem erreichten Körpergewicht der Adulten keine Unterschiede zwischen den Kontrollen und den mit Cry-Proteinlösungen gefütterten Varianten auf. Es wäre zumindest zu erwarten gewesen, dass sich die Entwicklungszeit der L1-Larven aufgrund der postulierten toxischen Wirkung verlängert hätte.
- Auch die Bewertung der Ergebnisse seitens der Autoren lässt nach Auffassung der

ZKBS Zweifel an der Sorgfalt aufkommen, mit der die Studie durchgeführt wurde. Die von den Autoren angegebene Quelle AGBIOS 2008[2] gibt die im Pollen von MON810 vorhandene Bt-Konzentration mit 0,09 µg/g an. Für die Bewertung ihrer Versuche gehen die Autoren jedoch fälschlich von einem zu hohen Wert von 7,9-10,3 µg/g Bt-Protein im MON810 Pollen aus, also einer 100-fach zu hohen Menge, und überschätzen damit die tatsächliche Umweltexposition. Nach Auffassung der ZKBS stehen somit die in der Studie verwendeten Konzentrationen in keinem biologisch relevanten Verhältnis zur tatsächlichen Bt-Proteinmenge in MON810 Pollen (auch unter Berücksichtigung der Schwankungsbreite in biologischen Systemen), gegenüber denen Marienkäferlarven exponiert sein könnten. Es ist darauf hinzuweisen, dass die Hauptnahrung von Marienkäferlarven und Adulten Blattläuse sind, die nach Raps et al. (2001) kein Bt-Protein aus Bt-Pflanzen aufnehmen.

- Grundsätzlich werden in einer wissenschaftlichen Arbeit eigene Ergebnisse in Relation zum gegenwärtigen Stand des Wissens gesetzt. In der Arbeit werden die Ergebnisse anderer Labor- und Freilanduntersuchungen zur Wirkung von Cry-Proteinen auf Marienkäfer jedoch nicht einmal erwähnt, welche weder für *Adalia bipunctata* (Wold et al., 2001) noch für andere Marienkäferarten die Ergebnisse von Schmidt et al. (2009) unterstützen (Pilcher et al., 1997; Jasinski et al., 2003; Candolfi et al., 2004; Dively & Rose, 2004; Bai et al., 2005; Lundgren & Wiedenmann, 2005; Poza et al., 2005; Álvarez-Alfageme et al., 2008).

Fazit

Die Ergebnisse der Laborstudie, die letale Wirkungen von Bt-Protein ohne eine klare Dosis-Wirkung-Beziehung bei gleichzeitig fehlenden Einflüssen auf Entwicklung und Gewichtszunahme der Versuchstiere aufzeigen, sind angesichts zahlreicher Mängel bei der Versuchsanstellung ohne eine unabhängige wissenschaftliche Bestätigung nicht belastbar. Weiterhin bestätigten mehrere Labor- und Freilanduntersuchungen die Ergebnisse von Schmidt et al. (2009) nicht. Auch unter dem Aspekt der vorsorglichen Sicherheitsbewertung sieht die ZKBS keinen Anlass, aufgrund der Studie von Schmidt et al. (2009) von ihrer bisherigen Risikobewertung der Umweltwirkung von MON810 abzuweichen.

5) Hofmann, 2007 und Hofmann et al., 2009:

Diese Untersuchungen liegen nicht als Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Journalen vor, sondern als Berichte beim BfN. In der Studie von Hofmann (2007) wurden Ergebnisse zur Verfrachtung von Maispollen, die mit Hilfe technischer Pollensammler ermittelt wurden, vorgestellt. Nach Auffassung der Autoren deuten die (ausgehend von den Rändern von Maisbeständen in unterschiedlichen Entfernungen erhobenen) Daten an, dass Maispollen in weit größeren Mengen und in größere Entfernungen verfrachtet würden als bisher vermutet.

Die ZKBS stellt fest, dass die Daten von Hofmann (2007) keine grundlegend neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse liefern. Zwar stellt der Autor auf den ersten Blick große Pollenmengen fest. Das liegt an den langen Messzeiträumen, die sich jeweils über die ganze Blühperiode des Maises erstreckten. Wie der Autor selbst schreibt, liefern die Ergebnisse anderer Arbeiten bei Hochrechnung auf die gesamte Blühperiode ähnliche Depositionswerte (z.B. Wraight et al., 2000, Pleasant et al., 2001, Wolt et al., 2003, Lang et al., 2004, Felke & Langenbruch, 2005, Shirai & Takahashi, 2005).

In der Studie von Hofmann et al. (2009) entwickelten die Autoren für die Pollenverfrachtung sog. 'Worst-Case'-Szenarien, die für besondere Wetterverhältnisse und ungünstige topographische Bedingungen gelten sollten. Aus den Ergebnissen geht hervor, dass unter bestimmten Bedingungen die verfrachteten Pollenmengen theoretisch

höher ausfallen könnten als sie bisher mit Hilfe der Pollensammler-Messungen ermittelt wurden (Hofmann, 2007).

Fazit

Aus Pollendichtedaten, die mit Pollensammlern gemessen wurden, kann nicht auf die reale Exposition von Nicht-Zielorganismen auf natürlichen Oberflächen geschlossen werden. Für die Exposition auf den für Nicht-Zielorganismen relevanten Oberflächen ihrer Wirtspflanzen sind klimatische Faktoren, z.B. Wind und Niederschläge, die Oberflächenstruktur der Blätter der Wirtspflanzen sowie die Zusammensetzung (Häufigkeit der spezifischen Wirtspflanzen) und Architektur der Vegetationsschicht zu berücksichtigen. Darüber hinaus ist die Biologie der Nicht-Zielorganismen mitentscheidend. Phänologie, Fraßverhalten, entwicklungsabhängige Exposition und Empfindlichkeit gegenüber dem Bt-Protein sind für eine realitätsbezogene Risikobewertung für Nicht-Zielorganismen von zentraler Bedeutung. Die ZKBS berücksichtigt in ihren Risikobewertungen grundsätzlich auch die u.U. auftretende höhere Belastung durch große Pollenmengen. Die ZKBS bezieht andererseits aber auch die nachgewiesenermaßen besonders geringe Bt-Proteinkonzentration im Pollen der Maislinie MON810 in ihre Bewertungen sowie mögliche Einflüsse von Witterung und Vegetationsstruktur auf die Exposition von Nicht-Zielorganismen (vgl. dazu Stellungnahme der ZKBS vom Juli 2007) mit ein, ein Punkt, der auch in der EFSA Stellungnahme zu MON810 (EFSA, 2009) besonders berücksichtigt wurde.

Eingedenk der beschriebenen Einflussgrößen und vor dem Hintergrund vorliegender Erkenntnisse auf Populationsebene sieht die ZKBS keine spezielle Gefährdung von Nicht-Zielorganismen, selbst wenn diese in einzelnen Fällen für kurze Zeiten höheren Pollenmengen gegenüber exponiert sein können als im Mittel zu erwarten wäre. Die Untersuchungen von Hofmann (2007) und Hofmann et al. (2009) liefern keine neuen Hinweise auf eventuelle Gefährdungen von Nicht-Zielorganismen, sondern bestätigen vielmehr die Vorgehensweise der ZKBS bei ihrer Risikobewertung.

Schlussfolgerung

Die ZKBS kommt unter Berücksichtigung aller zur Verfügung stehenden wissenschaftlichen Informationen und dem Grundsatz der Vorsorge folgend zu dem Schluss, dass der Anbau der Maislinie MON810 kein Risiko für die Umwelt darstellt. Damit wird unter Einbeziehung der aktuellen Veröffentlichungen die Sicherheitsbewertung in der Stellungnahme der ZKBS von 2007 bestätigt.

Literatur

- Álvarez-Alfageme F., Ferry N., Castañera P., Ortego F., Gatehouse A.M.R. (2008) Prey mediated effects of Bt maize on fitness and digestive physiology of the red spider mite predator *Stethorus punctillum* Weise (Coleoptera: Coccinellidae). *Transgenic Res.*, DOI: 10.1007/s11248-008-9177-4.
- Bai Y.Y., Jiang M.X., Cheng J.A. (2005) Effects of transgenic rice pollen on fitness of *Propylea japonica*. *J. Pest Sci.*, 78, 123-128.
- Beachy R.N., Fedoroff N.V., Goldberg R.B., McHughen A. (2008) The burden of proof: A response to Rosi-Marshall et al.. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 105, 7, E9.
- Bøhn T., Primicerio R., Hessen D.O., T. Traavik (2008) Reduced fitness of *Daphnia magna* fed a Bt-transgenic maize variety. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 55, 584 - 592.
- Candolfi M.P., Brown K., Grimm C., Reber B., Schmidli H. (2004) A faunistic approach to assess potential side-effects of genetically modified Bt-corn on non-target arthropods under field conditions. *Biocon. Sci. Technol.*, 14, 129-170.
- Dively G.P., Rose R. (2004) Effects of Bt transgenic and conventional insecticide control on the non-target natural enemy community in sweet corn. 1st International

Symposium on Biological Control of Arthropods, 265-274.

- Douville M., Gagné F., Masson L., McKay J., Blaise C. (2005) Tracking the source of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab endotoxin in the environment. *Biochem. Syst. Ecol.*, 33, 219-232.
- Douville M., Gagné F., Blaise C., André C. (2007) Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn Cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotox. Environ. Safety*, 66, 195 – 203.
- Duan J.J., Marvier M., Huesing J., Dively G., Huang Z.Y. (2008a) A meta-analysis of effects of Bt crops on honey bees (Hymenoptera: Apidae). *PLoS ONE* 1, e1415.
- Duan J.J., Teixeira D., Huesing J.E., Jiang C. (2008b) Assessing the risk to nontarget organisms from Bt corn resistant to corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae): Tier-I testing with *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environ. Entomol.*, 37, 838-844.
- EFSA (2008) Environmental risk assessment of genetically modified plants – challenges and approaches. EFSA Scientific Colloquium Summary Report 8, 1-159.
- EFSA (2009) Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms on applications (EFSA-GMORX-MON810) for the renewal of authorisation for the continued marketing of (1) existing food and food ingredients produced from genetically modified insect resistant maize MON810; (2) feed consisting of and/or containing maize MON810, including the use of seed for cultivation; and of (3) food and feed additives, and feed materials produced from maize MON810, all under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal*, 1149, 1-84.
- Felke M., Langenbruch G.A. (2005) Auswirkungen des Pollens von transgenem Bt-Mais auf ausgewählte Schmetterlingslarven. *BfN-Skripten* 157, 1-143.
- Hofmann F. (2007) Kurzgutachten zur Abschätzung der Maispollendeposition in Relation zur Entfernung von Maispollenquellen mittels technischem Pollensammler PMF. BfN, Bonn. www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/themen/agrogentechnik/07-05-31_Gutachten_Pollendeposition_end.pdf
- Hofmann F., Janicke L., Janicke U., Wachter R., Kuhn U. (2009) Modellrechnung zur Ausbreitung von Maispollen unter Worst-Case-Annahmen mit Vergleich von Freilandmessdaten. BfN Bonn, http://www.bfn.de/fileadmin/MDB/documents/service/Hofmann_et_al_2009_Maispoller
- Jasinski J.R., Easley J.B., Young C.E., Kovach J., Wilson H. (2003) Select nontarget arthropod abundance in transgenic and nontransgenic field crops in Ohio. *Environ. Entomol.* 32, 407-413.
- Kramarz P.E., De Vaufleury A., Zygmunt P.M.S., Verdun C. (2007) Increased response to cadmium and *Bacillus thuringiensis* maize toxicity in the snail *Helix aspersa* infected by the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. *Environ. Tox. Chem.*, 26, 73-79.
- Lang, A., Ludy C., Vojtech E. (2004). Dispersion and deposition of Bt maize pollen in field margins. *J. Plant Dis. Prot.*, 111, 417-428.
- Lundgren J.G., Wiedenmann R.N. (2005) Tritrophic interactions among Bt (Cry3Bb1) corn, aphid prey, and the predator *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Environ. Entomol.*, 34, 1621-1625.
- OECD (1998) *Daphnia magna* reproduction test. OECD Guidelines for Testing of Chemicals, 211, 1-21.
- Parrott W. (2008) Study of Bt impact on caddisflies overstates its conclusions: response to Rosi-Marshall et al.. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105, 7, E10.
- Pilcher C.P., Obrycki J.J., Rice M.E., Lewis L.C. (1997) Preimaginal development, survival and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.*, 26, 446-454.
- Pleasants J.M., Hellmich R.L., Dively G.P., Sears M.K., Stanely-Horn D.E., Mattila H.R., Foster J.E., Clark T.L., Jones G.D. (2001) Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 98, 11919-11924.

- Poza de la M., Pons X., Farinós G.P., López C., Ortego F., Eizaguirre M., Castanera P., Albajes R. (2005) Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Prot.*, 24, 677-684.
- Raps A., Kehr J., Gugerli P., Moar W.J., Bigler F., Hilbeck A. (2001) Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Mol. Ecol.*, 10, 525-533.
- Ricroch A., Bergé J.B., Kuntz M. (2009) Is the German suspension of MON810 maize cultivation scientifically justified? *Transgenic Res.*, <http://www.springerlink.com/content/r6052757667ng364/fulltext.pdf>.
- Rosi-Marshall E.J., Tank J.L., Royer T.V., Whiles M.R., Evans-White M., Chambers C., Griffiths N.A. (2007) Toxins in transgenic crop by-products may affect headwater stream ecosystems. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 104, 204 – 208.
- Rosi-Marshall E.J., Tank J.L., Royer T.V., Whiles M.R. (2008) Reply to Beachy et al. and Parrott: Study indicates Bt corn may affect caddisflies. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105, E11.
- Saxena D., Stotzky G. (2001) Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *Amer. J. Bot.*, 88, 1704-1706.
- Schmidt J.E.U., Braun C.U., Whitehouse L.P., Hilbeck A. (2009) Effects of activated Bt transgene products (Cry1Ab, Cry3Bb) on immature stages of the ladybird *Adalia bipunctata* in laboratory ecotoxicity testing. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 56, 221-228.
- Shirai Y., Takahashi M. (2005) Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudozizeeria maha*. *Appl. Entomol. Zool.*, 40, 151-159.
- Wold S.J., Burkness E.C., Hutchison W.D., Venette R.C. (2001) In-field monitoring of beneficial insect populations in transgenic corn expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin. *J. Entomol. Sci.* 36, 177-187.
- Wolt J.D., Peterson R.K.D., Bystrak P., Meade T. (2003) A screening level approach for nontarget insect risk assessment: Transgenic Bt corn pollen and the monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae). *Environ. Entomol.*, 32, 237-246.
- Wraight C.L., Zangerl A.R., Carroll M.J., Berenbaum M.R. (2000) Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 97, 7700-7703.
- ZKBS (2007) Stellungnahme der ZKBS zum Bescheid des BVL (Teilweises Ruhen der Inverkehrbringens-Genehmigung des gentechnisch veränderten Maises MON810) vom 27. April 2007. Az. 6788-02-13 vom Juli 2007. http://www.bvl.bund.de/nn_1071104/DE/06_Gentechnik/093_ZKBS/01_Allg_Stell

[1] <http://www.biosicherheit.de/de/mais/oekosystem/652.doku.html>

[2] <http://www.agbios.com/dbase.php?action=Submit&evidx=9>