

Recherche und Analyse von Indizien bezüglich humantoxikologischer Risiken von gentechnisch veränderten Soja- und Mais-Pflanzen

DI Werner Müller

**Unter Mitarbeit von
Mag. Marion Dolezel**

**eco-risk
Büro für Ökologische Risikoforschung**

***Endbericht
Wien, 10 April 2004***

Im Auftrag des Landes Oberösterreich

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	6
1 Einleitung und Hintergrund der Studie	9
2 Methodik	10
3 Ergebnisse und Diskussion	11
3.1 Quantitative Darstellung der Ergebnisse der Literaturdatenbanksuche	11
3.2 Sicherheitsprüfung von RR-Soja im Rahmen des Zulassungsverfahrens	14
3.2.1 Einleitung	14
3.2.2 Sicherheitsnachweis gemäss den Unterlagen des Antragstellers	14
3.2.3 Gentechnischer Hintergrund.....	15
3.2.4 Toxin-Gleichwertigkeit	16
3.2.5 Toxikologische Studien mit dem Protein	17
3.2.6 Futtermittlungsstudien mit RR-Soja	18
3.2.7 Inhaltsstoffanalysen – substantielle Äquivalenz von RR-Soja	23
3.2.8 Fazit Sicherheitsprüfung von RR-Soja im Rahmen des Zulassungsverfahrens	28
3.3 Exkurs: Allgemeine Überlegungen zur Toxizitätsprüfung von GVO	29
3.3.1 Einleitung	29
3.3.2 Unklare Umsetzung des Prinzips der Substantiellen Äquivalenz.....	30
3.3.3 Mangelnde wissenschaftliche Aussagekraft des Prinzips der Substantiellen Äquivalenz	31
3.3.4 Geringe Aussagekraft von Test mit dem bakteriell exprimierten Protein versus Tests mit der ganzen transgenen Pflanze	31
3.3.5 Geringe Aussagekraft von in vitro Verdauungsstudien	33
3.3.6 Geringe Aussagekraft von akuten Toxizitätstests.....	34
3.3.7 Empfehlungen für Chronische toxikologische Tests	34
3.3.8 Fazit.....	35
3.4 Toxikologische Studien mit dem Totalherbizid Glyphosat	36
3.4.1 Versuche des Herbizidherstellers	36
3.4.2 Diskussion	36
3.5 Studien nach der Zulassung von RR-Soja	37
3.5.1 Toxikologisch relevante Effekte von RR-Soja	37
3.5.2 Insertionen	38
3.5.3 Neue Vergleichsversuche Inhaltsstoffzusammensetzung	39
3.5.4 Expressionsmuster von RR-Soja	41
3.5.5 Effekte von Glyphosat oder Glyphosat-hältigen Herbiziden	42
3.5.6 Rückstände von Glyphosat auf Pflanzen	45
3.5.7 Indirekte Effekte von Glyphosat.....	45
3.6 Insektenresistenter Mais (Bt-Mais)	47
3.6.1 Durchgeführte Studien mit den Proteinen Cry1A(b) oder Cry1A(c).....	47
3.6.2 Diskussion	48
3.7 „anecdotal evidence“	51
3.7.1 Einleitung	51
3.7.2 Analyse der Sachverhalte	51
3.7.3 Diskussion	55
3.8 EXKURS - Risiken transgener Organismen durch synthetische RNA	55
3.8.1 Neue Rolle der RNA	55
3.8.2 Überraschende Stabilität von RNA außerhalb von Zellen – RNA - Kommunikation	56
3.8.3 DNA und RNA Aufnahme über den Verdauungstrakt.....	56
3.8.4 Mögliche Risiken des Transfers von DNA und RNA	57
3.8.5 Zusammenfassung	59
4 Fazit und Empfehlungen	60
4.1 Fazit	60
4.1.1 Die Sicherheit von gentechnisch veränderten Lebensmitteln ist auf Basis der vorliegenden Daten nicht garantiert.	60

4.1.2	Erste histopathologische Untersuchungen weisen auf mögliche gesundheitsrelevante Effekte hin.	60
4.1.3	Nahrungs-DNA/RNA wird in das Lymphsystem und die Blutbahn aufgenommen - bisher unbekannte Funktion	61
4.1.4	Internet-Berichte bezüglich direkter Gesundheitsgefährdungen durch gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohnen sowie gentechnisch veränderten Mais konnten nicht verifiziert aber auch nicht falsifiziert werden	61
4.1.5	Chemische vergleichende Inhaltsstoffanalysen sagen nichts über die Sicherheit eines GVOs aus	62
4.2	Empfehlungen	62
4.2.1	Rasche Neubewertung der bisher zugelassenen GVOs und des Pestizids Roundup	62
4.2.2	Vorschlag für eine Verbesserung der Risikoabschätzung von GVO	63
4.2.3	Unabhängige Risikoforschung, Neuzusammensetzung der European Food Safety Agency	63
5	Glossar	64
6	Literaturverzeichnis	66
7	Anhang	74

Tabellenübersicht

<i>Tabelle 1. Ergebnisse der Literatursuchung im Zeitraum Mai bis August 2003</i>	11
<i>Tabelle 2. Übersicht über die vom Antragsteller durchgeführten Analysen mit RR-Soja</i>	15
<i>Tabelle 3. Futtermittelverwertungsstudien mit RR-Soja: Versuchsdesign</i>	19
<i>Tabelle 4. Futtermittelverwertungsstudien mit RR-Soja: Ergebnisse mit signifikanten Unterschieden</i>	19
<i>Tabelle 5. Inhaltsstoffanalysen mit RR-Soja: Versuchsdesign</i>	23
<i>Tabelle 6. Inhaltsstoffanalysen mit RR-Soja: Ergebnisse mit signifikanten Unterschieden</i>	25
<i>Tabelle 7. Statistisch signifikante Effekte von Glyphosat in Toxizitätstests zitiert in WHO/IPCS 1994, WHO/FAO 1996</i>	37
<i>Tabelle 8. Histopathologische Effekte von RR-Soja im Tierversuch</i>	38
<i>Tabelle 9. Inhaltsstoffanalysen von RR-Soja nach der Zulassung</i>	41
<i>Tabelle 10. Nachweis der Expression des EPSPS-Proteins in RR-Soja</i>	42
<i>Tabelle 11. Negative Effekte von Glyphosat bzw. Glyphosat-hältigen Formulierungen (Roundup)</i>	44
<i>Tabelle 12. Effekte von Bt-Mais im Rahmen von Fütterungsstudien oder Toxizitätstests</i>	47
<i>Tabelle 13. Beobachtete oder vermutete Effekte beim Menschen</i>	51
<i>Tabelle 14. Beobachtete Effekte bei Tieren</i>	54
<i>Tabelle A 1. Toxizitätsstudien mit RR-Soja</i>	75
<i>Tabelle A 2. Analyse der inhaltsstofflichen Zusammensetzung von RR-Soja</i>	77
<i>Tabelle A 3. Inhaltsstoffe der RR-Sojabohne, deren Werte außerhalb der angeführten Literaturwerte liegen (Padgett et al. 1996). Fett markierte Werte zeigen an, ob die gemessenen Werte unter- oder überhalb der Literaturwerte liegen.</i>	79
<i>Tabelle A 4. Vorgeschlagene (OECD 2001) und untersuchte Parameter der Inhaltsstoffzusammensetzung von RR-Soja, das für den menschlichen Konsum bestimmt ist</i>	81
<i>Tabelle A 5. Vorgeschlagene (OECD 2001) und untersuchte Parameter der Inhaltsstoffzusammensetzung von RR-Soja, das zur Verfütterung bestimmt ist</i>	83
<i>Tabelle A 6. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Kurzzeitstudien (aus WHO/IPCS 1994, WHO 1996, WHO 2003)</i>	84
<i>Tabelle A 7. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Langzeitstudien (aus WHO/IPCS 1994, WHO 1996, WHO 2003)</i>	85
<i>Tabelle A 8. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Reproduktive oder Entwicklungstoxizität (Teratogenität) (aus WHO/IPCS 1994, WHO 1996, WHO 2003)</i>	86

<i>Tabelle A 9. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Mutagenitätstests (aus WHO/IPCS 1994)</i>	<i>87</i>
<i>Tabelle A 10. Unabhängige Studien zur Toxizität von Glyphosat oder Glyphosat-hältigen Herbizidformulierungen</i>	<i>88</i>
<i>Tabelle A 11. Effekte von Bt-Mais in Fütterungsstudien bzw. Toxizitätstests.....</i>	<i>91</i>

Zusammenfassung

Gentechnisch veränderte Sojabohnen und Maispflanzen, sowie Öle aus Raps, Mais, Soja und Baumwolle wurden ab 1996 und in den darauffolgenden Jahren in Europa für den täglichen Konsum zugelassen. Es mehren sich jedoch Berichte, die erhebliche Schwachstellen in der Risikoabschätzung von gentechnisch veränderten Pflanzen und deren Produkten feststellen. Darüberhinaus wurde in unterschiedlichen Medien über neue Risiken von gentechnisch veränderten Organismen berichtet. Auf Basis dieser Vorinformation schien es notwendig, den Stand des Wissens zu recherchieren und auszuwerten. In der vorliegenden Arbeit wurden die vom Antragsteller im Rahmen der Zulassung vorgelegten Untersuchungen der gentechnisch veränderten, herbizidtoleranten (Roundup Ready) Sojabohne, sowie neuere toxikologisch relevante Studien ausgewertet. Für die Zulassungsanträge von gentechnisch veränderten Maissorten wurde eine Analyse der Qualität der Risikoabschätzung vor kurzem von Spök *et al.* (2002) und Gaugitsch *et al.* (2003) durchgeführt. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich bei Mais auf toxikologische Studien und Futtermittlungsstudien. Auf eine Analyse anderer toxikologischer Parameter, wie Insertionen, Inhaltsstoffanalysen udgl. wurde verzichtet.

Die vorliegende Studie kommt zu dem Schluss, dass die Datenlage zur Abschätzung der Lebensmittelsicherheit sowohl für die gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohne als auch für gentechnisch veränderten Bt-Mais unzureichend ist. Wesentliche Informationen, die die Sicherheit eines Lebensmittels belegen sollen (z.B. chronische toxikologische Studien) wurden von den Antragstellern im Rahmen des Zulassungsverfahrens nicht vorgelegt und auch von den Behörden nicht eingefordert.

Studien, die sich außerhalb des Zulassungsverfahrens mit humantoxikologischen Fragen beschäftigen, sind rar. Für die Roundup-Ready-Sojabohne wurden nur zwei Studien gefunden, die dem Anspruch von chronischen toxikologischen Tests (8 Monate) annähernd gerecht werden können. Histopathologische Befunde weisen bei Mäusen eine Veränderung der Enzymaktivität in der Bauchspeicheldrüse sowie Veränderung der Form und Größe der Zellkerne in Leberzellen nach. Diese Effekte traten jedoch erst ab dem vierten Versuchsmonat (120 Tage) auf. Dies zeigt, wie wichtig es ist, die Versuchsdauer auszudehnen, und wie begrenzt aussagekräftig Kurzzeit-Versuche sind. Ursache und mögliche Implikationen der veränderten Leberzellkerne und der veränderten Enzymaktivität sind bis dato unklar.

Das Bt-Toxin wird nicht, wie bisher in *in-vitro*-Studien gezeigt, in wenigen Sekunden bis Minuten im Magen abgebaut. In zwei *in-vivo*-Studie mit Schweinen, und Kühen ließ sich das Toxin im gesamten Darmbereich und im Kot der Tiere nachweisen. Zudem ist das Bt-Toxin bei Mäusen in der Lage, an die Epithelzellen der Darmwand zu binden, und eine Immunantwort auszulösen. Bisher haben Antragsteller ein chronisches Risiko aufgrund der vermuteten kurzen Verweildauer des Bt-Toxins im Magen-Darm-Trakt ausgeschlossen. Diese Ansicht muss, auf Basis der neueren Erkenntnisse, nun völlig revidiert werden. Chronische Effekte durch Bt-Mais sind nicht von vornherein auszuschließen.

Mehrere Studien weisen DNA-Bruchstücke aus der Nahrung von Schweinen, Hühner, Kühe in verschiedenen Organen, dem Blut und vor allem den Lymphgefäßen nach. Diese Befunde weisen darauf hin, dass in der Risikoabschätzung von GVO der bisherige Fokus auf gesundheitliche Wirkungen durch Proteine möglicherweise zu eng gefasst war. Zwischen DNA/RNA der Nahrung und dem Immunsystem von Säugetieren besteht offenbar ein engerer Zusammenhang als bisher gedacht wurde.

Berichte über negative Gesundheitseffekte von GVO, die in unterschiedlichen Medien häufig erwähnt werden, wurden im Rahmen dieser Studie recherchiert und zusammengefasst. Die überwiegende Mehrzahl dieser Berichte konnte nicht durch wissenschaftliche Studien belegt werden. So konnte z.B. nicht bestätigt werden, dass seit der Einführung der gentechnisch veränderten Sojabohne ein Anstieg von Soja-Allergien beobachtet wurde.

Die Sicherheitsbewertung des mit der herbizidresistenten Sojabohne notwendigerweise anzuwendenden Herbizids Glyphosat, ist ebenso unzureichend. Bereits in früheren toxikologischen Tests von Glyphosat wurden negative gesundheitliche Effekte ignoriert. Obwohl dosisabhängige, statistisch signifikante Effekte, wie z.B. testikuläre Zelltumore, nachgewiesen wurden, wurde dieses Ergebnis, wie auch andere signifikante Effekte, nicht berücksichtigt. Eine Reihe von neueren, unabhängigen Studien lässt ein Risikopotenzial von Glyphosat-hältigen Herbizidformulierungen für die menschliche Gesundheit vermuten.

Auf Basis dieser Befunde wird eine Verbesserung der Risikoabschätzung von GVO empfohlen. Chronische Studien (Kanzerogenität, Reproduktionstoxizität) sollten ein verpflichtender Bestandteil der Risikoabschätzung sein. Ebenso wird eine rasche Neubewertung der derzeit am Markt befindlichen GVO empfohlen, da mit den bisher angewendeten Verfahren die Sicherheit der GVO im Rahmen des täglichen Konsums über mehrere Jahre nicht gewährleistet werden kann. Da die EU-Behörden im Rahmen des Zulassungsverfahrens keine chronischen toxikologischen Studien einfordern und die Antragsteller solche Studien nicht auf freiwilliger Basis liefern, ist Risikoforschung dringend vonnöten, die sich mit den bisher unbeantworteten Fragen der Lebensmittelsicherheit von GVO auseinandersetzt.

Summary

All approved genetically modified organisms (GMOs) are regarded as safe for daily human consumption. On the other hand, reports on possible hazards of GMOs have been circulated through various media. This study reviews the scientific literature on the health hazards of the Roundup Ready soybean and Bt-Maize crops.

The toxicological assessment of the application for authorisation of Roundup Ready soybean was analyzed.

In the case of Bt-maize a thorough investigation of the application for authorisation has recently been carried out, by an Austrian research group, and is therefore not included in this study. However, some of the latest food conversion studies of Bt-maize has been investigated. The data shows that valid information on the chronic toxicity potential of Roundup Ready soybeans and Bt-maize varieties is still missing. The main focus in the risk assessment of GMOs is based on the principle of substantial equivalence. This principle is an unproven hypothesis which infers human health hazards (including chronic hazards) from a comparison of ingredients between the genetically modified variety and the conventional counterpart. If no differences are detected the GMO is regarded as safe on the basis of this unproven hypothesis. In general, there is no consistency in the methods and the interpretations when substantial equivalence is claimed.

Independent and long term research with rats, which has been undertaken after the approval of the Roundup Ready soybean and studies with Bt-maize varieties, shows that potential hazards may have been overlooked due to insufficient and short term test methods before the approval process. Several reports on the human health hazards of Roundup Ready soybeans, such as a rise of allergies, have been investigated. No published scientific study has been found, that supports or rejects this “anecdotal evidence”.

It is suggested that the risk assessment of GMO should be based on regular chronic toxicity testing, using the whole plant. Furthermore, an immediate re-evaluation of already approved GMOs is highly recommended. Independent risk research is needed in order to address these safety questions, which are currently not addressed during the authorisation process of GMOs.

1 Einleitung und Hintergrund der Studie

*Many evaluations and studies have been carried out. All of these have shown that there is **no risk** to consumers from eating GM products.*

Moreover, all GM substances authorised for use in the EU have undergone rigorous scientific evaluations before being put into use.

Unfortunately many misunderstandings related to risk perception remain among European consumers. We need to calm the debate about GMOs. Consumers need to be informed by scientific facts. (Interview David Byrne with Le Progrès de Lyon, 10 April 2003, www.europa.eu.int)

Mehrere transgene Pflanzen und deren Produkte sind für Lebens- bzw. Futtermittelzwecke zugelassen (Gentechnikregister unter www.gentechnik.gv.at). Alle zugelassenen GVO bzw. GVO-Produkte wurden einer amtlichen und rigorosen Sicherheitsbewertung unterzogen (siehe obiges Zitat von EU-Kommissar Byrne). Alle zugelassenen Produkte wurden im Rahmen der Risikobewertung als sicher eingestuft und somit von der EU-Kommission nach Abstimmung unter den Mitgliedsstaaten für den unbeschränkten Konsum freigegeben. Einwände bzw. Sicherheitsbedenken einzelner Mitgliedsstaaten konnten im Rahmen des Zulassungsverfahrens nicht immer vollständig ausgeräumt werden, weshalb mehrere Staaten nationale Importverbote erlassen haben (siehe www.gentechnik.gv.at bzw. www.transgen.de).

Den ersten Hintergrund der Studie bildete die Tatsache, dass die gegenwärtige Form der amtlichen Risikobewertung unter den Mitgliedstaaten umstritten ist, wie z.B. die zur Zeit immer noch aufrechten nationalen Importverbote von Österreich, Frankreich, Luxemburg, Deutschland, Italien und Großbritannien zeigen. Daneben weisen auch wissenschaftliche Studien auf deutliche Mängel der amtlichen Risikobewertung von GVO hin (Mueller et al. 1999, Millstone et al. 1999a, Millstone und van Zwanenberg 2000, Schenkelaars 2002, Spök et al. 2002a, Millstone 2002b, Gaugitsch et al. 2003). Aber auch wissenschaftliche BeraterInnen von NGOs haben die Mängel im amtlichen Zulassungsverfahren ausführlich aufgezeigt (Diamond 2001).

Den zweiten Hintergrund lieferten mehrere Berichte in den unterschiedlichsten Medien (Zeitungen, Internet) über humantoxikologische Effekte von GVO.

Den dritten Hintergrund bildet die Tatsache, dass die bereits zugelassenen GVOs bis zu dreimal täglich über mehrere Jahre hinweg konsumiert worden sind und der Konsum sich auf weitere Jahre bzw. die gesamte Lebenszeit der EuropäerInnen erstrecken wird.

Lebensmittel, die von allen Bevölkerungsschichten (Kleinkinder, Jugendliche, Erwachsene, ältere und kranke Personen) täglich verzehrt werden, müssen sicher sein und rigoros geprüft werden, will man größere Gesundheitsschäden vermeiden. Dies hat sich an ehemals amtlich zugelassenen chemischen Substanzen wie Asbest, DDT, Vinclozolin, Lindan und andere mittlerweile verbotenen Pestiziden gezeigt. Bei diesen Substanzen wurden die frühen Warnungen einzelner kritischer Wissenschaftler von der Industrie, den Behörden und anderen Wissenschaftlern ignoriert bzw. Effekte dementiert, wie der Bericht der Europäischen Umweltagentur (EEA 2001) zeigt. Es ist also wichtig, erste Indizien ernst zu nehmen und ihnen möglichst früh nachzugehen, damit die Fehler bei Pestiziden nicht auch bei GVO wiederholt werden.

Daher war es Ziel dieser Arbeit, Indizien (*anecdotal evidence*) für humantoxikologische Risiken von gentechnisch veränderten Soja- und Maispflanzen systematisch zu recherchieren und auszuwerten, um im Sinne eines Frühwarnsystems (Early Warning) einen möglichst vollständigen Überblick über potenzielle humantoxikologisch relevante Risiken zu geben.

Die von Spök *et al.* (2002) und Gaugitsch *et al.* (2003) durchgeführten Analysen von Zulassungsanträgen bezüglich gentechnisch veränderten Pflanzen umfassten mehrere gentechnisch veränderte Mais- und Raps-Sorten. Die zugelassene gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohne wurde im Rahmen dieser Studien nicht berücksichtigt. Um ein möglichst vollständiges Bild über

**Hintergrund der Studie:
mangelhafte
Risiko-abschätzung und
Hinweise auf
humantoxikologische
Risiken**

gesundheitliche Risiken der gentechnisch veränderten Roundup-Ready-Sojabohne zu erhalten, wurden in der vorliegenden Studie auch die humantoxikologisch relevanten Studien des Zulassungsverfahrens (vom Antragsteller als Beleg für die Sicherheit vorgelegt und von den Behörden akzeptiert) in die Analyse miteinbezogen.

Diese ausführliche Darstellung wurde für gentechnisch veränderten Mais nicht gewählt, da - wie oben erwähnt - Antragsunterlagen von drei transgenen Maissorten (Bt11, GA21 und NK603) bereits in den Studien von Spök *et al.* (2002) und Gaugitsch *et al.* (2003) begutachtet und Schwachstellen in deren Risikobewertung aufgezeigt wurden.

2 Methodik

Die in der vorliegenden Studie evaluierten Daten zur gentechnisch veränderten Sojabohne basieren auf dem Antrag der Roundup-Ready-Sojabohne, der beim britischen Advisory Committee on Novel Foods and Processes (ACNFP) eingereicht wurde (Padgette, Waters *et al.*: *Application to the United Kingdom ACRE for Review of the Safety of Glyphosate Tolerant Soybeans by the Agricultural Group of Monsanto Company*, im folgenden zitiert als Padgette *et al.* 1994).

Als weitere Quellen sowohl für Soja als auch für Mais, dienten wissenschaftliche Datenbanken, unpublizierte wissenschaftliche Meldungen, Homepages verschiedenster Organisationen (Genet, Soil Association, British Medical Association, British Birth Defects Foundation, Food Standard Agency, Organic Consumers Association etc.), Suchmaschinen, Internetmeldungen und Zeitungsberichte sowie verschiedenste öffentlich zugängliche Dokumente der WHO/FAO und ihrer Unterorganisationen und Komitees (z.B. IPCS für die Bewertungen von Glyphosat). Folgende wissenschaftliche Datenbanken wurden für die Recherche herangezogen: Pubmed, Medline, High Wire Stanford, Biological Abstracts, Life Sciences. In diesen Datenbanken wurde im Zeitraum von Ende Mai bis Ende August 2003 nach folgenden Schlagwörtern in unterschiedlichen Kombinationen gesucht:

Soybean, GM soybean, RR soybean, soya, GM soya, transgenic soybean, transgenic soya, GM plants, GMO, maize, GM maize, Bt maize, transgenic maize, health, health effects, adverse effects, toxicity, human toxicity, toxic, embryotoxic, neurotoxic, teratogenic, carcinogen, allergic, allergy, allergen, hormone, hormonal, developmental, food safety, nausea, digestion, feeding, food, epidemiologic, disorders, allergy rise, allergy increase, food related illness, irritable bowel syndrome, pseudopregnancy.

Quellen der Recherche:

- Antragsunterlagen der RR-Sojabohne
- Wissenschaftliche und nicht-wissenschaftliche Datenbanken
- Homepages, Internetmeldungen
- Unpublizierte Meldungen
- Zeitungsartikel

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 QUANTITATIVE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE DER LITERATURDATENBANKSUCHE

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Anzahl der „Treffer“ bei der jeweiligen Schlagwortkombination. Die Auswahl der Publikationen für die vorliegende Studie richtet sich nach der Relevanz der Treffer für die Fragestellung, d.h. nur Studien, die tatsächlich negative Effekte von GVO im Rahmen von experimentellen Studien oder epidemiologischen Studien aufgrund des Titels oder des Abstracts vermuten ließen, wurden ausgewählt. Da sich die Ergebnisse von Schlagwortsuchen zwischen den unterschiedlichen Datenbanken und teilweise zwischen den Schlagwortsuchen überschneiden, ist die Gesamtausbeute an recherchierten Studien geringer, als die Anzahl der ausgewählten Studien aus den Tabellen vermuten lässt. Zudem wurden häufig Zitate und Literaturhinweise aus verschiedenen anderen Quellen (Zeitungsartikeln, Homepages etc.) verwendet, die teilweise nicht in der Datenbanksuche aufschienen.

Tabelle 1. Ergebnisse der Literaturdatenbanksuche im Zeitraum Mai bis August 2003

DATENBANK:	Suchbegriff		Ergebnis (Anzahl records)	
GENET	Human toxicity		75	
	Evidence for toxicological effects		9	
	Epidemological AND toxic		0	
	Epidemological AND toxicological		0	
	Nausea		4	
	GM food AND nausea		0	
	Diarrhea		12	
	Vomiting		5	
DATENBANK:	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	
Highwire Stanford				
	GM soya	Health	1	
	GM soya	Feeding	1	
	GM soya	Toxicity	5	
	Roundup Ready Soya		0	
	Transgenic soya		5	
	Health effects	GMO	4	
DATENBANK:	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	Records ausgewählt
PubMed				
Allgemein	GMO	Health effects	3	0
	GM plants	Health effects	33	2
	GMO	Toxicity	3	0
	GMO	Food safety	11	0
	Allergy rise	GMO	0	0
	Allergy rise	GM enzyme	5	0
Soja	GM soya	Health	3	2
	GM soya	Chicken	3	0
	GM soya	Epidemiology	0	0
	GM soya	Health effects	2	1
	GM soya	Human toxicity	0	0
	GM soya	Toxicity	5	3
	GM soya	Food safety	3	2
	GM soya	Digestion	3	1
	Transgenic soya	Epidemiology	0	0
	Transgenic soya	Toxicity	3	0
	Transgenic soya	Human toxicity	0	0
	Transgenic soya	Nausea	0	0
	Transgenic soya	Digestion	2	0
	Transgenic soya	Food safety	13	1

	Transgenic soya	Feedstuff	0	0
	Soya	Foodstuff	5	1
	Soya	Feeding stuff	1	0
	Soya	Human toxicity	75	1
	Roundup Ready soya		21	2
	Roundup Ready soya	Toxicity	1	1
	Roundup Ready	Health effects	0	0
	Roundup Ready	Food	28	4
	Roundup Ready	Feeding	6	4
	Roundup Ready	Human toxicity	1	1
	Roundup Ready	Health effects	2	0
	GM/transgenic soya	embryotoxic	0	0
	GM/transgenic soya	Neurotoxic	0	0
	GM/transgenic soya	Teratogenic	0	0
	GM/transgenic soya	Carcinogenic	1	0
	GM/transgenic soya	cancer	7	0
	GM/transgenic soya	Allergic	2	0
	GM/transgenic soya	Allergen	5	0
	GM/transgenic soya	Allergy rise	0	0
	GM/transgenic soya	developmental	13	0
	GM/transgenic soya	Developmental disorder	0	0
	GM/transgenic soya	hormone	6	0
	Diarrhea	Soya consumption	8	0
	Diarrhea	GM soya	3	0
	Birth defects	soya	2	1
	Birth defects	GM/transgenic soya	0	0
	Birth defects	Roundup Ready	0	0
	Allergy	GM/transgenic soya	4	0
	Allergy rise	Soy consumption	1	0
	Roundup Ready	Allergy	0	0
	increase	GM soya consumption	2	0
	increase	Soya allergy	33	1
	Stomach disorder	Soya consumption	0	0
DATENBANK: PubMed	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	Records ausgewählt
Totalherbizid	Glyphosate	Toxic effects	21	5
	Glyphosate	Human toxicity	21	5
	Glyphosate	Health effects	11	5
	Glyphosate	embryotoxic	0	0
	Glyphosate	Neurotoxic	0	0
	Glyphosate	Teratogenic	2	1
	Glyphosate	Carcinogenic	1	1
	Glyphosate	cancer	5	2
	Glyphosate	Allergen	4	0
	Glyphosate	Allergy rise	0	0
	Glyphosate	developmental	6	4
	Glyphosate	Developmental disorder	0	0
	Glyphosate	Immune function	3	3
	Glyphosate	Endocrine	1	1
DATENBANK: PubMed	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	Records ausgewählt
Mais	GM maize	Health effects	3	0
	GM maize	Food safety	10	1
	GM maize	Epidemiology	0	0
	Bt maize	Health effects	2	0
	Bt maize	Feeding	15	1
	Bt maize	Human toxicity	0	0
	Bt maize	Human health	1	0
	Bt maize	Feeding	15	1
	Bt maize	Toxicity	5	0
	Bt corn	Health effects	0	0

	Bacillus thuringiensis	Human health	25	3
	Transgenic maize	Health	2	0
	Transgenic maize	Human health	1	0
	Transgenic maize	Toxicity	10	0
	Transgenic maize	Epidemiology	0	0
	GM/transgenic maize	embryotoxic	0	0
	GM/transgenic maize	Neurotoxic	0	0
	GM/transgenic maize	Teratogenic	0	0
	GM/transgenic maize	Carcinogenic	0	0
	GM/transgenic maize	Cancer	2	0
	GM/transgenic maize	Allergic	1	0
	GM/transgenic maize	Allergen	3	0
	GM/transgenic maize	Allergy rise	0	0
	GM/Transgenic maize	Developmental disorder	0	0
	GM/Transgenic maize	Hormone	4	0
	Allergy rise	Maize consumption	0	0
	Stomach disorder	Maize consumption	0	0
	Diarrhea	Maize consumption	8	0
	Diarrhea	GM maize	2	0
	Food related illness	Maize	1	0
	Irritable bowel syndrome	maize	1	1
	Pseudopregnancy	maize	1	0
	Food preference	maize	5	0
DATENBANK: biological abstracts	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	Records ausgewählt
Soja	GM soybean Soybean	Human toxicity	8 1	1 1
Mais	Bt maize Bt maize	Toxicity	35 2	1 0
DATENBANK: Life Sciences	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	Records ausgewählt
Soja	Soybean Genetically modified Roundup Ready soybean HR Soybean Soybean toxicity Soybean Soybean	Toxicity Toxic effects Adverse effects	0 1 2 0 0 8 16	0 0 0 0 0 0 0
Mais	Bt maize GM maize Maize Maize	 Toxic effects Adverse effects	12 1 10 10	0 0 0 0
DATENBANK: Medline	Suchbegriff	Verknüpfung AND	Ergebnis (Anzahl records)	Records ausgewählt
Allgemein	Transgenic	human toxicity	0	0
Soja	GM soybean soybean toxicity genetically modified soybean Soybean Soybean Soy Soy Soybean herbicide resistant soybean herbicide resistant soybean	 Toxicity, genetically human toxicity human toxicity toxic effects toxic effects	6 24 13 8 0 0 8 20 2 0	2 1 3 1 0 0 0 0 2 0
Mais	Bt maize Transgenic Transgenic Bt Bt	 Corn, adverse effects Maize, adverse effects Maize, adverse effects Maize, toxicity	12 6 2 1 2	0 0 1 1 0

Bt	human toxicity	0	0
Corn	human toxicity	0	0
Maize	human toxicity	0	0
Maize	toxic effects	10	0

Die Trefferanzahl bei der Schlagwortsuche zeigt, dass nur wenige Studien in der wissenschaftlichen Literatur vorhanden sind, die experimentell oder epidemiologisch die Toxizität von RR-Soja oder Mais evaluiert haben. Auf den Umstand, dass es zwar "viele Meinungen, aber wenige Daten" gibt, haben schon früher Domingo (2000) und Domingo Roig & Gomez Arnaiz (2000) hingewiesen und erst kürzlich auch Pryme & Lembcke (2003), die nur zehn publizierte Studien fanden, in denen in-vivo mögliche Gesundheitseffekte von GV Nahrungs- bzw. Futtermitteln evaluiert wurden. Auch Spök *et al.* (2002) und Gaugitsch *et al.* (2003) haben aufgezeigt, dass im Rahmen des Zulassungsverfahrens der Ausschluss humantoxikologischer Risiken großteils auf annahmebasierter Argumentation beruht und nicht auf Experimenten von unabhängigen Institutionen.

"viele Meinungen – wenige Daten" (Domingo 2000)

3.2 SICHERHEITSPRÜFUNG VON RR-SOJA IM RAHMEN DES ZULASSUNGSVERFAHRENS

3.2.1 EINLEITUNG

Die Zulassung der gentechnisch veränderten, herbizidtoleranten Sojabohne (Roundup-Ready- oder RR-Sojabohne) wurde erstmals 1994 in Großbritannien beantragt (Zulassungsantrag C/UK/94/M3/1, Padgett *et al.* 1994). Das britische ACNFP (Advisory Committee on Novel Foods and Processes) hat auf Basis der Antragsunterlagen von Monsanto im Februar 1995 den Zulassungsantrag positiv beurteilt und gesundheitliche Risiken durch den Verzehr von RR-Sojaprodukten ausgeschlossen. Die EU-Kommission und die Mehrzahl der Mitgliedsstaaten haben sich dieser Ansicht angeschlossen. Die RR-Sojabohne wurde im Mai 1996 zum Inverkehrbringen mit Einschränkungen (Import, Lagerung und Verarbeitung, jedoch kein Anbau) nach der Richtlinie 90/220/EWG zugelassen.

Die vorliegende Evaluierung beinhaltet sowohl die Antragsunterlagen, die von Monsanto für die Zulassung der RR-Sojabohne dem ACNFP vorgelegt wurden, als auch unabhängige Studien, die in internationalen wissenschaftlichen Journalen publiziert wurden. Ein Großteil der Daten, die in den Antragsunterlagen 1994 angeführt sind, wurden zu einem späteren Zeitpunkt in wissenschaftlichen Journalen publiziert. Das trifft für die Beschreibung der herbizideresistenten Sojabohne (Padgett *et al.* 1995), für die Inhaltsstoffuntersuchungen (Padgett *et al.* 1996), für die Abschätzung endogener Allergenität (Burks and Fuchs 1995), für die akute Toxizitätsstudie (Harrison *et al.* 1996) und für die Fütterungsstudien der ganzen Sojabohne (Hammond *et al.* 1996) zu. Die Analyse der Untersuchungen umfasst daher die Daten, sowohl der ACNFP-Berichte als auch in der oben genannten Publikationen.

3.2.2 SICHERHEITSNACHWEIS GEMÄSS DEN UNTERLAGEN DES ANTRAGSTELLERS

Der Antragsteller legte den Behörden eine Reihe von Untersuchungen für den Nachweis der gesundheitlichen Unbedenklichkeit der Roundup-Ready-Sojabohne vor. Die Sicherheit der Roundup-Ready-Sojabohne sieht der Antragsteller aus folgenden Gründen gegeben:

1. Das Protein zeigt keine Aminosäuresequenzhomologie zu rund 2000 bekannten Toxinen.
2. Die *in-vitro* Verdauungsstudien des Proteins (Padgett *et al.* 1993, Technical report, Monsanto MSL 12738) geben eine Halbwertszeit des Proteins von weniger als 15 Sekunden im Magen und weniger als 10 Minuten im Darm an. Zudem wird angegeben, dass keine enzymatische Aktivität bei pH Werten von weniger als pH 5 nachgewiesen werden konnte (Maximalaktivität bei pH 9 –9,5).

Aminosäuresequenzvergleich, in-vitro Verdauungsstudie, akuter Toxizitätsstudie, Fütterungsversuchen und substanzieller Äquivalenz sollen die Sicherheit der RR-Sojabohne belegen.

3. Eine akute Toxizitätsstudie mit Mäusen (Naylor 1993, Monsanto Report ML 92542) zeigte keine negativen Effekte bei Verabreichung von 572 mg/kg des CP4 EPSPS Proteins.
4. Fütterungsstudien wurden mit der ganzen GV Pflanze durchgeführt (siehe Kapitel 3.2.6), die die substantielle Äquivalenz der RR-Sojabohne belegen sollen.
5. Das Fehlen von Sekundäreffekten aufgrund der chemischen Analyse von Nährstoffen und Anti-Nutritiva (substantielle Äquivalenz, siehe Kapitel 3.2.7).

Zudem sind mehrere Studien zur Abschätzung der Allergenität der RR-Sojabohne im Zulassungsantrag erwähnt (Nachweis der qualitativen und quantitativen Äquivalenz der endogenen allergischen Proteine in der RR-Sojabohne, Nachweis der Proteingröße, Nachweis der Hitzeinstabilität, Verlust von funktioneller Aktivität und ELISA Reaktivität, Nachweis des Abbaus des Proteins im Verdauungstrakt von Säugern und Nachweis der Nicht-Glykolisierung sowie Nachweis fehlender Sequenzhomologie zu bekannten Allergenen).

Tabelle 2 zeigt die vom Antragsteller durchgeführten Analysen zur Risikoabschätzung der RR-Sojabohne. Abgesehen von der kommerzialisierten Linie 40-3-2 wird auch die Linie 61-67-2 und die nicht modifizierte Elternlinie in die Analysen miteinbezogen.

Tabelle 2. Übersicht über die vom Antragsteller durchgeführten Analysen mit RR-Soja

Anmerkung: Ein Kreuz in der jeweiligen Spalte gibt an, ob die Analyse mit der jeweiligen Linie bzw. dem Protein durchgeführt wurde (aus Padgett *et al.* 1995).

	GV Linie 40-3-2	GV Linie 61-67-1	Kontrolle Linie A5403	E. coli Protein
Gentechnischer Hintergrund				
Nachweis des EPSPS Gens	x		x	
Nachweis des E35S Promotors	x	x	x	
Nachweis des CmoVb Promotors	x	x	x	
Nachweis des GUS Gens	x	x	x	
Nachweis der Expressionshöhe in Blättern und Bohnen	x		x	
Inhaltsstoffvergleiche				
Rohe Sojabohnen	x	x	x	
Geröstetes Sojabohnenmehl	x	x	x	
Nicht geröstetes Sojabohnenmehl, Isolat, Konzentrat	x	x	x	
Sojabohnenöl	x	x	x	
Lecithin	x	x	x	
Allergenität und Toxizität				
Vergleich endogener Allergene der Sojabohne	x	x	x	
Vergleich EPSPS Protein aus <i>E. coli</i> und aus Sojabohnen		x		x
Akute Toxizität des EPSPS Proteins				x
<i>in vitro</i> Verdauungsstudie des EPSPS Proteins				x
Aminosäuren-Sequenzvergleich zu bekannten Toxinen		x (?)		
Fütterungsstudien	x	x	x	

Im folgenden werden diese Studien wiedergegeben und die Qualität der Aussagen analysiert.

3.2.3 GENTECHNISCHER HINTERGRUND

Die Transformation von Sojabohnen zur Herstellung der RR-Sojabohne erfolgte mit einem Vektor (Plasmid PV-GMGT04), der drei bakterielle Gene enthält: zwei CP4 EPSPS Gene und ein GUS Markergen. Des weiteren enthält der Vektor ein *nptII* Gen, das eine bakterielle Kanamycinresistenz vermittelt. Dieser Vektor wurde in die Sojabohnensorte A5403, eine kommerzielle Sorte, mittels

Partikelbeschleunigungsmethode eingebracht. Die untransformierte Sojabohnensorte A5403 wird in den Untersuchungen als isogene Elternlinie bzw. Kontrolle verwendet. Von den transformierten Pflanzen waren ursprünglich 316 erfolgreiche Transformationsereignisse (316 Linien). Davon wurden 14 Linien in Glashaustests einer Glyphosatbehandlung unterzogen und daraus die Linie 40-3 ausgewählt, da diese die höchste Glyphosatoleranz zeigte. Aus den R₂-Generationen dieser Linie wurde die Linie 40-3-2 ausgewählt, die wiederum in den Feldtests die höchste Glyphosatoleranz zeigte (geringer bzw. kein Schaden bei 0.63, 1.25 bzw. 1.68 kg/ha Glyphosat). Ein Segregationsverhältnis von 3:1 in den F₂ Nachkommen der Linie 40-3-2 und sensitiven Linien weist darauf hin, dass das EPSPS Gen als dominantes Gen vererbt wird. Weder GUS-Aktivität noch das GUS Gen wurden in dieser Linie nachgewiesen. Im Gegensatz dazu zeigten andere Linien (40-3-3 und 40-3-4) Segregationsmuster, die sich in unterschiedlichen Herbizidtoleranzen äußerten. Padgette *et al.* (1995) erklären dies dadurch, dass die ursprüngliche Linie 40-3-2 zwei unterschiedliche DNA Inserts an unterschiedlichen Positionen im Genom enthielt, wovon eine für hohe Toleranz, die andere für geringe Toleranz (und GUS Aktivität) gegenüber Glyphosat kodiert. Dies wird auch dadurch bestätigt, dass bei einer anderen Linie (40-3-1), die geringe Glyphosat-Toleranz zeigt, GUS Aktivität nachgewiesen wurde. Padgette *et al.* (1995) nehmen daher an, dass die Linie 40-3-2 nur ein Insert behält und das zweite im Laufe der Segregation verloren ging und dass diese Linie homozygot für das Insert mit hoher Glyphosatoleranz ist.

3.2.4 TOXIN-GLEICHWERTIGKEIT

3.2.4.1 DURCHGEFÜHRTE VERSUCHE

Im Rahmen der Toxizitätsprüfung von GVO ist es vielfach üblich, nicht das pflanzliche Protein direkt zu testen, sondern das entsprechende Protein in *E. coli* zu exprimieren, um so rasch größere Proteinmengen zu erhalten. Dazu muss jedoch der Nachweis der Vergleichbarkeit des in *E. coli* exprimierten Proteins mit dem Protein, das in der transgenen Pflanze exprimiert wird, erbracht werden. Diese Vorgangsweise ist zwar allgemein üblich, jedoch ist deren Legitimität aus der Sicht der Risikoabschätzung kaum wissenschaftlich abgesichert (siehe im Detail Kapitel 3.3).

Der Nachweis der Äquivalenz des bakteriellen CP4 EPSPS Proteins und des pflanzenexprimierten Proteins (Sojabohnen der GV Linie 61-67-1, siehe Kapitel 3.2.4.2) wurde aufgrund von Vergleichen von Parametern wie Molekulargewicht, Immunreaktivität, Glykosylierung und enzymatische Aktivität, sowie Sequenzhomologie (Harrison *et al.* 1996) erbracht.

3.2.4.2 DISKUSSION

Für die Vergleiche von Parametern zwischen dem in *E.coli* und in der Sojapflanze exprimierten Protein wie

- Molekulargewicht,
- Immunreaktivität,
- Glykosylierung und enzymatische Aktivität
- Sequenzhomologie

wurde das CP4 EPSPS Protein aus den Sojabohnen der GV Linie 61-67-1, einer zweiten RR-Sojabohnenlinie, deren Weiterentwicklung jedoch eingestellt wurde, extrahiert (siehe Material und Methoden, S 730 in Harrison *et al.* 1996, Tabelle 3). Einzig im Western Blot zum Molekulargewichtsnachweis ist die Linie 40-3-2 angeführt.

Die GV Linie 61-67-1 enthält jedoch offensichtlich ein anderes Insert als die GV Linie 40-3-2, deren Zulassung beantragt wurde, nämlich das zweite Insert, das auch das GUS-Gen enthält, welches bei der Linie 40-3-2 verlorengegangen ist (siehe Padgette *et al.* 1995). Die Expressierung des EPSPS-Proteins der GV Linie 61-67-1 wird von einem anderen Promotor gesteuert als das Protein der GV Linie 40-3-2 (siehe Padgette *et al.* 1995). Im Gegensatz zur RR-Sojabohnenlinie 40-3-2 ist in der Linie 61-67-1 der CMoVb

Die Gleichwertigkeit des Toxins aus *E. coli* mit dem Toxin aus der kommerzialisierten RR-Sojabohne wurde nicht nachgewiesen.

(figwort mosaic virus 35S) Promotor und die zweite CP4 EPSPS Genkassette integriert. Daher kann hier nicht von zwei identischen GV Linien ausgegangen werden, sondern es muss angenommen werden, dass es sich um zwei molekular unterschiedliche Pflanzenlinien handelt.

Die Autoren argumentieren, dass die RR-Sojabohnenlinie 61-67-1 mit einem Plasmid transformiert wurde, das das EPSPS Gen kodiert, welches identisch zu dem der RR-Sojabohnenlinie 40-3-2 ist (siehe Ergebnisse, S 732 in Harrison *et al.* 1996). Dies wird jedoch in keiner Publikation bestätigt. In Padgett *et al.* (1995) wird ausschließlich die Entwicklung sowie die Expressionsmuster der Linie 40-3-2 beschrieben (siehe oben), die RR-Sojabohnenlinie 61-67-1 wird nicht erwähnt.

Ob das CP4 EPSPS Protein der GV Linie 61-67-1 mit jenem der GV Linie 40-3-2 tatsächlich ident ist, wurde in den Antragsunterlagen nicht erläutert. Aus diesem Grund ist unklar, ob das bakterielle in *E.coli* exprimierte CP4 EPSPS Protein tatsächlich ident ist mit jenem der GV Linie 40-3-2, für die die Zulassung beantragt wurde.

Der Nachweis der molekularen Identität zwischen dem CP4 EPSPS Protein und dem in *E. coli* exprimierten Protein ist ein wesentlicher Schritt in der Risikoabschätzung des Antragstellers. Ohne Nachweis der Gleichwertigkeit ist die Aussagekraft all jener toxikologischen bzw. allergologischen Studien, die mit dem in *E.coli* exprimierten Toxin durchgeführt wurden, deutlich eingeschränkt.

3.2.5 TOXIKOLOGISCHE STUDIEN MIT DEM PROTEIN

3.2.5.1 DURCHGEFÜHRTE VERSUCHE

Der Antragsteller geht davon aus, dass es a priori keinen Grund gibt, eine Toxizität des EPSPS-Proteins des Bakterienstammes *Agrobacterium sp.* Stamm CP4 anzunehmen (Harrison *et al.* 1996) und begründet dies damit, dass EPSPS-Proteine, denen das CP4-EPSPS-Protein funktionell ähnlich ist, typischerweise in Lebens- und Futtermitteln vorhanden ist. Dennoch führte der Antragsteller, um die Sicherheit des Proteins abzuschätzen, folgende toxikologischen Untersuchungen mit dem in *E.coli* exprimierten CP4 EPSPS Protein durch:

1. Aminosäuresequenzhomologie mit bekannten Toxinen.
2. *In-vitro* Verdauungsstudien des Proteins (Padgett *et al.* 1993, Ream *et al.* 1993 beide zitiert in Padgett *et al.* 1994)
3. Eine akute Toxizitätsstudie mit Mäusen (Naylor 1993, zitiert in Padgett *et al.* 1994)

Die Durchführung einer akuten Toxizitätsstudie wird damit begründet, dass dadurch akute toxische Effekte des Proteins ausgeschlossen werden können.

Die Sicherheit des EPSPS Proteins sieht der Antragsteller aus folgenden Gründen gegeben:

1. Das bakterielle Protein ist „äquivalent“ zum Protein, das in der Pflanze exprimiert wird (siehe dazu auch Kapitel 3.2.4)
2. Das Protein zeigt keine Aminosäuresequenzhomologie zu rund 2000 bekannten Toxinen.
3. Die *in-vitro* Verdauungsstudien des Proteins (Padgett *et al.* 1993, Technical report, Monsanto MSL 12738) geben eine Halbwertszeit des Proteins von weniger als 15 Sekunden im Magen und weniger als 10 Minuten im Darm an. Zudem wird angegeben, dass keine enzymatische Aktivität bei pH-Werten von weniger als pH 5 nachgewiesen werden konnte (Maximalaktivität bei pH 9 –9,5).
4. Eine akute Toxizitätsstudie mit Mäusen zeigte keine negative Effekte bei der Verabreichung von 572mg/kg des bakteriell exprimierten CP4 EPSPS Proteins (Harrison *et al.* 1996, bzw. Naylor 1993, Monsanto Report ML 92542) (siehe auch Tabelle A 1 im Anhang).

3.2.5.2 DISKUSSION

Methodendesign, Statistik, Datenaufbereitung

Die *in vitro* Verdauungsstudien wurden mit dem bakteriellen – in *E.coli* exprimierten - Protein durchgeführt. Ebenso wurde in der akuten Toxizitätsstudie das bakterielle Protein den Mäusen in unterschiedlichen Dosen oral verabreicht.

Es wurde ein Vergleich der Aminosäuresequenz des EPSPS-Proteins mit Aminosäuresequenzen von bekannten Allergenen oder Toxinen über eine Datenbankrecherche durchgeführt. Dieser Vergleich wurde offensichtlich mit dem Proteins der Linie 61-67-1 durchgeführt. Dies geht aus Material und Methoden (Antrag, S 732) nicht eindeutig hervor. Angeführt wird, dass die Aminosäuresequenz des „reifen“ Proteins, das für die Datenbankrecherche verwendet wurde, ident mit jener des bakteriellen Proteins ist.

Interpretation der Daten

Obwohl der akute Toxizitätstest von Harrison *et al.* 1996 keine Effekte hinsichtlich der getesteten Endpunkte Endgewicht, Körpergewichtszuwachs oder Konsumation zeigte, wurden „geringe pathologische Effekte“ bei den weiblichen Mäusen beobachtet (Undurchsichtigkeit der Kornea, Läsionen in Nieren und der Hirnanhangdrüse und Hydrometra des Uterus). Konkrete Daten dazu sind nicht angeführt. Laut Harrison *et al.* (1996) waren diese Effekte zufällig in allen Gruppen verteilt und sind auch normalerweise bei Labormäusen beobachtbar. Sie vermuten deshalb, dass diese Effekte nicht auf die Verfütterung des Proteins zurückzuführen sind.

Akuter Toxizitätstest: Die getesteten Endpunkte lassen keine Aussage über langfristige Effekte zu.

Chronische Tests sowie Kanzerogenitäts- oder Reproduktionstoxizitätstests des EPSPS Proteins wurden vom Antragsteller nicht durchgeführt.

3.2.5.3 FAZIT

Aufgrund des fehlenden Nachweises der Gleichwertigkeit des bakteriellen Proteins mit dem Protein der Roundup-Ready-Sojabohne GV Linie 40-3-2, für die die Zulassung beantragt wurde, ist die Aussagekraft der durchgeführten Sequenzvergleiche, der Verdauungsstudien und der akuten Toxizitätsstudie gering (siehe Kapitel 3.2.4). Darüberhinaus ist der Ersatz des pflanzlichen Proteins durch das bakterielle Protein prinzipiell problematisch (siehe auch Kapitel 3.3).

Weiters ist völlig unklar, weshalb mit der Durchführung von akuten Toxizitätstests die substanzielle Äquivalenz nachgewiesen werden könnte (siehe Argumentation in Padgett *et al.* 1994).

Akute Toxizitätstests mit dem Protein stellen keinen Beweis eines fehlenden Risikos der gentechnisch veränderten Sojabohne dar, sondern liefern nur Hinweise, dass leicht beobachtbare bzw. massive Kurzeiteffekte durch das Protein nicht auftreten.

Fehlende Äquivalenz des bakteriellen Toxins zum pflanzlichen Toxin, wodurch der akute Toxizitätstest und die Verdauungsstudie keine Aussagekraft besitzen.

Kanzerogene und immuntoxischen Effekte und allgemeine chronische Effekte können nicht *a priori* ausgeschlossen werden. Ebenso wenig können nicht beobachtete Effekte in akut toxischen Studien als Beleg für das Fehlen chronischer Effekte herangezogen werden. Die Argumentation des Antragsstellers, dass die vorgelegten Untersuchungen ein toxisches Potenzial ausschließen, ist fachlich nicht nachvollziehbar.

3.2.6 FUTTERVERWERTUNGSSTUDIEN MIT RR-SOJA

3.2.6.1 DURCHGEFÜHRTE VERSUCHE

Vom Antragsteller wurden Futterverwertungsstudien vorgelegt, die die Sicherheit der RR-Sojabohne und des neu eingebrachten EPSPS Proteins dokumentieren sollen (Tabelle 3). Ebenso sollte mit diesen Futterverwertungsstudien die substanzielle Äquivalenz der RR-Sojabohne zur nicht gentechnisch veränderten Ausgangssorte belegt werden (siehe Kapitel 3.2.7), sowie die kommerzielle Akzeptanz der RR-Sojabohne unterstützt werden (Hammond *et al.* 1996, S 717).

Die Futtermittelnutzungsstudien bei Ratten, Kühen und Fischen, die mit verarbeiteten und nicht-verarbeiteten RR-Sojabohnen durchgeführt wurden (Hammond *et al.* 1996), sind in Tabelle 3 angeführt.

Tabelle 3. Futtermittelnutzungsstudien mit RR-Soja: Versuchsdesign

Versuchstier	getestetes Toxin/ Versuchsdauer	getestete Endpunkte	Quelle
1. Ratten	verarbeitetes Soja 4 Wochen	Endgewicht, Gewichtszuwachs, Konsumation, Organgewichte	Hammond <i>et al.</i> 1996 und Padgett <i>et al.</i> 1994
2. Ratten	nicht-verarbeitetes Soja 4 Wochen	Endgewicht, Gewichtszuwachs, Konsumation, Organgewichte	Hammond <i>et al.</i> 1996 und Padgett <i>et al.</i> 1994
3. Hühner	verarbeitetes Soja 6 Wochen	Endgewicht, Gewichtszuwachs, Konsumation, Nährungsverwertung, Brustgewicht, Fettanteil	Hammond <i>et al.</i> 1996
3. Kühe	nicht-verarbeitetes Soja 4 Wochen	Konsumation, Milchproduktion, Milchzusammensetzung, Fettsäuren und Stickstoff im Rumen, Trockengewichtsverdaubarkeit, Stickstoffbalance	Hammond <i>et al.</i> 1996 siehe auch Tabellen 22- 24 in Clark and Ipharraguerre 2001
4. Fische	verarbeitetes Soja 10 Wochen	Endgewicht, Gewichtszuwachs, Konsumation, Nährungsverwertung, Überlebensraten, inhaltsstoffliche Zusammensetzung der Filets	Hammond <i>et al.</i> 1996

Anmerkung: Eine detaillierte tabellarische Zusammenfassung findet sich in Tabelle A 1 im Anhang.

Die Ergebnisse dazu sind Hammond *et al.* 1996 entnommen (siehe Tabelle 4). Es wird von Hammond *et al.* (1996) ausdrücklich erwähnt, dass es sich hierbei nicht um einen Toxizitätstest handelt. Als Endpunkte wurden dementsprechend nicht toxikologische Parameter angegeben, sondern Parameter, die kommerziellen Zwecken dienen, wie Körpergewicht, Körpergewichtszuwachs, Organgewichte bzw. Konsumation. Die vier Wochen dauernde Fütterungsstudie mit der RR-Sojabohne bei Ratten wird in Padgett *et al.* (1994) als Nachweis der substanziellen Äquivalenz interpretiert. Die unten beschriebenen Effekte (siehe Tabelle 4 und Tabelle A 1 im Anhang) werden nicht ausdrücklich von Hammond *et al.* (1996) erwähnt. Im Zulassungsantrag wird darauf hingewiesen, dass in den untersuchten Parametern keine statistisch signifikanten Unterschiede gemessen wurden.

In Fütterungsversuchen werden kommerzielle anstatt toxikologischer Parameter getestet.

Tabelle 4. Futtermittelnutzungsstudien mit RR-Soja: Ergebnisse mit signifikanten Unterschieden

Effekt	Quelle
1. geringeres Endgewicht und geringerer Gewichtszuwachs, sowie geringere Konsumation männlicher Ratten (verarbeitetes RR-Soja)	Hammond <i>et al.</i> 1996 und Padgett <i>et al.</i> 1994
2. höhere Nieren- und Gonadengewichte bei Ratten (nicht verarbeitetes RR-Soja)	Hammond <i>et al.</i> 1996 und Padgett <i>et al.</i> 1994
3. Höhere 3,5% fettkorrigierte Milch (FCM) bei RR-Soja gefütterten Kühen	Hammond <i>et al.</i> 1996 siehe auch Tabellen 22-24 in Clark and Ipharraguerre 2001
4. geringere Konsumation, geringerer Gewichtszuwachs und Endgewicht von RR-Soja gefütterten Fischen	Hammond <i>et al.</i> 1996

3.2.6.2 DISKUSSION

Methodendesign, Statistik, Datenaufbereitung

Generell fällt auf, dass sich die Angaben zu den Fütterungsversuchen mit den Fischen im britischen Zulassungsantrag (Padgett *et al.* 1994) von jenen in

Hammond *et al.* (1996) unterscheiden (Tabelle 4, Punkt 4). So ist im Zulassungsantrag eine andere Nahrungsverwertungseffizienz angegeben (consumption/weight gain) als in Hammond *et al.* (1996) (gain per feed). Zudem wird der Gewichtszuwachs im Antrag in Gramm, in Hammond *et al.* (1996) in "g/100g initial weight" angeführt. Es bleibt auch unklar, wieviel Futter verfüttert wurde und bei welcher Temperatur die Fische gehalten wurden. Generell hängt die Nahrungskonsumation und -verwertung von Fischen stark von der Menge des angebotenen Futters sowie der Temperatur ab. Zudem sind Inkonsistenzen bei der Angabe und Methodik der Konsumationsversuche von Fischen gegeben. Während im britischen Zulassungsantrag die Daten zu diesem Versuch nur für eine RR-Sojalinie (40-3-2) angegeben sind (Tab 7, S 59), werden im Text jedoch beide GV Linien (40-3-2, 61-67-1) getrennt interpretiert. Im Zulassungsantrag wird, wie in Hammond *et al.* 1996, der geringere Konsum der RR-Sojalinie 40-3-2 angeführt, die Angabe von Signifikanzen fehlt jedoch. Die Angaben im Text sind nicht konsistent mit jenen in der Tabelle (z.B. Angabe der Konsumation in g/Individuum in der Tabelle, im Text jedoch als Prozent des durchschnittlichen Körpergewichtes).

Inkonsistente oder fehlende Angabe von Daten und Mängel in der Methodik erschweren die Nachvollziehbarkeit der Ergebnisse.

Unklar bleibt auch, ob für die Fütterungsversuche mit Ratten (Tabelle 4, Punkte 1 und 2) mit unverarbeiteten Sojabohnen auch in der Kontrolldiät unverarbeitetes Soja verwendet wurde. Im britischen Zulassungsantrag (Padgette *et al.* 1994) wird angegeben, dass die Kontrolldiät verarbeitetes Soja enthielt. Hammond *et al.* (1996) hingegen halten fest, dass die Kontrolldiät kommerziell hergestellt wurde. Eine vergleichende Analyse ist auf Basis dieses Methodendesigns nicht gerechtfertigt.

In den Fütterungsversuchen mit der RR-Sojabohne bei Ratten sind in der Publikation von Hammond *et al.* (1996) keine konkreten Daten zu den Körpergewichten, kumulativen Gewichtszunahmen oder Nahrungskonsumation angegeben. Angeführt ist nur eine Grafik der Körpergewichtsentwicklung über vier Wochen (Figur 1 in Hammond *et al.* 1996), die zeigt, dass männliche Ratten, die mit der GV Linie 40-3-2 (verarbeitetes Soja) gefüttert wurden, tendenziell ein geringeres durchschnittliches Körpergewicht aufweisen, das sich in der vierten Woche in einem signifikanten Unterschied zu Kontrolldiät äußert (siehe Punkt 1 in Tabelle 4). Bei den weiblichen Ratten ist dieser Effekt geringer ausgeprägt, jedoch ist auch hier ein Trend beobachtbar. Die konkreten Mittelwerte zu diesen Daten sind nur im britischen Zulassungsantrag (Padgette *et al.* 1994), nicht jedoch in der Publikation angeführt. Sie zeigen signifikant geringere Endgewichtswerte sowie geringere Werte der durchschnittlichen Gewichtszuwächse (jeweils im Vergleich zur Kontrolldiät) bei männlichen Ratten, die mit RR-Soja gefüttert wurden.

Interpretation der Daten

Neben den oben erwähnten unzureichenden Angaben und statistischen Mängel ist in beiden evaluierten Unterlagen (Zulassungsantrag und Publikation) die Interpretation der beobachteten Effekte nicht nachvollziehbar oder unlogisch. Bei den Ratten-Konsumationsversuchen (Tabelle 4, Punkte 1 und 2) sind zwar Daten zur durchschnittlichen Konsumation der Ratten (g/Individuum) in den Tabellen in Padgette *et al.* (1994) angeführt, jedoch fehlt dort die Angabe der statistischen Signifikanz. Im Text wird hingegen darauf hingewiesen, dass die Konsumation bei den Männchen, die die RR-Sojalinie und die Elternlinie verabreicht bekamen, **leicht** verringert war (im Vergleich zur Kontrolldiät). Hammond *et al.* (1996) erwähnen hingegen eine **signifikant** geringere Konsumation von GV Linien bzw. der Elternlinie im Vergleich zur Kontrolldiät (nachvollziehbare Daten zur Konsumation fehlen aber hier), die jedoch von den Autoren – wie im Zulassungsantrag (Padgette *et al.* 1994) - mit Unterschieden in den Herstellungsverfahren und somit Unterschieden in der Schmackhaftigkeit der Diäten erklärt werden (S. 722 in Hammond *et al.* 1996). Generell wird im britischen Zulassungsantrag damit argumentiert, dass die beobachteten Unterschiede in den Gewichtszuwächsen und in der Konsumation nicht auf die gentechnische Veränderung zurückzuführen sind, da keine Unterschiede zwischen der GV Linie und der Elternlinie auftraten, sondern nur zur Kontrolldiät. Es wäre jedoch denkbar, dass signifikante Unterschiede in den Gewichtszuwächsen und in der Konsumation bei einer Erhöhung der

Versuchsdauer auch zur Elternlinie nachgewiesen würden, da die Werte der verfütterten Elternlinie (durchschnittlicher Gewichtszuwachs, Endgewicht, Konsumation) jeweils zwischen jenen der GV Linie und der Kontrolldiät lagen.

Hammond *et al.* (1996) führen im Text zwar die Veränderungen in den Organgewichten der Ratten an, jedoch sind die tatsächlich gemessenen Werte nicht ausgewiesen (Punkt 2, Tabelle 4). Auch in Padgett *et al.* (1994) sind keine konkreten Daten angeführt.

Hammond *et al.* (1996) führen die Veränderungen der Organgewichte jedoch nicht auf die genetische Modifikation zurück, da die Unterschiede nicht dosisabhängig waren (höhere Nierengewichte traten nur bei 5g/100g und nicht bei 10g/100g Soja in der Diät auf) oder nur bei der Elternlinie auftraten (bei den unterschiedlichen Gonadengewichten).

Bei den Fütterungsversuchen bei Kühen wird in den britischen Antragsunterlagen der Effekt der höheren fettkorrigierten Milch durch eine höhere (jedoch nicht signifikant höhere) Nettoenergieaufnahme erklärt, der Effekt wird jedoch nicht näher hinterfragt (Tabelle 4, Punkt 3). Hammond *et al.* (1996) wiederum betonen, dass die Parameter, aus denen der Wert der fettkorrigierten Milch berechnet wird, nicht signifikant unterschiedlich sind (Milchproduktion und Milchfettanteil). Das deutsche Robert Koch Institut hat dazu in einer Presseaussendung vom 20.9.1997 festgestellt, dass die beiden Parameter, aus denen der fettkorrigierte Milchwert berechnet wurde (Milchmenge und Fettanteil) innerhalb von natürlichen Schwankungen lagen und statistisch nicht bedeutsam seien. Die Kühe hätten aufgrund "praxisüblicher Unterschiede" etwas mehr gefressen und in Folge mehr Milch abgegeben. Das Robert Koch Institut sieht daher keinen erkennbaren Zusammenhang zwischen den genannten Effekten und der gentechnischen Veränderung der Sojabohne. Die Mittelwerte beider Parameter der mit RR-Soja gefütterten Kühe lagen jedoch tendenziell höher als jene der Kontrollgruppe. Obwohl eine höhere Milchproduktion aufgrund eines höheren Konsums logisch scheint, stellt sich dennoch die Frage, warum der Milchfettwert (einer der zwei Ausgangsparameter zur Berechnung der fettkorrigierten Milch) tendenziell erhöht war.

Die geringere Konsumation von RR-Soja bei Fischen (Tabelle 4, Punkt 4) erklärt nach Hammond *et al.* (1996) auch den geringeren Gewichtszuwachs der Fische, die die GV Linie 40-3-2 konsumierten. Dies scheint logisch, da eine geringere Konsumation einen geringeren Gewichtszuwachs nach sich zieht. Auffallend ist jedoch, dass bei allen Parametern (ausgenommen die Überlebensrate) die Werte für die mit der RR-Sojalinie 40-3-2 gefütterten Fische am geringsten sind, die Werte der zweiten RR-Sojalinie 61-67-1 hingegen signifikant höher als die Elternlinie (Konsumation und Endgewicht). Die Argumentationsführung von Hammond *et al.* (1996) ist in diesem Fall nicht schlüssig, da in der Diskussion die Fütterungsversuche bei Fischen aufgrund ihrer hohen Wachstumsraten als die sensitivsten Versuche angeführt werden, um geringe Unterschiede im Nahrungswert der Sojabohnen zu detektieren, die beobachteten Unterschiede im Gewichtszuwachs und in der Konsumation von den Autoren aber nicht näher interpretiert werden.

Interpretationsspielräume werden u. a. auch von Clark and Ipharraguerre 2001 („Livestock performance: feeding biotech crops“) ausgenutzt, die Fütterungsstudien mit GVOs zusammenfassen. Sie zitieren aus den Fütterungsversuchen von Hammond *et al.* (1996) nur eine Tabelle, nämlich jene Fütterungsversuche mit Hühnern, die als einzige keine signifikanten Unterschiede aufweisen. Selbst diese Tabelle wird nicht originalgetreu zitiert, sondern Zeilen (z.B. fat pad/body weight) werden weggelassen. Die Ergebnisse zu den Fütterungsversuchen von Ratten und Welsen, die Unterschiede erkennen lassen, werden nicht angeführt.

Zudem sind mehrere Unzulänglichkeiten in den histopathologischen Untersuchungen der Rattenstudien hervorzuheben. In Hammond *et al.* (1996) wird angeführt, dass leichte mikroskopische Befunde (Entzündungen

Veränderungen in den Organgewichten und Unterschiede in gemessenen Parametern werden nicht auf die gentechnische Veränderung zurückgeführt.

Tendenzielle Effekte bleiben gänzlich unberücksichtigt: Warum war der Milchfettwert erhöht? Warum fraßen die Fische weniger GV-Soja?

Beobachtete Effekte werden ohne statistische Angabe als "vergleichbar" zwischen den Gruppen definiert.

Histologische Befunde sind nur qualitativ angeführt.

und azinöse Zellapoptosen) im Pankreas der Tiere, die mit unverarbeitetem RR-Soja, der Elternlinie und der Kontrolldiät gefüttert wurden, beobachtet wurden. Genaue Daten fehlen dazu, die Angaben sind rein qualitativer Natur. Sowohl in Hammond *et al.* (1996) als auch in Padgette *et al.* (1994) werden zudem pathologische Effekte der Leber angegeben. Die mit unverarbeitetem RR-Soja gefütterten Ratten wiesen eine dunklere Leber auf (v.a. männliche Ratten), wobei nicht angegeben ist, bei welchen Gewichtsprozenten an Soja in der Diät (5 oder 10 g oder beiden) dieser Effekt auftrat. Dies wurde auch bei Ratten, die die Elternlinie konsumierten, beobachtet (10g). Da weder die Originaldaten, noch eine statistische Auswertung des Auftretens dieses Effektes vorliegt, ist schwer beurteilbar, ob diese Effekte auf die Konsumation von RR-Soja zurückzuführen sind. Dieser Effekt wurde auch bei einem Tier aus der Kontrolldiätgruppe nachgewiesen. Die Autoren setzen die beobachteten Effekte in keinen Zusammenhang mit der gentechnischen Veränderung, da das Auftreten des Effektes in allen Gruppen „vergleichbar“ war (keine Angabe von Daten oder statistischer Auswertung) bzw. da keine Unterschiede in den relativen Lebergewichten beobachtet wurden. Obwohl bei der Verfütterung von rohem Soja häufig Hyperplasien und andere Effekte im Pankreas auftreten (McGuinness *et al.* 1984; Morgan *et al.* 1986; Smith *et al.* 1989), wurde dies offensichtlich bei diesen Versuchen nicht beobachtet. Die Angabe, dass die rohen Sojabohnen im Ausmaß von 5g oder 10g/100g Diät nur einen Teil des verarbeiteten Sojabohnenmehls ersetzen (siehe Material & Methoden von Hammond *et al.* 1996), lässt vermuten, dass rund 20 bzw. 40% des ersetzten Sojaproteins unverarbeitetes Soja war, das restliche Sojaprotein jedoch verarbeitetes Soja. Morgan *et al.* (1986) geben eine Grenzdosis von ca. 20% an rohem Soja bei fortlaufender Verfütterung an, ab der pankreatisches Wachstum beobachtet wird, somit wäre also anzunehmen, dass in den Fütterungsversuchen der RR-Sojabohne Hypertrophien der Bauchspeicheldrüse auftraten.

Histologische Untersuchungen des Magen-Darm-Traktes fehlen.

Zudem wird in Padgette *et al.* (1994) erwähnt, dass auch Tiere, die verarbeitetes Soja verabreicht bekamen, pathologischen Effekte zeigten, die jedoch in allen Gruppen zufällig verteilt waren und häufig in Kontrollindividuen vorkommen. Es wird nicht angeführt, um welche Effekte es sich hierbei handelt, es fehlen auch konkrete Häufigkeitsangaben und eine entsprechende Statistik. Histologische Untersuchungen des Magen-Darm-Traktes, also jenen Organen mit der größten Exposition gegenüber der RR-Sojabohne, wurden nicht durchgeführt.

3.2.6.3 FAZIT

Die Angaben im Zulassungsantrag sowie die korrespondierende Publikation von Hammond *et al.* (1996) kommen in Detailbereichen zu unterschiedlichen Ergebnissen und Interpretationen. Viele Daten fehlen, die ein klärendes Bild geben könnten. In der Gesamtinterpretation – keine Effekte, die ein gesundheitliches Risiko der RR-Sojabohne vermuten lassen – sind sich beide (Antrag und Publikation) einig. Signifikante Effekte werden nicht erwähnt oder zugunsten des GVOs interpretiert. Wer beides (Antrag und Publikation) liest, bekommt dadurch ein widersprüchliches Bild, was das Vertrauen in die Verlässlichkeit der getätigten Aussagen wesentlich beeinträchtigt.

Neben den methodischen Ungereimtheiten und der Großzügigkeit in den Interpretationen fällt auch auf, dass zwar die Sicherheit der RR-Sojabohne aus den Futterwertungsstudien abgeleitet wird, dass jedoch auch darauf hingewiesen wird, dass es sich nicht um toxikologische Studien handelt.

3.2.7 INHALTSSTOFFANALYSEN – SUBSTANZIELLE ÄQUIVALENZ VON RR-SOJA

3.2.7.1 DURCHGEFÜHRTE VERSUCHE

Laut Antragsteller ist die substanzielle Äquivalenz der herbizidresistenten RR-Sojabohne aufgrund der vorgelegten Inhaltsstoffanalysen (siehe Tabelle 5) gegeben.

Tabelle 5. Inhaltsstoffanalysen mit RR-Soja: Versuchsdesign

getestete Sojafraktion	getestete Parameter	Quelle
1. rohe Sojabohnen	Proximatanalysen (Protein, Fasern,	Padgette <i>et al.</i> 1996
2. entfettete, geröstete Sojabohnen	Asche, Kohlehydrate, Trypsininhibitoren,	
3. entfettete, nicht-geröstete Sojabohnen	Isoflavone, u. a.	
4. rohes Sojalecithin		

Anmerkung: Eine vollständige Übersicht gibt Tabelle A2 im Anhang

Das Fehlen von Sekundäreffekten (d.h.veränderter Inhaltsstoffzusammensetzung) bei der RR-Sojabohne im Vergleich zur konventionellen Sojabohne wird als ein Fehlen von Toxizität des neu eingeführten Proteins interpretiert. In Padgette *et al.* (1994) werden zum Nachweis der substanzialen Äquivalenz der RR-Sojabohne im Vergleich zur konventionellen Sojabohne zwei interne Studien von Padgette *et al.* (1993) angeführt, die jedoch firmeninterne Studien sind (Monsanto study 92-01-30-02, technical report MSL-12906 und Monsanto study 92-01-30-01, technical report MSL-12902). Die Daten aus diesen Studien werden im Zulassungsantrag zitiert. Diese Daten stimmen großteils mit jenen aus der Publikation von Padgette *et al.* (1996) überein, allerdings werden im Zulassungsantrag offensichtlich die Daten der zwei RR-Sojalinien (Linie 61-67-1 und Linie 40-3-2) gepoolt, da in den Grafiken nur RR-Soja der Kontrolle gegenübergestellt wird und die Autoren anführen, dass die Daten der Linie 61-67-1 für die statistischen Analysen verwendet wurden (obwohl diese Linie nicht kommerziell weiterverfolgt wurde), um ein präziseres Bild des Fehlers zu erhalten. Der Vergleich von Inhaltsstoffen zwischen RR-Soja und konventionellem Soja wurde anhand von rohen Sojabohnen, geröstetem Sojabohnenmehl, nicht geröstetem Sojabohnenmehl, -isolat und -konzentrat, Sojabohnenöl, sowie von Sojabohnenlecithin durchgeführt. Verglichen wurde hierbei die kommerziell verwertete GV Linie 40-3-2 mit der GV Linie 61-67-1 und mit der nicht modifizierten Kontroll- bzw. Elternlinie A5403 (siehe Tabelle 2 in Kapitel 3.2.4). Beim Vergleich roher Sojabohnen wurden die Werte von 9 bzw. 4 Anbauexperimenten in unterschiedlichen Standorten für die Ermittlung des Mittelwertes herangezogen, beim Vergleich von Inhaltsstoffen entfetteter Sojabohnen wurde Einzelwerte von Einzelproben ermittelt (siehe Tabelle A2 im Anhang). Diese Einzelproben stellen eine zusammengesetzte Probe aus 8 (nicht geröstetes Soja) bzw. 9 (geröstetes Soja) Anbaustandorten dar. Da es sich um Einzelwerte handelt, wurde eine statistische Auswertung dieser Proben daher nicht durchgeführt. Die Proben der gerösteten Sojabohnen stammen aus zwei unterschiedlichen Verarbeitungsexperimenten ("large scale" und "small scale").

Substanzielle Äquivalenz wird als Fehlen von Toxizität und somit als Beleg für die Sicherheit der RR-Sojabohne angeführt.

Tabelle 6 zeigt in den Tabellen ausgewiesene Unterschiede in den Inhaltsstoffen zwischen der RR-Sojabohne und der Kontrolle.

Tabelle 6. Inhaltsstoffanalysen mit RR-Soja: Ergebnisse mit signifikanten Unterschieden

Unterschied	Quelle
1. rohe Sojabohnen: erhöhte Fett- und Aschegehalte, verringerte Kohlehydratgehalte, erhöhter Anteil einer Fettsäure (alle statistisch signifikant)	Padgette <i>et al.</i> 1996
2. geröstetes Sojamehl: weniger Feuchte, erhöhter Kohlehydratgehalt, tendenziell höhere Daidzeingehalte (Isoflavon)	
3. nicht-geröstetes Sojamehl: mehr Feuchte, geringerer Fettgehalt, mehr Trypsininhibitoren	
4. Sojalecithin: Cholingehalt verringert	

3.2.7.2 DISKUSSION

Methodendesign, Statistik, Datenaufbereitung

Bei der Analyse der Inhaltsstoffe der RR-Sojabohne zeigen sich mehrere Inkonsistenzen hinsichtlich der Angabe von Daten, Datenaufbereitung und statistischer Analyse. Anstatt eine genügend große Anzahl von Proben eines Standortes einem Vergleich mit einer am gleichen Standort angebauten Kontrolle zu unterziehen, wurden von Padgette *et al.* (1996) die Proben mehrerer Standorte analysiert, was zu einer großen Standardabweichung führt, da jegliche standortsbedingte Variationsbreiten in den Werten signifikante Unterschiede verschwinden lassen. Die Inhaltsstoffanalysen der rohen RR-Sojabohnen wurden aus Proben von den Standorten eines Jahres (Aminosäuren, Fettsäuren, Anti-Nutritiva, Isoflavone, 1992, 9 Anbauflächen, Tabellen 3-6 in Padgette *et al.* 1996) oder aus Proben von Anbauflächen zweier Jahre (Proximatanalysen, 1992 und 1993, 9 bzw. 4 Standorte) berechnet. Unklar ist jedoch, ob für die Analysen der gerösteten Sojabohnen eine zusammengesetzte Probe aus 8 (von 9) Anbauflächen aus 1992 und von nur einer (von 4) Anbauflächen aus 1993 verwendet wurde (wie in Material und Methoden erwähnt) oder von allen 9 Anbauflächen nur aus 1992 (wie in Tabellen 7 und 8 in Padgette *et al.* 1996 angeführt). Da sich die Verarbeitungsprozesse der beiden Jahre (1992 "small scale", 1993 "large scale") in Verarbeitungsmenge und Vorgangsweise ("batch" versus "continuous" Verarbeitung) unterscheiden, ist hier von einer nicht konsistenten Vorgangsweise auszugehen, da Unterschiede aufgrund von Verarbeitungsprozessen unberücksichtigt bleiben.

Jahres- und standortsbedingte Variationen an Inhaltsstoffen blieben unberücksichtigt: Proben mehrerer Standorte oder aus unterschiedlichen Anbaujahren und Verarbeitungsprozessen wurden gepoolt.

Inhaltsstoffangaben erfolgen teilweise aus Einzelwerten.

Zudem wurden die Inhaltsstoffangaben der verarbeiteten Sojabohnen (entfettet, geröstet) aus Einzelwerten von Einzelproben berechnet. Da eine konkrete Methodik zur Ermittlung dieser Werte nicht angegeben ist, wird angenommen, dass die Proben der unterschiedlichen Standorte gepoolt wurden und eine Einzelprobe gezogen wurde, die dann einmalig analysiert wurde und aufgrund derer keine statistische Aussage möglich ist. Im Falle der Isoflavone in geröstetem Sojabohnenmehl ist die Angabe der Verarbeitungsexperimente im Zulassungsantrag und in der Publikation inkonsistent. Während in Padgette *et al.* (1996) keine Mittelwerte, sondern Einzelwerte von Einzelproben angeführt sind, wurden laut britischem Zulassungsantrag in diesem Fall drei Verarbeitungsstudien durchgeführt und die Isoflavonwerte sind als Mittelwerte angegeben.

Die Mittelwerte, die aus Proben von unterschiedlichen Standorten ermittelt wurden (rohe Sojabohnen), stellen Werte dar, die zwar innerhalb einer agronomischen Variabilität liegen mögen, jedoch als Ansatz für die Vergleichbarkeit von GV- und nicht-RR-Sojabohnen ungeeignet sind. Unterschiedliche Standortbedingungen und Umweltfaktoren sowie unterschiedliche Erntezeitpunkte zeigen einen wesentlichen Einfluss auf die Genexpression und somit Inhaltsstoffgehalt (Novak and Haslberger 2000). Zudem sind Werte, die sich aus Einzelanalysen ergeben, nicht aussagekräftig genug, um daraus eine Äquivalenz von GV- und nicht-RR-Sojabohnen ableiten zu können. Das Scientific Committee on Plants schlägt den Vergleich mit einer isogenen Linie und Proben von mindestens zwei

Keine Nachvollziehbarkeit der Probenaufbereitung und -herkunft für die Analysen.

Saisonen, angebaut an mehreren geographischen Orten, vor und verlangt eine entsprechende statistische Auswertung (SCP 1998).

Interpretation der Daten

Nicht nur die Datenauswertung, sondern auch die Interpretation der ermittelten Werte ist im Falle der Inhaltsstoffanalysen der RR-Sojabohne nicht immer nachvollziehbar. Padgett *et al.* (1996) erwähnen zwar die Unterschiede in den Fett-, Asche- und Kohlehydratgehalten von rohen RR-Sojabohnen (Tabelle 6 Punkt 1), führen jedoch an, dass diese Unterschiede "gering" und "biologisch unwichtig" seien. Diese Argumentation wird mit der Tatsache unterstützt, dass die Untersuchungen im Folgejahr keine Unterschiede in den genannten Parametern aufwiesen. Die gleiche Argumentation wird für den erhöhten Fettsäureanteil verwendet, der Unterschied wird als "irrelevant" qualifiziert. Dieser statistisch signifikante Unterschied der Fettsäure C22:0 wird zwar in Padgett *et al.* (1994) erwähnt, die Daten werden jedoch nicht explizit angeführt. Hier wird von den Autoren argumentiert, dass der Anteil dieser Fettsäure am Gesamtspektrum der Fettsäuren sehr gering ist (0,6%) und die Werte zudem innerhalb der Literaturwerte liegen.

Beobachtete Unterschiede werden als "gering", "irrelevant" oder "biologisch unwichtig" klassifiziert.

Die angeführten Unterschiede in Punkten 2, 3 und 4 der Tabelle 6 sind generell schwer zu interpretieren, da hier Einzelanalysen durchgeführt wurden und keine statistische Auswertung möglich ist. Die erhöhten Kohlehydratwerte der GV Linie 40-3-2 (geröstetes Sojamehl, Punkt 2 in Tabelle 6) liegen außerhalb der aus der Literatur bekannten Werte, wie auch die der anderen zwei Linien (Kontrolle, GV Linie 61-67-1), die im großflächigen Anbauversuch außerhalb der Literaturwerte lagen. Da die Kohlehydratwerte aus Protein, Fett, Asche und Feuchte errechnet wurden, scheint sich der erhöhte Kohlehydratwert der RR-Sojabohnen aufgrund des geringeren Feuchtegehaltes zu ergeben. Padgett *et al.* (1996) gehen generell auf Unterschiede in ihren Tabellen nicht ein. In der Diskussion führen sie an, dass sämtliche Parameter (z.B. Asche, Kohlehydrate etc.) der RR-Sojalinie "vergleichbar" mit jenen der Kontrolle waren, obwohl diese "Vergleichbarkeit" nicht aufgrund von statistischer Analysen belegt werden kann.

Die behauptete "Vergleichbarkeit" von Werten aus Einzelanalysen kann nicht belegt werden.

Die tendenziell höheren Daidzeingehalte (Tabelle 6, Punkt 2) im gerösteten Sojamehl werden sowohl von Padgett *et al.* (1996) als auch in Padgett *et al.* (1994) nicht näher interpretiert. Sie weisen darauf hin, dass die Isoflavongehalte der rohen Sojabohnen nicht signifikant unterschiedlich waren. Nicht nachvollziehbar ist insgesamt die statistische Auswertung im Falle der Isoflavone in geröstetem Sojabohnenmehl. Während aus Padgett *et al.* (1996) hervorgeht, dass die Werte aus zwei Verarbeitungsprozessen (zusammengesetzte Probe) ermittelt wurden und keine Mittelwerte und Standardabweichungen angeführt sind, wird in Padgett *et al.* (1994) ein Mittelwert aus drei Verarbeitungsprozessen gebildet.

Erhöhte Werte von RR-Soja werden entweder nicht interpretiert oder aufgrund von nicht angeführten Experimenten gerechtfertigt.

Die Tendenz von höheren Trypsininhibitorwerten (Tabelle 6, Punkt 3) ist nicht nur in den verarbeiteten Sojabohnen, sondern auch bei den rohen Sojabohnen (Tabelle 5 in Padgett *et al.* 1996) gegeben. Die Autoren geben jedoch "vergleichbare" Trypsininhibitor-Levels in GV- und Kontrollsojabohnen an. Die anschließende Argumentationsführung der Autoren in der Diskussion ist dabei nicht schlüssig. Sie rechtfertigen den "höheren" (siehe vorher: "vergleichbar") Trypsininhibitorwert durch unvollständige Verarbeitung der Bohnen, was sie durch „...based on additional laboratory experiments...(data not shown)“ erklären. Jedoch beziehen sie sich in der Diskussion auf **geröstetes** Sojamehl, das aus Bohnen aus dem Puerto Rico Anbau stammt. Jedoch geht aus den Tabellen der Studie hervor, dass die erhöhten Trypsininhibitorwerte in **nicht-geröstetem** Sojamehl auftraten, die aus den Anbauversuchen der USA stammen. Hier werden offensichtlich von den Autoren Daten verwechselt. In Padgett *et al.* (1994) werden die Daten für nicht-geröstetes Sojamehl gänzlich weggelassen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass geröstetes Sojamehl für Tierfutter, nicht-geröstetes hingegen für Nahrungsmittel

verwendet wird. Trypsininhibitoren sind nicht nur in rohem Soja vorhanden, sondern eine Restaktivität von 5-20% ist üblicherweise auch nach Hitzebehandlung nachweisbar (Rackis and Gumbmann 1981) und können negative Effekte auf den menschlichen Pankreas zeigen (Liener *et al.* 1988).

3.2.7.3 OECD ANFORDERUNGEN AN RR-SOJABOHNEN ANALYSEN FÜR SUBSTANZIELLE ÄQUIVALENZ

Das von der OECD (2001) herausgegebene "consensus document" über die Sojabohne führt jene kritischen Inhaltsstoffe an, die bei der Sicherheitsbewertung von Nahrungs- oder Futtermitteln aus RR-Soja berücksichtigt werden sollten. Die darin gegebenen Empfehlungen von durchzuführenden Inhaltsstoffanalysen im Vergleich zu jenen, die von Padgett *et al.* (1996) und im Zulassungsantrag durchgeführten Analysen, können aus Tabelle A 4 und Tabelle A 5 im Anhang entnommen werden. Obwohl vom Antragsteller im Zulassungsantrag mehr Inhaltsstoffparameter der rohen Sojabohnen als von der OECD gefordert, berücksichtigt wurden, fehlen Analysen von Phytinsäure und von Glycitein. Die Evaluierung von Aminosäuren im Sojaproteinisolat blieb von den Antragstellern gänzlich unberücksichtigt. Von den von der OECD geforderten Parametern hinsichtlich der RR-Sojabohnen, die zur Verfütterung bestimmt sind, fehlt die Angabe von Aminosäurewerten im gerösteten Sojamehl, sowie die Proximatanalyse von Sojahülsen und dem Grünfutter und Heu. Zudem ist eine Diskrepanz zwischen der Angabe von Werten im Zulassungsantrag und jenen in der Publikation von Padgett *et al.* (1996) für einige Parameter gegeben. Werte von Sojabohnenöl, Sojabohnenproteinisolat, -konzentrat, entfettetes Sojamehl, Sojalecithin sowie einige Fettsäurewerte in rohen Sojabohnen sind zur Gänze im Zulassungsantrag nicht angeführt. Bei Parametern für die Verfütterung von Sojabohnen fehlt im Zulassungsantrag die Proximatanalyse für geröstetes Sojamehl, obwohl die Werte nach Padgett *et al.* (1996) ermittelt wurden. Weder aus dem Zulassungsantrag noch aus der Publikation geht hervor, ob diese Werte zum Zeitpunkt der Antragstellung noch nicht verfügbar waren und erst nachträglich ermittelt wurden.

3.2.7.4 FAZIT

Die Werte mehrerer gemessener Parameter der RR-Sojabohnen liegen außerhalb der aus der Literatur bekannten Schwankungsbreiten (siehe Tabelle A 3 im Anhang). Dies trifft für die Mittelwerte mehrerer Parameter in rohen Sojabohnen, sowie für Einzelmessungen der anderen Fraktionen (geröstete und nicht geröstete Sojabohnen) zu. Wenn Abweichungen von den Literaturwerten beobachtet werden, so sind diese für alle drei Linien (beide GV Linien und die Kontrolle) gegeben. Ausnahmen bilden Feuchte und Faseranteil in rohen Sojabohnen (nur Kontrolle und GV Linie 40-3-2 lagen außerhalb der Literaturwerte), Urease in gerösteten Sojabohnen (large scale Versuch, nur GV Linie 61-67-1 lag außerhalb) und Kohlehydrate in entfettetem Mehl (nur GV Linien lagen außerhalb) sowie Protein im Proteinisolat und Fett in Proteinkonzentrat (nur GV Linie 61-67-1 lag außerhalb).

Die Bestimmung von Isoflavonwerten ist aufgrund ihrer phytoöstrogenen Wirkung ein wesentlicher Bestandteil der Evaluierung von RR-Sojabohnen. Im Zulassungsantrag wird für RR-Soja eine Abweichung des Daidzein-Gehaltes (gehört zur Gruppe der Isoflavone) erwähnt. Diese Abweichung geht über die in der Literatur berichtete Schwankungsbreite hinaus. Im Zulassungsantrag wird jedoch dies durch die breite Variabilität der Standorte und Umwelteinflüsse relativiert. Das Abweichen anderer Werte von den Literaturwerten wird von den Autoren des Zulassungsantrages darauf zurückgeführt, dass die Verarbeitung auf experimenteller Ebene (40 bis 730kg) und nicht auf kommerzieller Ebene (mehr als 900 Tonnen/Tag) erfolgte. Für diesen Fall werden im Zulassungsantrag die gemessenen Werte der RR-Soja nicht mit Werten aus der Literatur, sondern mit Werten der entsprechenden Elternlinie verglichen.

Das Konzept der substanzialen Äquivalenz ist ungeeignet, um eine Aussage über die Sicherheit eines Lebensmittels zu treffen.

Standort, Jahr, Anbaubedingungen, Erntezeitpunkt, Verarbeitung und Analytik beeinflussen die Inhaltsstoffwerte signifikant.

Auf Seite 33 des Zulassungsantrages wird hingegen argumentiert, dass jene Werte, die statistisch signifikant unterschiedlich zwischen RR-Soja und Elternlinie waren, im erwartendem Bereich der Variabilität lagen und deshalb keinen "bedeutenden" Unterschied zwischen der RR-Soja und der Kontrolle darstellen.

Es zeigt sich klar, dass im Zulassungsantrag immer jene Werte verglichen werden, die für den Nachweis der substanziellen Äquivalenz am günstigsten sind. Wenn die Werte zwischen RR-Soja und Elternlinie statistisch signifikant auseinanderliegen, dann wird auf Literaturwerte verwiesen. Wenn die Werte von RR-Soja zur Literatur statistisch signifikant abweichen, dann wird auf die Elternlinie verwiesen. Weitere statistische Abweichungen werden mit Unterschieden in der Verarbeitung begründet. Die Inhaltsstoffanalysen der RR-Sojabohne zeigen deutlich, dass das Konzept der substanziellen Äquivalenz sehr anfällig für großzügige Interpretationen ist.

Als weiterer Punkt ist anzumerken, dass eine Vergleichbarkeit der kommerziell verwerteten RR-Sojalinie (Linie 40-3-2) mit der zweiten GV Linie (61-67-1) nicht zulässig erscheint, da diese nicht ausreichend molekular charakterisiert ist. Aus Padgett *et al.* (1995) geht hervor, dass diese Linie andere Sequenzen des Plasmids beinhaltet. So ist in dieser Linie kein CaMV E35S Promotor nachweisbar (siehe southern blot in Fig. 3, S 1457 in Padgett *et al.* 1995), jedoch ist der CMoVb Promoter (figwort mosaic virus 35S promotor) und die zweite CP4 EPSPS Genkassette integriert. Angaben zum Expressionsniveau sind nur für die Linie 40-3-2, aber nicht für 61-67-1 angegeben (Padgett *et al.* 1995), daher kann nicht davon ausgegangen werden, dass sowohl Insert als auch Integrationsort und Expression in beiden RR-Sojabohnenlinien vergleichbar sind.

Ein Inhaltsstoffvergleich mit einer zweiten GV-Sojabohnenlinie ist nicht zulässig, wenn diese molekular unterschiedlich ist.

Als zusammenfassende Kritik an den Inhaltsstoffanalysen lässt sich formulieren, dass die Angaben zu den Inhaltsstoffen der RR-Sojabohne generell nicht schlüssig sind, da die Methodik, Verarbeitung und Auswertung nicht konsistent und nicht immer nachvollziehbar sind. In jenen Fällen, wo jedoch signifikante Unterschiede zwischen GV Linie und Elternlinie nachgewiesen wurden, wird damit argumentiert, dass die Werte innerhalb der berichteten Literaturwerte liegen. An anderer Stelle wird von Padgett *et al.* (1996) betont, dass die Literaturwerte mit den von ihnen nachgewiesenen Werten schwer vergleichbar sind, da sowohl Analytik und Probenvorbereitung oft unterschiedlich erfolgen und zudem die Daten aus der Literatur relativ alt sind und nicht alle Inhaltsstoffe moderner Sojavarietäten berücksichtigen.

3.2.8 FAZIT SICHERHEITSPRÜFUNG VON RR-SOJA IM RAHMEN DES ZULASSUNGSVERFAHRENS

Die Auswertung lässt sich auf zweierlei Ebenen zusammenfassen.

1. Die toxikologische Relevanz der durchgeführten Arbeiten
2. Die Qualität der durchgeführten Arbeiten

3.2.8.1 DIE TOXIKOLOGISCHE RELEVANZ DER DURCHGEFÜHRTEN ARBEITEN

Wie im Kapitel 3.3 gezeigt wird, sind subchronische und chronische Studien mit der gesamten GVO Pflanze durchzuführen, um verlässliche Aussagen über das gesundheitliche Gefährdungspotenzial der Roundup-Ready-Sojabohne zu erhalten. Derartige Toxizitätstests wurden nicht durchgeführt.

Stattdessen wurden vom Antragsteller Futtermittlungsstudien vorgelegt, die die Sicherheit der RR-Sojabohne und des neu eingebrachten EPSPS Gens dokumentieren sollen. Als Endpunkte werden hier nicht toxikologische Parameter, wie z.B. histopathologische Untersuchungen von verschiedenen Geweben, sondern Parameter, die kommerziellen Zwecken dienen, wie Körpergewicht, Körpergewichtszuwachs, Organengewichte bzw. Konsumation angegeben. Die vier Wochen dauernde Fütterungsstudie der RR-Sojabohne mit Ratten wird in Padgett *et al.* (1994) als Nachweis der substanziellen Äquivalenz interpretiert. Es wird im Zulassungsantrag ausdrücklich erwähnt, dass es sich hierbei nicht um einen Toxizitätstest handelt. Die in Tabelle 4 und Tabelle A 1 (siehe Anhang) beschriebenen Effekte werden nicht ausdrücklich von den Autoren des

Zulassungsantrags erwähnt. Im Zulassungsantrag wird darauf hingewiesen, dass keine statistisch signifikanten Unterschiede in den gemessenen Parametern vorlagen.

Die durchgeführten Analysen haben keinen (Inhaltsstoffanalysen) bzw. äußerst begrenzten toxikologischen Aussagewert (akut toxische Studien, Futtermittelforschungsstudien).

Auf Basis der im Rahmen des Zulassungsverfahrens vorgelegten Studien kann die Sicherheit der Roundup-Ready-Sojabohne nicht garantiert werden.

3.2.8.2 QUALITÄT DER DURCHGEFÜHRTEN ARBEITEN

Wie oben mehrfach beschrieben, entspricht das Methodendesign der vergleichenden Inhaltsstoffanalyse nicht den Standards, wie sie für wissenschaftliche Arbeiten angelegt werden. Ein Vergleich von Inhaltsstoffen ist nur dann sinnvoll, wenn die Pflanzen auf der gleichen Fläche angebaut werden. Nur so kann man ausschließen, dass die Ergebnisse nicht durch Umwelteinflüsse wie z.B: Sonneneinstrahlung, Bodenqualität etc. verfälscht werden (siehe auch Pusztai et al 2003).

Zudem ist die fachliche Interpretation der Ergebnisse im allgemeinen großzügig gestaltet. Die fachliche Nachvollziehbarkeit der ausgewählten Methoden und der Interpretation ist nicht immer gegeben.

3.3 EXKURS: ALLGEMEINE ÜBERLEGUNGEN ZUR TOXIZITÄTSPRÜFUNG VON GVO

3.3.1 EINLEITUNG

Von Seiten der Industrie, der Behörden und einigen Vertretern der Wissenschaft wird argumentiert, dass konventionell gezüchtete Kulturpflanzen wie (Mais, Weizen, Rogge, Kürbis etc.) generell sicher sind (*GRAS* Ansatz: *generally regarded as safe*). Da konventionell gezüchtete Kulturpflanzen aber nicht toxikologisch geprüft werden, müssen auch für gentechnisch veränderte Pflanzen keine toxikologischen Tests durchgeführt werden, wenn gezeigt werden kann, dass die gentechnisch veränderte Pflanze substantiell äquivalent zur nicht gentechnisch veränderten Ausgangssorte ist.

Die Durchführung von toxikologischen Tests wird weder von den Behörden noch von der Industrie als notwendig erachtet. In einigen Fällen werden jedoch akut toxische Studien mit dem bakteriell exprimierten Protein durchgeführt. Zum Ausschluss von chronischen Toxizitätsrisiken werden *in vitro* Analysen mit bakteriellem Protein durchgeführt.

Zusammenfassend basiert die Sicherheitsbewertung auf drei Argumentationssäulen

Test	Zweck
• Nachweis der Substantiellen Äquivalenz zwischen gentechnisch veränderte Sorte und Elternlinie	• Prinzipieller Nachweis der Gleichwertigkeit = allgemeiner Nachweis der Sicherheit
• <i>In vitro</i> Verdauungsstudien	• Ausschluss chronischer Toxizität
• Akute Toxizität	• Ausschluss akuter Toxizität

Dadurch wird klar, wie wichtig der Nachweis der substantielle Äquivalenz für den Antragsteller ist. Ebenso wird verständlich, warum der Antragsteller im Zulassungsantrag der RR-Sojabohne durch großzügige Interpretationen zum Schluss kommt, dass die gefundenen Werte keine Abweichung zur Elternlinie oder zu Literaturwerten aufweisen bzw. dass die Unterschiede biologisch nicht bedeutsam sind und somit die substantielle Äquivalenz nachgewiesen sei. Es wird auch deutlich, warum der Antragsteller feststellt, dass die durchgeführten

toxikologischen Tests rein freiwilliger Natur sind. Unklar ist jedoch, warum die Behörden hier keine stringendere Sicherheitsbewertung einfordern.

Jede dieser oben formulierten Argumentationssäulen zur Sicherheitsbewertung von GVOs ist aus wissenschaftlicher Sicht höchst fragwürdig. Die Kritik an dieser Form der Sicherheitsbewertung ist vielfältig, und lässt sich wie folgt zusammenfassen:

1. Unklare Umsetzung des Prinzips der Substantiellen Äquivalenz
2. Mangelnde wissenschaftliche Aussagekraft des Prinzips der Substantiellen Äquivalenz
3. Geringe Aussagekraft von in vitro Verdauungsstudien
4. Geringe Aussagekraft von akuten Toxizitätstests
5. Geringe Aussagekraft von Test mit dem bakteriell exprimierten Protein versus Tests mit der ganzen transgenen Pflanze
6. Mangel an chronischen toxikologischen Tests

Diese Kritik wird im folgenden näher ausgeführt.

3.3.2 UNKLARE UMSETZUNG DES PRINZIPS DER SUBSTANTIELLEN ÄQUIVALENZ

Jedes Bewertungssystem, das für sich „Objektivität“ beansprucht, muss entscheidungsoffen sein. Das heißt, es muss möglich sein, einen GVO als sicher bzw. als nicht sicher einzustufen zu können. Es müssen deshalb klare Parameter aufgestellt werden, wann ein GVO als sicher und wann ein GVO als unsicher einzustufen ist und welche Untersuchungen durchzuführen sind, damit man diese Bewertung durchführen kann.

Am Beispiel der RR-Sojabohne wird deutlich, dass ohne klare methodische Vorgaben die Antragsteller ein großes Spektrum an methodischen Möglichkeiten nutzen, um die substantielle Äquivalenz „nachzuweisen“. Da Standorteigenschaften einen wesentlichen Einfluss auf die Inhaltsstoffzusammensetzung haben, erhält man durch die Zusammenfassung von Werten aus unterschiedlichen Standorten und Anbaujahren eine sehr große Standardabweichung in der Kontrollvariante. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit, dass die Werte der gentechnisch veränderten Variante innerhalb der „natürlichen Schwankungsbreite“ der Kontrollvariante liegen, deutlich erhöht. Eine seriöse Aussage, ob Unterschiede im Inhaltsstoffspektrum bestehen, ist nur dann möglich, wenn die gentechnisch veränderte Pflanze parallel zur konventionellen Ausgangslinie angebaut wird.

In der derzeitigen Praxis des Nachweises der substantiellen Äquivalenz scheint es nur ein Ergebnis zu geben: der GVO ist sicher.

Der GVO ist sicher, wenn er

1. gleichwertig zur Elterlinie ist
2. nicht gleichwertig zur Elterlinie, aber gleichwertig zu Literaturwerten ist
3. wenn er weder gleichwertig zur Elterlinie noch zu Literaturwerten ist, denn dann sind gefundene Unterschiede biologisch nicht relevant.

Dies wird auch dadurch belegt, dass von dem letztlich entscheidenden Scientific Committee on Plants bzw. Scientific Committee on Food kein einziger Zulassungsantrag wegen toxikologischer Gefährdungen abgewiesen wurde.

Es stellt sich natürlich die Frage, warum man überhaupt Parameter untersucht, die in Falle einer Abweichung (Nicht-Gleichwertigkeit) als biologisch nicht relevant eingestuft werden?

Doch selbst bei klar biologisch relevanten Parametern, wie z.B. Trypsininhibitoren, führen signifikante Abweichungen nicht zu einem Zulassungsverbot, sondern werden toleriert.

Dem Prinzip der substantiellen Äquivalenz mangelt es an klaren methodischen Vorgaben und Entscheidungsparametern (zB Schwellenwerten), wodurch die Anwendbarkeit des Prinzips an sich schon in Frage gestellt ist. So fand auch der

Schenkelaars Bericht (Schenkelaars 2001) Unterschiede in der Zusammensetzung von gentechnisch verändertem Mais und den Kontroll-Linien in allen Notifikationen. Zudem kritisiert der Bericht die fehlende Konsistenz in den vorgelegten Daten, sogar in Bezug auf eine einzige Feldfrucht, sowie die unzureichende statistische Auswertung. Diese Kritik gilt in vollem Umfang auch für die hier analysierte RR-Sojabohne

3.3.3 MANGELNDE WISSENSCHAFTLICHE AUSSAGEKRAFT DES PRINZIPS DER SUBSTANZIELLEN ÄQUIVALENZ

Eine viel tiefergreifende Kritik am Prinzip der substanzialen Äquivalenz richtet sich an die toxikologische Aussagekraft des Prinzips.

Selbst wenn man das Prinzip der substanzialen Äquivalenz mit einem verbindlichen Charakter mit klarer Methodenbeschreibung, klaren Inhaltstofflisten und klaren Grenzwerten für tolerierte Abweichungen versehen würde, stellt sich die Frage, ob sich von Daten zur Inhaltsstoffzusammensetzung toxikologisch relevante Aussagen ableiten lassen.

Wie Millstone (1999b) argumentiert, kann das Fehlen von groben chemischen Unterschieden nicht den Schluss zulassen, dass beide Varietäten toxikologisch oder immunologisch ident sind. Er kritisiert, dass das Konzept der substanzialen Äquivalenz nicht als vorläufige Hypothese, die mittels toxikologischer und immunologischer Tests zu überprüfen wäre, verwendet wird, sondern stattdessen als Rechtfertigung genutzt wird, um solche Untersuchungen **nicht** durchzuführen.

Zudem ist das Konzept der substanzialen Äquivalenz fraglich, wenn nicht klar ist, welche Konsequenz die beobachteten Unterschiede für die Sicherheit eines Lebensmittels haben. Wie Millstone (2002a) schreibt, ist das Verständnis von analytischen Daten niemals ausreichend, *“...solange wir die toxikologischen und immunologischen Implikationen dieser Analysen nicht verstehen...und dies wird auch nicht anders sein, selbst wenn neuere Techniken (RNA microarrays, metabolic profiling) es erlauben, genauere und mehr Daten zu erhalten”*.

Bisher mangelt es dem Prinzip der substanzialen Äquivalenz an einer wissenschaftlichen Grundlage.

Denn dass aufgrund des Nachweises der substanzialen Äquivalenz auch die Sicherheit des GVO nachgewiesen ist, wurde bisher nur postuliert (behauptet). Das Prinzip der substanzialen Äquivalenz ist bis heute eine nicht validierte Hypothese. Bisher wurden keine umfangreichen experimentellen Studien durchgeführt, die diese Hypothese belegen könnten.

Die Kritik am wissenschaftlichen Wert des Prinzip der substanzialen Äquivalenz fand letztlich auch in die EU-VO 1829/2003 (Novel Food Feed) Eingang. Darin wurde festgelegt, dass das Prinzip der substanzialen Äquivalenz nur noch als Ausgangspunkt der Datenanalyse anzusehen ist, jedoch die eigentliche Sicherheitsbewertung nicht ersetzen dürfe.

3.3.4 GERINGE AUSSAGEKRAFT VON TEST MIT DEM BAKTERIELL EXPREMIERTEN PROTEIN VERSUS TESTS MIT DER GANZEN TRANSGENEN PFLANZE

In den von Spök *et al.* (2002) und Gaugitsch *et al.* (2003) untersuchten Zulassungsanträgen fanden sich zum Zeitpunkt der Analyse keine toxikologischen Studien mit der ganzen GVO-Pflanze, jedoch mehrere akut toxikologische Untersuchungen mit dem bakteriell exprimierten Protein. Die einzige Toxizitätsstudie zur Roundup-Ready-Sojabohne erfolgte mit Mäusen, denen das in *E. coli* exprimierte Protein oral verabreicht wurde (akute Toxizitätsstudie). Auf die Mängel des im Antragsverfahren dargelegten Proteinvergleiches wurde bereits im Kapitel 3.2.4 hingewiesen.

Toxizitätsstudien bei GVO werden selten und wenn doch, dann fast ausschließlich mit einem bakteriell produzierten und nicht mit dem Protein der gentechnisch veränderten Pflanze durchgeführt (siehe Spök *et al.* 2002).

Diese Vorgangsweise ist mehrfach problematisch:

- Pleiotrope Effekte, die im Rahmen des Transformationsprozesses auftreten können, werden durch dieses Methodendesign nicht erfasst.
- Die Proteinqualität selbst kann sehr unterschiedlich sein, da Proteine in Pflanzen auch post-translational modifiziert werden können (z.B. Glykosylierung).

Die geringe Aussagekraft toxikologischer Tests mit isolierten Genprodukten für die Sicherheitsbewertung von GVO wurde bereits von mehreren Autoren diskutiert (siehe z.B. Millstone 1999, Walker 2000, Spök et al. 2002b). Daher schlägt Millstone (1999) unter anderem vor, toxikologische Tests im Tierversuch mit GV Lebensmitteln in unterschiedlichen Mengen in den Diäten zu evaluieren. Das Testen ganzer Nahrungsmittel wird von der WHO/FAO dann empfohlen, wenn nicht ausgeschlossen werden kann, dass nur die erwarteten Veränderungen und nicht auch sekundäre pleiotrope Veränderungen im GV Nahrungsmittel stattgefunden haben (Walker 2000). Dann sollten detailliertere toxikologische Evaluationen durchgeführt werden, vor allem, wenn das Nahrungsmittel einen signifikanten Beitrag in der Ernährung leistet.

Es stellt sich die prinzipielle Frage, ob die Produktion des transgenen Proteins via *E. coli* und die Verwendung dieses Proteins für Toxizitätstests, aber auch für chemische Analysen oder Verdauungstest u. a., ein legitimes Methodendesign darstellt.

Wie der Name schon sagt, ist jedes Transformationsereignis („event“) für sich ein eigenes Ereignis. In Kapitel 3.5.4 wurde bereits beschrieben, dass unterschiedliche Events in der Roundup-Ready-Sojabohne zu unterschiedlichen Expressionsmustern des EPSPS Proteins führten. Jedes Event zeichnet sich durch spezifische Veränderungen auf der DNA aus, die nicht vorhersagbar und auch nicht steuerbar sind. Sowohl die Roundup-Ready-Sojabohne (siehe Kapitel 3.5.2) als auch der insektenresistente Bt11 Mais (De Schrijver and Moens 2003) und der herbizidresistente Mais NK603 (EFSA 2003) enthalten neben dem eigentlichen Insert noch weitere Bruchstücke des Transgens bzw. unbekannte Bruchstücke. Diese Bruchstücke werden im Rahmen des Transformationsprozesses offensichtlich oder scheinbar unkontrolliert und unbeabsichtigt in die DNA der Pflanze eingebaut. Aus der Sicht der Risikobewertung ist klar, dass diese „Nebenwirkungen“ einen wesentlichen Einfluss auf die Sicherheit von GVO haben können.

“Scientifically, one never demonstrates sameness, rather the absence of differences according to a set of tests and criteria” (Cohen 2003).

Unterstützung erhält diese Sichtweise durch neuere Erkenntnisse über unerwartete Nebenwirkungen von Medikamenten, die mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen hergestellt worden sind. Es wurde deutlich, dass das mittels gentechnisch veränderten Mikroorganismen hergestellte Produkt des Originalherstellers sich in seiner Wirkung und Nebenwirkungen sehr deutlich von Produkten eines Lizenzpartners oder Generikafirmen unterscheiden kann, wie folgendes Zitat (Bahnsen 2002) zeigt:

„Gleiche Produkte verschiedener Hersteller können nicht als identisch betrachtet werden, selbst wenn zur Produktion dasselbe Gen und dieselben Produktionszellen unter gleichen Bedingungen verwendet werden“ warnt Schellekens. Es gebe mit Sicherheit unbekannte Faktoren bei der Produktion solcher Wirkstoffe, die biologische Eigenschaften von Biopharmazeutika verändern können. Selbst die Originalhersteller können die Biowirkstoffe kaum bis ins letzte Detail charakterisieren. Angesichts der Herstellungsprobleme sind sich Bio-Tech-Lobby und Generikafirmen wenigstens in diesem Punkt einig: „Der Nachweis der Bioäquivalenz ist nicht möglich“ (Bahnsen 2002).

Biomoleküle sind im Gegensatz zu chemischen Molekülen recht große Moleküle, weshalb im Organismus oder auch im Bioreaktor kleinere bis größere Modifizierungen erfolgen können. Kleine Veränderungen im Produktionsprozess können wesentliche Unterschiede in der Sicherheit des Produktes bewirken, wie dies der Fall „Eprex“ (ein Medikament für Nierenkranke der Firma Johnson & Johnson) beweist. Nur durch eine leichte Veränderung des Herstellungsprozesses war es zu schweren Nebenwirkungen gekommen. Bei mindestens 179

Nierenkranken wurde inzwischen der begründete Verdacht auf Pure Red Cell Aplasia (PRCA), einer dauerhaften Blutarmut geäußert, mit der Folge, dass diese Patienten auf kontinuierliche Bluttransfusionen angewiesen sind, um ein angemessenes Niveau an Hämoglobin aufrechtzuerhalten (Haselbeck 2003, Casadevall 2003, siehe auch Bahnsen 2002). Eprex ist ein rekombinantes menschliches Erythropoietin (epoetin), das in gentechnisch veränderten Mikroorganismen produziert wird.

Das Problem ist evident, die Ursachen sind im Detail unbekannt, wie dies folgende Aussagen deutlich machen:

“The problem is that as we noted earlier, biologics are in fact complicated to make and no one really believes that all the assays used to prove batch-to-batch comparability guarantee molecular identity. Indeed, as noted in the BIO petition “Scientifically, one never demonstrates sameness, rather the absence of differences according to a set of tests and criteria.” Turn the process over to a new group of people in a different plant and even though they may be following the same manufacturing process as the original manufacturer and using the same characterization and release assays there’s no guarantee they’re making the same thing. Even worse, have the new group make the biologic by a process different from the original and the concerns become even more acute. The complexity of biologics requires a degree of caution beyond that applied to chemicals” (Cohen 2003).

Dies soll auch durch Zitate von Jimenez der Firma Johnson & Johnson nochmals verdeutlicht werden: *„even slight changes may have unexpected effects on safety and efficacy... current analytical methods are limited in their detection of product variation that may effect safety and efficacy. Biological products have exhibited variation in efficacy and safety despite passing by all of testing and analytical specifications”* (Jimenez 2003).

Wenn die Übertragung und der Wechsel des Produktionsprozesses desselben transgenen Genabschnittes von einem Mikroorganismus in einen anderen zu erheblichen Unterschieden in der Eigenschaft und Nebenwirkung des Produktes führen kann, dann gilt dies auch für die Übertragung von Genabschnitten von Mikroorganismen in Pflanzen als auch von Pflanzen in Mikroorganismen. Die Gleichwertigkeit der Genprodukte muss deshalb auch für die in *E. coli* produzierten transgenen Pflanzenproteine in Frage gestellt werden. Die Verwendung von bakteriell exprimierten Proteinen anstelle der ganzen transgene Pflanze für Toxizitätstest liefert ähnlich unvollständige Ergebnisse. Sicherheitsprüfungen sollten mit dem Toxin/Protein der gentechnisch veränderten Pflanze oder besser mit der gesamten gentechnisch veränderten Pflanze durchgeführt werden, um unerwartete Effekte der Transformation in die Analyse miteinzubeziehen. Zu einer ähnlichen Schlussfolgerung kommt auch Gaugitsch *et al.* (2003). Da die Identität der Tertiärstruktur der Proteine und ein genügend hoher Reinigungsgrad mit üblichen Mittel nicht gewährleistet werden kann, sei die „Freiheit, toxikologische Untersuchungen überhaupt mit bakteriell produzierten Genprodukten durchführen zu können, zu überdenken“. (Gaugitsch *et al.* 2003, 116f).

3.3.5 GERINGE AUSSAGEKRAFT VON IN VITRO VERDAUUNGSSTUDIEN

In vitro Verdauungsstudien von Proteinen kommt eine Schlüsselrolle in der Argumentation der Sicherheit von GVO zu. Eine rasche *in vitro* Verdaubarkeit der neu eingeführten gentechnisch veränderten Proteine beweist laut Antragstellern, dass das neu eingeführte Protein und somit der GVO

- nicht allergen wirken kann, und weiters
- dass keine chronische Toxizität vorliegen kann

Auf die begrenzte Aussagekraft von Verdauungsstudien für die Untersuchung des Allergenitätspotenzials sei hier explizit nicht eingegangen, sondern auf Gaugitsch *et al.* (2003) verwiesen.

In vitro Verdauungsstudien sind in der Toxikologie jedoch nicht vollständig unumstritten und werden z.B. vom SCP (1998) nicht vollwertig und als Ersatz für eine *in vivo* Untersuchung angesehen. Weitaus bedenklicher erscheint, dass *in*

in vitro Studien zu völlig falschen Schlussfolgerungen führen können. So wird auf Basis von *in vitro* Untersuchungen gezeigt, dass das Bt-Toxin binnen weniger Sekunden bis Minuten im Magen-Darm-Trakt abgebaut wird. Die wenigen *in vivo* Studien mit Bt-Mais zeigten, dass die Ergebnisse der Verdauungsstudien keine verlässlichen Angaben bringen. Im Gegensatz zu den *in vitro* Verdauungsstudien konnte das Bt-Protein im gesamten Verdauungstrakt von Schweinen nachgewiesen werden (Chowdhury et al. 2003). Der Abbau fand offensichtlich deutlich verzögert statt und ist unvollständig, da auch noch Toxine im Kot nachgewiesen werden konnten.

Da die Industrie für Vermarktungsanalysen Futtermittlungsstudien bei Tieren ohnehin kontinuierlich durchführt, sollte sich eine *in vivo* Untersuchung zur Abbaurate des Proteins ohne großen Zusatzaufwand realisieren lassen. *In vitro* Verdauungsstudien sind nicht geeignet, um chronische Gesundheitsschäden auszuschließen. Zudem sei angemerkt, dass eine kontinuierliche Exposition, d.h. Konsumation, sehr wohl chronische Studien notwendig erscheinen lässt.

3.3.6 GERINGE AUSSAGEKRAFT VON AKUTEN TOXIZITÄTSTESTS

Akut toxische Effekte können im Rahmen von Futtermittlungsstudien sowie durch allgemeine Beobachtungen leicht identifiziert werden. Der Wert von „akut toxikologischen“ Studien ist gering, und sollte nur im begründetem Verdachtsfall durchgeführt werden, wenn Futtermittlungsstudien solche Effekte nahe legen. Die Aufnahme histopathologischer Befunde im Rahmen von Futtermittlungsstudien wäre jedoch eine sinnvolle Alternative von akuten Toxizitätstests.

Langzeiteffekte können nicht durch „allgemeine Beobachtungen, sondern nur durch kontrollierte Studien erfasst werden. Das Argument, dass es in den USA, Kanada und Argentinien trotz des jahrelangen Verzehrs von GVOs zu keinen gesundheitlichen Schäden gekommen ist, ist unrichtig. Ebenso könnte man behaupten, dass Asbest oder Rauchen in USA zu keinen gesundheitlichen Schäden führt, da die Raucher ja Jahrzehntlang gesund bleiben. Der Anstieg von chronischen Krankheiten und die Evaluierung möglicher Ursachen lassen sich nur durch epidemiologische Studien oder im Tierversuch erfassen. Durch allgemeine Beobachtung lässt sich lediglich sagen, dass ein GVO keine schweren akuten Vergiftungen hervorruft.

3.3.7 EMPFEHLUNGEN FÜR CHRONISCHE TOXIKOLOGISCHE TESTS

Hofer (in Spök et al. 2002) schlägt zur Sicherheitsabschätzung von GVO vor, auf mögliche krankhafte Gewebsveränderungen in toxikologischen Tierversuchen zu fokussieren, die unter Umständen verzögert oder nach Langzeitkonsumation auftreten können. Akute Toxizitätstests und Fütterungsstudien mit Endpunkten wie z.B. Nahrungsaufnahme, Gewichtszuwachs besitzen seiner Meinung nach eine geringe Aussagekraft.

Aus toxikologischer Sicht sind, in Anlehnung an die toxikologische Prüfung von Pflanzenschutzmitteln gemäß EU-Pflanzenschutzmittelrichtlinie 91/414/EWG, folgende Studien mit dem gesamten GVO (so wie er als Lebensmittel bzw. als Futtermittel verabreicht wird) durchzuführen:

- Subchronische Toxizitätstest 90 Tage
- Chronische Toxizitätsstudien
- Kanzerogenitätstest für 24 Monate
- Reproduktionstoxische Studien über 2 Generationen
- Neurotoxische Untersuchungen

Anstatt toxikologischer Tests werden Futtermittlungsstudien herangezogen, um die Sicherheit der GV-Sojabohne belegen.

Das Testen ganzer Nahrungsmittel wird von der WHO/FAO dann empfohlen, wenn nicht ausgeschlossen werden kann, dass nur die erwarteten Veränderungen und nicht auch sekundäre pleiotrope Veränderungen im GV Nahrungsmittel stattgefunden haben (Walker 2000). Dann sollten detailliertere toxikologische Evaluationen durchgeführt werden, vor allem, wenn das Nahrungsmittel einen signifikanten Beitrag in der Ernährung leistet.

Als Minimum wird eine 90 Tage subchronische Toxizitätsstudie angeführt, die jedoch noch erweitert werden kann (Walker 2000). Vor allem dann, wenn es sich um ein vollkommenes neues oder extensiv verändertes GV-Nahrungsmittel handelt, können ähnliche Tests wie sie für Zusatzstoffe verlangt werden, mit Endpunkten wie Effekte auf Reproduktion, Teratogenität und potenzielle Karzinogenität (Walker 2000). Auch klinische Studien und post-marketing Monitoring werden als Sicherheitsfaktoren solcher GV-Nahrungsmittel empfohlen. Die Durchführbarkeit und Validität von Studien mit ganzen Diäten zur Abschätzung von Krebsrisiken wurde von Alink et al. (1997) gezeigt. Sie testeten ganze Diäten im Tierversuch über die gesamte Lebensdauer (30 Monate) und zeigten Effekte unterschiedlicher Diäten (Tierdiät, menschliche Diät mit und ohne Gemüse, verarbeitet, unverarbeitet) auf Labormäuse, bei denen Darmkrebs chemisch induziert wurde.

Welche Konsequenzen haben beobachtete Unterschiede in den Inhaltsstoffen für die Sicherheit eines Lebensmittels?

Mit Kurzzeitstudien lässt sich die tägliche und lebenslange Aufnahme des Konsumenten von Roundup-Ready-Sojabohnen bzw. deren Derivate kaum simulieren. Tests über die gesamte Lebensdauer von Ratten scheinen in jedem Fall angebracht und wie oben beschrieben auch methodisch durchführbar. Mit gewebspezifischen (histopathologischen) Untersuchungen sollten Kanzerogenität, Immuntoxizität und Reproduktionstoxizität überprüft werden.

3.3.8 FAZIT

Der aktuelle Stand (Dezember 2003) der Sicherheitsbewertung von GVO in der EU, lässt sich anhand des Bewertungsberichtes der European Food Safety Agency über den Herbizid-toleranten Mais NK603 ablesen (EFSA 2003). Hierin werden Inhaltsstoffanalysen, Futtermittlungsstudien, eine akut toxische Studie mit dem bakteriellen Protein und eine subchronische Toxizitätsstudie mit der ganzen GVO-Pflanze angegeben. Die EFSA selbst sieht keine Notwendigkeit für akut toxische Studien mit dem bakteriellen Protein, wobei unklar ist, ob sie akut toxische Studien *per se* für entbehrlich hält oder Studien mit dem bakteriellen Toxin anstelle von Studien mit ganzen Pflanzen für entbehrlich hält. Die EFSA sieht zur Zeit keine Notwendigkeit für chronisch toxikologische Studien. Die ungenügende Form der Sicherheitsbewertung findet demnach ihre Fortsetzung. Somit hinkt die amtliche Risikoforschung dem Stand des Wissens hinterher. Ohne chronisch toxikologischen Studien lässt sich das Risiko von chronischen Gesundheitsschäden nicht ausschließen.

3.4 TOXIKOLOGISCHE STUDIEN MIT DEM TOTALHERBIZID GLYPHOSAT

3.4.1 VERSUCHE DES HERBIZIDHERSTELLERS

Die WHO evaluierte Glyphosate bereits 1986 (WHO/FAO 1986a; WHO/FAO 1986b). Das International Program on Chemical Safety brachte 1994 einen Environmental Health Criteria Monograph sowie 1996 ein WHO/FAO Datenblatt über Glyphosat heraus (WHO/IPCS 1994; WHO/FAO 1996). Die in diesen Dokumenten zitierten Toxizitätsstudien wurden größtenteils von den Herstellern des Herbizids durchgeführt. Durchgeführte Kurzzeit- und Langzeittoxizitätstests, Reproduktiv-, Entwicklungstoxizitäts- bzw. Mutagenitätstests, die im Rahmen der WHO Evaluierungen angeführt werden, sind in den Tabelle A 6, Tabelle A 7, Tabelle A 8 und Tabelle A 9 im Anhang aufgelistet. Die WHO kommt in einem ihrer Dokumente zu dem Schluss, dass aufgrund der vorgelegten Untersuchungen Glyphosat nicht kanzerogen, mutagen oder teratogen ist und dass Effekte auf die Reproduktion nur bei einer Dosis beobachtbar war, bei der bereits mütterliche Toxizität auftrat (WHO/IPCS 1994). Bei sachgemäßer Verwendung und chronischer Exposition haben mehrere regulatorische Institutionen Glyphosat als Herbizid zugelassen, da sie der Ansicht sind, dass es keine Indikation für negative Effekte von Glyphosat auf die menschliche Gesundheit gibt (siehe auch Williams *et al.* 2000).

Mehrere regulatorische Institutionen sprechen Glyphosat eine Unbedenklichkeit hinsichtlich seiner Wirkung auf die menschliche Gesundheit zu.

Alle Pestizide, die in der Europäischen Union vor 1993 zugelassen waren, unterliegen derzeit einem Re-Evaluierungssprozess (Artikel 8.2. der Richtlinie 91/414/EEC). Die Studien, die für die Aufnahme von aktiven Substanzen in die Positivliste im Anhang I vorgelegt werden müssen, umfassen toxikologische Tests und diese sind dezitiert im Anhang der Richtlinie ausgewiesen. Ziel dieser Tests ist die Angabe eines NOAEL-Wertes (**n**o **o**bserved **a**dverse **e**ffect level) jeweils für akute Toxizität, Kurzzeittoxizität (subchronische Toxizität), chronische Toxizität und Kanzerogenität, reproduktive und Entwicklungstoxizität. Auch wird die Evaluierung von Mutagenität und Neurotoxizität verlangt. Als Endpunkte in Genotoxizitätsstudien werden Genmutationen, chromosomale Abweichungen und DNA-Schädigung bzw. DNA-Aktivität evaluiert, wofür standardisierte Testprotokolle vorliegen. Die erforderlichen Studien für Glyphosat wurden in erster Linie von den Hauptantragstellern Monsanto, Cheminova und Feinchemie Schwebda vorgelegt (siehe: *review report for the active substance glyphosate. Finalised in the Standing Committee on Plant Health at its meeting on 29 June 2001 in view of the inclusion of glyphosate in Annex I of Directive 91/414/EEC; 21 January 2002*). Der Großteil der Studien ist vertraulich und daher im Rahmen dieser Literaturrecherche nicht zugänglich (siehe Appendix IIIA des Review Reports). Glyphosat wurde am 29. Juni 2001 in den Anhang I („Positivliste“) der Richtlinie aufgenommen (siehe entsprechende Richtlinie 2001/99/EEC vom 20 November 2001). In den in Appendix II aufgelisteten Tests weist Glyphosat keine Geno-, Neurotoxizität oder Kanzerogenität auf. Als „Accepted Daily Intake“ (ADI Wert) wird ein Wert von 0,3 mg/kg angegeben, der auf den Langzeitversuchen mit Ratten und einem Sicherheitsfaktor von 100 beruht.

3.4.2 DISKUSSION

Eine Übersicht über statistisch signifikante negative Effekte von Glyphosat, die im Rahmen der von der WHO/FAO zitierten Toxizitätstests festgestellt wurden, gibt Tabelle 7. Die WHO führt das in den Toxizitätstests beobachtete erhöhte Auftreten von testikulären Karzinomen (Punkt 1 in Tabelle 7) nicht auf einen „treatment-related effect“, also die Verfütterung von Glyphosat zurück, sondern darauf, dass diese Art von Tumor bei älteren Ratten häufig sei.

Statistisch signifikante negative Gesundheitseffekte bleiben unberücksichtigt und werden nicht näher interpretiert.

Diese Argumentation der WHO ist nicht ganz schlüssig, denn wäre ein Alterseffekt gegeben, so müsste davon auch die Kontrollgruppe betroffen sein, was aber nicht der Fall war. Im Text wird daraufhin von der WHO bestätigt, dass das statistisch erhöhte Auftreten von testikulären Zelltumoren ein Nachweis für einen kanzerogenen Effekt von Glyphosat ist, jedoch wird das Ergebnis relativiert,

da eine spätere Studie von Monsanto keinen ähnlichen Effekt aufzeigte. Obwohl in dem Bericht der WHO betont wird, dass in der erwähnten späteren Monsanto Studie keine Karzinome im Pankreas gefunden wurden, ist nicht klar, warum dies ausdrücklich erwähnt wird und warum zudem nicht erwähnt wird, ob testikuläre Tumore nachgewiesen wurden oder nicht. Nach Williams *et al.* (2000), der Toxizitätsstudien von Glyphosat zusammenfasst, sind weitere Argumente für ein Fehlen eines Zusammenhanges der beobachteten testikulären Tumore mit Glyphosat das Fehlen eines Anstieges von Leydig'schen Zellhyperplasien und eine Häufigkeit des Auftretens, die innerhalb der historischen Werte lag. Während ersteres Argument im Rahmen dieser Studie nicht überprüfbar ist, ist das Argument der historischen Werte nicht nachvollziehbar, da aus den WHO Studien eine historische Schwankungsbreite von testikulären Tumoren von 3-7% hervorgeht, die höchste Dosis jedoch Effekte bei 12% der Tiere hervorrief, also weit außerhalb der historischen Werte lag.

Der Anstieg an Magenschleimhautentzündungen (Punkt 2 in Tabelle 7) war nur bei mittleren Dosen statistisch signifikant und lag außerhalb der historischen Werte. Da hier keine Dosisabhängigkeit gegeben ist, wird dieser Effekte nicht auf die Verfütterung von Glyphosat zurückgeführt. Der signifikante Anstieg von gutartigen Geschwulsten in der Bauchspeicheldrüse bei männlichen Ratten bei geringen und hohen Dosen (Punkt 3 in Tabelle 7) wird nicht näher interpretiert. Nach Williams *et al.* (2000) bestätigen hier folgende Argumente das Fehlen eines Zusammenhanges des Effektes mit Glyphosat: die Effekte lagen innerhalb von historischen Werten, kein dosisabhängiger Effekt, keine statistische Signifikanz in paarweisen Vergleichen und das Fehlen von präneoplastischen Veränderungen.

Die WHO schließt aufgrund der zu geringen Anzahl untersuchter Jungtiere in der Monsanto-Studie und dem Fehlen eines ähnlichen Effektes in einer neueren Studie von Monsanto, dass die histopathologischen Effekte der Nieren (Punkt 4 in Tabelle 7), die in der Multigenerationsstudie zur Entwicklungstoxizität beobachtet wurden, schwierig zu evaluieren sind und interpretiert die Effekte nicht nähergehend.

Diese kurze Analyse zeigt, dass gefundene Effekte durch eine Vielzahl an Interpretation wieder nivelliert werden. Diese Praxis der Interpretation ist überholungsbedürftig.

Tabelle 7. Statistisch signifikante Effekte von Glyphosat in Toxizitätstests zitiert in WHO/IPCS 1994, WHO/FAO 1996

Effekt	Quelle
Langzeitstudien	
1. erhöhtes Auftreten von testikulären Zelltumoren	Lankas 1981a
2. Anstieg von Magenschleimhautentzündungen	Monsanto 1990a
3. Anstieg der Häufigkeit von Adenomen in der Bauchspeicheldrüse	Monsanto 1990a
Teratogenitätsstudien	Schroeder 1981b
4. nierenpathologische Effekte bei Jungtieren in der 3. Generation	

Anmerkung: in den berichteten Mutagenitätstests wurden keine statistisch signifikanten Effekte nachgewiesen (siehe Tabelle A 9 im Anhang)

3.5 STUDIEN NACH DER ZULASSUNG VON RR-SOJA

3.5.1 TOXIKOLOGISCH RELEVANTE EFFEKTE VON RR-SOJA

Hofer (in Spök *et al.* 2002) schlägt zur Sicherheitsabschätzung von GVO vor, im Rahmen von chronischen Studien auf histopathologische Veränderungen in toxikologischen Tierversuchen zu fokussieren, die unter Umständen verzögert oder nach Langzeitkonsumation auftreten können. Dass histopathologische Studien zur Roundup-Ready-Sojabohne dringend notwendig sind, zeigen die Ergebnisse von Malatesta *et al.* (Malatesta *et al.* 2002a; Malatesta *et al.* 2002b). Sie wiesen ultrastrukturelle Veränderungen in den Zellen der Bauchspeicheldrüse

sowie der Leber von RR-Sojabohnen gefütterten Mäusen nach (Tabelle 8, Tabelle A 1 im Anhang).

Tabelle 8. Histopathologische Effekte von RR-Soja im Tierversuch

Effekt	Quelle
1. quantitative Zellveränderungen im Pankreas (Proenzym-synthese)	Malatesta <i>et al.</i> 2002a
2. kleinere und irregulär geformte Zellkerne u. a. morphometrische und ultrastrukturelle Veränderungen der Leberzellkerne von RR-Soja gefütterten Mäusen	Malatesta <i>et al.</i> 2002b

Die Arbeiten von Malatesta *et al.* zeigen, dass metabolische Funktionen aufgrund von RR-Soja-Konsum verändert sein können. Da bestimmte Effekte (z.B. verringerter Alpha-Amylasegehalt von RR-Soja gefütterten Mäusen) bei allen Altersgruppen (außer bei der jüngsten Gruppe) auftraten, schließen die Autoren einen Alterseffekt aus. Generell finden die Autoren (Malatesta *et al.* 2002a) keine Erklärung für die beobachteten Effekte, da der Gehalt an Trypsin-Inhibitoren - ein Protein, das die pankreatische Alpha-Amylase Sekretion stimuliert und daher die beobachteten Effekte erklären könnte - in beiden Diäten (GV bzw. konventionell) nicht unterschiedlich war. Die Autoren schließen daraus, dass weitere Studien notwendig sind, um festzustellen, wie RR-Soja die Enzymsynthese und -verarbeitung beeinflusst.

Hinweise auf die metabolische und strukturelle Veränderungen in der Bauchspeicheldrüse und Leber von GV-Soja gefütterten Mäusen.

Auch die irreguläre und weniger kompakte Form der Leberzellkerne von 2, 5 und 8 Monate alten mit RR-Soja gefütterten Mäusen weist auf eine erhöhte metabolische Funktion von Leberzellkernen hin, wobei ein höherer Molekülaustausch zwischen zellulären Komponenten vermutet wird. Weitere beobachtete Veränderungen: kleinere Zellkerne, geringeres Kern-Plasma-Verhältnis (nur) in 8 Monate alten Mäusen, größerer Formindex, unterschiedliche Nukleoluskomponenten, höhere Zellkernporendichte, Immunocytochemische Veränderungen (mehr Spleißfaktoren im Zellkern)

Allerdings zeigten die biochemischen Analysen der wichtigsten Leberproteine keine unterschiedliche Aktivität an und auch die zytoplasmatischen Zellorganellen schienen nicht verändert zu sein. Die Autoren vermuten, dass eventuell nur die Zellkernaktivitäten durch RR-Soja beeinträchtigt sein könnten. Auch hier können Malatesta *et al.* 2002b keinen Mechanismus zur Erklärung der beobachteten Phänomene vorschlagen, weisen aber darauf hin, dass nahrungsbedingte Aminosäuren und Nucleotide die RNA- bzw. Proteinsynthese in der Leber modulieren können und Zellkernmodifikationen aufgrund von veränderter Nahrungsaufnahme bekannt sind (siehe Referenzen in Malatesta *et al.* 2002b). Dichtgepackte Zellen und vergrößerte Zellkerne weisen auf Vorstadien von Krebszellen hin (Backman *et al.* 2000). Ob hier ein Zusammenhang besteht bedarf weiterer Analysen. Malatesta *et al.* haben jedoch in 18 Monate dauernden Fütterungsversuchen mit Mäusen bisher keine Anzeichen erhöhter Krebsanfälligkeit bei Mäusen finden können. (email Kommunikation vom 3. April 2004).

3.5.2 INSERTIONEN

Die von Padgett *et al.* durchgeführte molekulare Charakterisierung der RR-Sojabohne Linie 40-3-2 zeigt, dass das CP4 EPSPS Gen und ein Teil des E35S Promotors in der transformierten Sojalinie vorhanden sind (Padgett *et al.* 1995, S 1457). Die Autoren vermuten, dass ursprünglich ein zweites DNA Insert vorhanden war (inklusive dem GUS Marker), das jedoch im Laufe der Segregation verloren ging. Das Segment wurde in Pflanzen von zwei Generationen (R3 und R6) nachgewiesen und entspricht einer Größe von 5,8 kb. Die Autoren schließen daraus, dass dieses Fragment dem Insert (ein Teil des E35S Promotors, Transitpeptid, CP4 EPSPS Gen und ein Teil des NOS Terminators) und den Randbereichen der Pflanze entspricht. In Padgett *et al.* (1994) wird die Nukleotidsequenz des CP4 EPSPS Gens angegeben. Diese Sequenz wurde aus *Agrobacterium* sp. Stamm CP4 ermittelt.

Zusätzlich zu dem primären funktionellen Insert wurden von Monsanto noch zwei zusätzliche Inserts nachgewiesen (Astwood *et al.* 2000): ein 250 bp langes Segment der CP4 EPSPS DNA nahe dem NOS 3' polyA-Signals des primären Segments und ein 72 bp langes Segment der CP4 EPSPS DNA in einem HindIII-Restriktionsfragment. Die Autoren vermuten, dass beide Inserts keine funktionellen Gene sind, da nur die CP4 EPSPS mRNA und das EPSPS Protein detektiert wurden (Astwood *et al.* 2000).

Windels *et al.* 2001 charakterisierten das DNA-Insert der RR-Sojabohne genauer und wiesen – wie Monsanto – ein verkürztes Stück der CP4 EPSPS DNA (254 bp) unmittelbar angrenzend an das NOS 3' Ende des primären Inserts nach. Für die dahinter liegende DNA (534 bp) fanden sie jedoch keine Sequenzhomologie zu der DNA einer konventionellen Sojabohne. Die Autoren vermuteten daher, dass bei der Integration der Fremd-DNA entweder eine Rearrangierung oder eine Deletion von mindestens 12kb im Genom stattgefunden haben könnte.

In der Stellungnahme zu der Publikation von Windels *et al.* wird von Monsanto behauptet, dass keine neue mRNA Transkripte oder Proteine von der neu beschriebenen DNA produziert werden und dass das neue Insert wahrscheinlich rearrangierte DNA der Sojabohne ist (Monsanto comments on Windels *et al.* 2001 publication regarding Roundup Ready Soybeans, August 16, 2001, www.monsantoinfo.dk/aktuell/MonsantoScienceBkgWindels081601.pdf).

Monsanto untersuchte diese DNA Sequenz, verglich sie mit der Firmen-internen DNA Datenbank und gab an, dass diese DNA einer genomischen DNA der Sojabohne entspricht (Monsanto 2002a; Monsanto 2002b). In einem weiteren Report von Monsanto (Monsanto 2002) wurde gezeigt, dass sekundäre RNA-Transkripte (inklusive ein ca. 7,4 kb langes Transkript) in geringen Mengen in der RR-Sojabohne nachweisbar sind, die die CP4 EPSPS Sequenz enthalten. Monsanto (2002a, 2002b) vermutet, dass diese sekundären Transkripte wahrscheinlich Produkte einer unvollständigen Termination der Transkription am NOS 3' Ende des primären Inserts sind. Da die Transkripte die CP4 EPSPS Region codieren, wird als einziges zusätzlich exprimiertes Protein das EPSPS Protein von den Autoren vermutet, aber nicht bestätigt. Diese Aussage steht jedoch im Gegensatz zum früheren Bericht von Monsanto (Astwood *et al.* 2000), in dem zwar zwei zusätzliche Segmente bestätigt wurden, es wird jedoch als "unwahrscheinlich" angeführt, dass die zusätzlichen Fragmente mRNA transkribieren.

"...several lines of evidence establish that neither of the two CP4 EPSPS derived segments produce mRNA transcripts or proteins" (Monsanto 2000).

Die Charakterisierung eines Inserts einer GV Pflanze ist ein wesentlicher Bestandteil der Zulassung von GVO nach der EU-Richtlinie 90/220 (bzw. 2001/18) und das Insert der RR-Sojabohne ist in der Entscheidung der Europäischen Kommission vom 3. April 1996 explizit angeführt. Die molekulare Charakterisierung, auf deren Basis die Zulassung der RR-Sojabohne genehmigt wurde, stimmt nicht mit dem tatsächlichen Insert der Sojabohne überein.

Da mittlerweile auch kleine RNA Produkte (RNAi, RNA interference) hochspezifische Funktionen ausführen können, sind unerwartete Nebenprodukte der Gen-Insertion auch toxikologisch von Bedeutung. Die unbekannt Sequenzen, die RNA produzieren (transkribieren), zeigen deutlich die Notwendigkeit von chronisch toxikologischen Versuchen mit der ganzen Roundup-Ready-Sojabohne auf.

Unzureichende molekulare Charakterisierung der RR-Sojabohne: entgegen ursprünglichen Annahmen wurden zwei zusätzliche Inserts sowie weitere RNA-Transkripte nachgewiesen.

3.5.3 NEUE VERGLEICHVERSUCHE INHALTSSTOFFZUSAMMENSETZUNG

Isoflavone, vor allem Genistein und Daidzein gelten als östrogenwirksame Pflanzeninhaltsstoffe, die unter anderem antikanzerogene Effekte aufweisen (Giri and Lu 1995). Zur Wirksamkeit von Sojaisoiflavonen siehe Munro *et al.* (2003). Su *et al.* (2000) wiesen nach, dass eine Kombination von Isoflavonen als Tumorsuppressor wirksamer sein kann als einzelne Isoflavone. Die Diskussion um

diese Pflanzeninhaltsstoffe ist auch dahingehend zu führen, als immer mehr phytochemische Substanzen in der Sojabohne als bioaktive Stoffe, die Auswirkungen auf die Gesundheit haben, identifiziert werden, wie z.B. die von Gonzales de Mejia *et al.* (2003) beschriebenen Effekte von Lectin und Lunasin. Mehrere Studien zeigen, dass Isoflavonlevels in Soja in Antwort auf unterschiedlichste Faktoren wie Varietät, geographische Lage, Bodentyp, Anbaujahr und Umweltbedingungen im Anbaujahr und auch Verarbeitung, stark variieren können (siehe Zusammenfassung in Munro *et al.* 2003). Der Einfluss von Umweltparametern auf die Genexpression von unterschiedlichen Inhaltsstoffen wurde von Novak and Haslberger (2000) dokumentiert.

Einer der wesentlichsten Kritikpunkte in der Diskussion um die RR-Sojabohne ist, dass in den Untersuchungen zur substanziellen Äquivalenz die untersuchten Sojabohnen während des Anbaus nicht mit Glyphosat behandelt wurden (siehe Padgett *et al.* 1996) in der Annahme, dass die Applikation von Glyphosat die Synthese von Inhaltsstoffen wesentlich verändern könnte. Dies wurde im Zusammenhang mit den Ergebnissen von Sandermann and Wellmann (1998) erwähnt, die erhöhte Mengen an Phytoöstrogenen in nicht-transgenen Bohnen (*Vicia faba*) nachwiesen, die mit Glyphosat besprüht wurden.

Padgett *et al.* (1996) rechtfertigen ihre Vorgangsweise, Sojabohnen auf substanzielle Äquivalenz zu testen, die nicht mit dem Totalherbizid behandelt wurden, damit, dass sie eventuelle Effekte des neu eingebrachten Gens bzw. Proteins evaluieren wollten. Erst Taylor *et al.* (1999) untersuchten Aminosäuren und Isoflavone in Glyphosat behandelten RR-Sojabohnen und der Kontrolle, die nicht mit Glyphosat behandelt wurde. Sie argumentieren, dass sie den Effekt von Glyphosat auf die Zusammensetzung der Sojabohnen untersuchen wollten. Allerdings verglichen sie die GV Linie mit der Elternlinie. Wenn man von einem genetischen Effekt in Zusammenhang mit der Glyphosat-Applikation ausgeht, dann wäre ein Vergleich der herbizidbehandelten GV Linie mit der nicht-behandelten GV Linie sinnvoller, da anzunehmen ist, dass nicht GV Pflanzen bei Totalherbizidbehandlung eine andere physiologische Reaktivität zeigen als herbizidresistente GV Pflanzen. Zudem wurden die RR-Sojabohnen mit Herbizidmengen behandelt, die unterhalb kommerzieller Anwendungen liegen und auch die Anwendungszeitpunkte lagen nicht so spät wie üblich (siehe Kritik dazu in Duke *et al.* 2003). Dass die Stoffsynthese von GV Pflanzen prinzipiell durch die Applikation von Glyphosat verändert werden kann, wurde von Nandula *et al.* (2001) gezeigt. Sie fanden erhöhte Aminosäurekonzentrationen in den Blättern und Wurzeln von Sommerwurz-parasitiertem herbizidresistentem GV Raps, der mit Roundup behandelt wurde. Dieser Anstieg scheint auf die Anwendung des Herbizides zurückzuführen zu sein, da er erst ab einer Glyphosat-Konzentration auftrat, bei der das Wachstum des Parasiten schon aufgrund der Herbizidapplikation unterdrückt wurde.

Tabelle 9 zeigt neuere Studien, die die substanzielle Äquivalenz der RR-Sojabohne in Frage stellen. Duke *et al.* (2003) (siehe Tabelle 9, Punkt 1) fanden erhöhte Daidzeinlevels in den Sojabohnen einer Varietät, die ausschließlich mit Glyphosat behandelt wurde. Da sie keine signifikanten Unterschiede in den Mengen an Shikimat, einem Zwischenprodukt im aromatischen Stoffwechselweg, in den Glyphosat oder mit anderen Herbiziden behandelten Sojabohnen fanden, argumentieren sie, dass Glyphosat keinen Effekt auf CP4 EPSPS Aktivität hat, da die Blockierung dieses Enzyms durch Glyphosat erhöhte Shikimatlevels nach sich ziehen sollte. Daher erwarten sie auch keine Effekte von Glyphosat auf Stoffwechselprodukte, wie z.B. Isoflavone, die über den Shikimatweg synthetisiert werden. Sie schlagen jedoch keine andere Erklärung für die erhöhten Daidzeinmengen vor. Auffällig ist auch, dass für die gleiche Varietät gleicher Herbizidbehandlung (2x Glyphosat) auch die Werte an Genistein, obwohl nicht signifikant unterschiedlich, rund doppelt so hoch waren wie für die anderen Behandlungen. Der Effekt der erhöhten Isoflavonlevels trat allerdings nur bei einem Kultivar (DP5806 in Mississippi) auf. Auf diesem Standort war ein außergewöhnlich heisser Sommer zu verzeichnen (siehe Material & Methoden in Duke *et al.* 2003), sodass

Die Inhaltsstoffsynthese von Pflanzen kann aufgrund von Herbizidapplikationen verändert sein.

Starke Variabilität von Inhaltsstoffen in RR-Soja aufgrund von Hitze- oder Trockenstress?

die Sojabohnen künstlich bewässert werden mussten. Die beobachteten erhöhten Isoflavonmengen könnten also eine Stressreaktion auf die klimatischen Verhältnisse auf diesem Standort sein.

Lappe *et al.* (1999) (Tabelle 9, Punkt 2) zeigten nicht nur verringerte Konzentrationen an Isoflavonen in Glyphosat-toleranten Sojabohnen, sondern auch beträchtliche Variationen an Isoflavonwerten (v.a. Daidzin und Genistin) zwischen den Einzelproben. Im Gegensatz dazu zeigten konventionelle Sojabohnen relativ konstante Werte (gemessen als Varianz des Mittelwertes). Die Tendenz der reduzierten Isoflavonlevels in RR-Soja war konsistent in den beiden untersuchten Varietäten, obwohl beide prinzipiell sehr unterschiedliche Isoflavonlevels aufwiesen. Lappe *et al.* (1999) vermuten eine genetische Variabilität eventuell aufgrund von erhöhter Umweltreaktivität als Ursache für die beobachteten Variabilitäten in den GV Isoflavonwerten. Unerwartete Effekte aufgrund von Gen-Insertionen unter besonderen Umweltbedingungen wurden auch von Gertz *et al.* (1999) gezeigt, die nachwies, dass RR-Sojabohnen nicht nur schlechter in Böden wuchsen, die auf 45°C erwärmt wurden, sondern auch aufgebrochene Stängel aufwiesen (Tabelle 9, Punkt 3).

Tabelle 9. Inhaltsstoffanalysen von RR-Soja nach der Zulassung

Effekt	Quelle
1. erhöhte Daidzeinlevels, wenn Glyphosat als alleiniges Herbizid appliziert wurde	Duke <i>et al.</i> 2003
2. signifikant geringere Phytoöstrogenlevels (12-14%) v.a. Genistin	Lappe <i>et al.</i> 1999
3. 20% mehr Lignin (geringere Hitzetoleranz, aufgebrochene Stängel, geringere Wuchshöhe)	Gertz <i>et al.</i> 1999

3.5.4 EXPRESSIONSMUSTER VON RR-SOJA

Die Expressionswerte des EPSPS Proteins sind auch von Padgett *et al.* (1994) angeführt, um damit die Sicherheit der Konsumation des CP4 EPSPS Proteins zu belegen. Sie argumentieren damit, dass das Protein kein Makro-Nährstoff ist, weil es mehr als 100fach geringer in der Sojabohne als andere Speicherproteine vorkommt und der Proteingehalt in der GV-Sojabohne insgesamt nicht erhöht ist (Padgett *et al.* 1994).

Die Analyse von Expressionsmustern ist insofern aus toxikologischer Sicht relevant, da für toxikologische Studien relevant ist, wie hoch die zu erwartenden täglichen Aufnahmemengen des neuen Proteins sind.

Padgett *et al.* (1995) gibt mittlere Expressionsniveaus des EPSPS Proteins von ca. 0,04% in den Blättern und ca. 0,02% in den Sojabohnen an (siehe Tabelle 10). Diese Werte sind für die 1992 Experimente (8 bzw. 9 Standorte) tendenziell höher als die 1993 Werte (wo nur 3 bzw. 4 Standorte untersucht wurden). Abbildung 2 auf S 1455 in Padgett *et al.* (1995) gibt zwar die Anbauversuche für 1992 und 1993 an, deren Pflanzen in die Untersuchung gingen (Hinweis auf die Tabelle, die die Expressionsniveaus zeigt), jedoch geht weder aus Material und Methoden in Padgett *et al.* (1995) noch aus der Tabelle mit den Expressionsniveaus (Tabelle 4 in Padgett *et al.* 1995) hervor, ob die für den Nachweis des EPSPS Proteins verwendeten Pflanzen mit Glyphosat besprüht wurden oder nicht. Für den Fall, der Besprühung mit Glyphosat fehlen Angaben, wann und wieviel Totalherbizid bei diesen Tests angewendet wurde und wann die Blattproben für die Analyse der Expressionsniveaus entnommen wurden. Die Mittelwerte wurden offensichtlich aus den Einzelwerten der Expressionsniveaus von den unterschiedlichen Standorten errechnet (Standortmittelwerte, siehe Tabelle 4 in Padgett *et al.* 1995), was zu einer großen Variationsbreite an Expressionsmustern führt.

Methodische Mängel bei der Ermittlung der Toxin-Expressionswerte und das Poolen von Werten unterschiedlicher Standorte lassen keine Beurteilung von Effekten aufgrund der gentechnischen Veränderung zu.

Dass die Expressionswerte in Padgett *et al.* (1995) aus Pflanzen stammen, die **nicht** mit Totalherbizid behandelt wurden, geht erst aus Taylor *et al.* (1999) (Tabelle 1 und Diskussion S 4471 und 4472) hervor. Auch die Angabe der Expressionshöhe in der Linie 61-67-1 (ohne Herbizid) ist nur aus Taylor *et al.* (1999) zu entnehmen, die entweder erst

nachträglich ausgewertet wurden oder in Padgette *et al.* (1995) nicht angeführt wurden. Sie argumentieren die substantielle Äquivalenz damit, dass die EPSPS Expressionslevels in Glyphosat behandelten und nicht-behandelten RR-Sojabohnen gleich sind. Allerdings fehlen auch hier die Angaben, wann die Blattproben für die Analysen entnommen wurden (vor oder nach einer Herbizidapplikation). Die Werte für beide herbizidbehandelten Linien sind tendenziell höher als die der nicht-behandelten Linien (jeweils innerhalb eines Jahres, siehe Tabelle 10). Darüberhinaus lassen sich kaum toxikologisch relevante Ergebnisse ableiten, außer dass die Beschreibung des Methodendesigns bei Padgette *et al.* (1995) (siehe oben) große Lücken aufweist.

Tabelle 10. Nachweis der Expression des EPSPS-Proteins in RR-Soja

Anmerkung: Menge des Proteins sind Mittelwerte. Schwankungsbreite und Standardabweichung sind in Klammer angeführt (alle Werte sind µg/mg Frischgewicht). n. d. = nicht detektiert, n. t. = nicht getestet)

	Linie 40-3-2 mit Herbizid**	Linie 40-3-2 ohne Herbizid(?)*	Linie 61-67-1 mit Herbizid**	Linie 61-67-1 ohne Herbizid**	Kontrolle (Elternlinie A5403) ohne Herbizid**
Blätter					
1992	n.t.	0.443 (0.251-0.789)	n.t.	n.t.	n.d.
1993	0.489 (0.308-0.856, 0.239)	0.415 (0.299-0.601)	n.t.	n.t.	n.d.
Bohnen					
1992	0,301 (0.258-0.378, 0.03)	0.288 (0.186-0.395)	0.346 (0.274-0.454, 0.07)	0.335 (0.259-0.467, 0.061)	n.d.
1993	0.218 (0.166-0.278, 0.042)	0.201 (0.127-0.277)	n.t.	n.t.	n.d.

*Daten aus Padgette *et al.* 1995. Das Pflanzenmaterial für 1992 stammte von 8-9 Standorten, jenes für 1993 von 3-4 Standorten (siehe S 1456 in Padgette *et al.* 1995).

**Daten aus Taylor *et al.* 1999. Pflanzenmaterial 1992 von 6, 1993 von 4 Anbaustandorten; Herbizidapplikation 1992: Vorauflauf 17.8 l/ha, 1,75 l/ha im frühen Nachauflauf und nach 40 Tagen nach dem Anbau, Herbizidapplikation 1993: Vorauflauf 17.8 l/ha, 2.34 l/ha im frühen und späten (Blütenknospenstadium) Nachauflauf. Keine Herbizidapplikation in der Kontrolle (A5403).

3.5.5 EFFEKTE VON GLYPHOSAT ODER GLYPHOSAT-HÄLTIGEN HERBIZIDEN

Obwohl Glyphosat als unbedenklich für die menschliche Gesundheit gilt (siehe Kapitel 3.3), weisen eine Reihe von Publikationen auf negative gesundheitliche Effekte von Glyphosat bzw. dem kommerziellen Herbizid Roundup hin (Tabelle 11). Schon die WHO weist als Empfehlung für notwendige Forschung auf die möglichen adrenergen Effekte von Glyphosat hin, die bei Nagern beobachtet wurden. Zudem werden Untersuchungen zur Rolle der Hilfsmittel bei der Toxizität von Glyphosat in Formulierungen gefordert (WHO/IPCS 1994).

Einige der in Tabelle 11 angeführten Effekte wurden mit Glyphosat-hältigen kommerziellen Formulierungen des Herbizids (Roundup) nachgewiesen. Aufgrund dieser Diskrepanz zu der relativen toxikologischen „Harmlosigkeit“ von Glyphosat aus den Toxizitätstests der WHO, die mit reinem technischem Glyphosat durchgeführt wurden, wurde schon früher vermutet, dass die Toxizität von Glyphosat-hältigen Produkten eher auf die Netzmittel in den Herbizidformulierungen zurückzuführen ist (siehe z.B. Mitchell *et al.* 1987). Diese Vermutung wird auch in WHO/FAO (1996) angestellt

Die toxische Wirkung von Glyphosat-hältigen Mitteln wird teilweise auf die Netzmittel und andere Hilfsstoffe in den Herbizidformulierungen zurückgeführt.

„...it has been suggested that the toxic effect is due to the surfactant rather than to glyphosate in the commercial formulation...however, the evidence is as yet inconclusive...“. Eine Reihe von aktuellen Studien scheint zudem den Hilfsstoffen in kommerziellen Herbizid-Formulierungen mit Glyphosat eine nicht unwesentliche Rolle hinsichtlich der Toxizität dieser Mittel zuzuordnen. So wies die Studie von (Marc *et al.* 2002) eine hemmende Wirkung von Roundup auf die Aktivierung eines Zellzyklusregulators der ersten mitotischen Zellteilung von Seeigelembryos nach. Diese Effekte traten jedoch nicht mit reinem Glyphosat auf. Die Autoren vermuten synergistische Effekte von Glyphosat und anderen chemischen Formulierungen in Roundup. Da diese Zellzyklusregulatoren universell sind und die beobachteten Effekte mit genomischer Instabilität in Verbindung stehen, stellen die Autoren die Unbedenklichkeit von Roundup-Formulierungen in Frage. Auch Rank *et al.* (1993) zeigten in *in vitro* Tests, dass genotoxische Effekte bei Roundup auftraten, jedoch nicht bei Glyphosat. Der Anteil chromosomaler Abweichungen bei Roundup lag ähnlich hoch wie bei der Positivkontrolle. Sie vermuten, dass Roundup ca. 5x so toxisch ist wie Glyphosat allein. Williams *et al.* (2000) relativieren die Studie jedoch aufgrund des Fehlens eines dosisabhängigen Effektes und mit Hinblick auf weitere Studien von Monsanto (Kier *et al.* 1997, zitiert in Williams *et al.* 2000), die keine negativen Effekte in ähnlichen Tests zeigten. Die DNA-schädigenden Effekte von Roundup, die Peluso *et al.* (1998) zeigten, werden von Williams *et al.* (2000) kritisiert und führen die beobachteten Effekte nicht auf die Herbizidformulierung zurück, da „...es keinen Beweis gibt, dass direkte DNA-reaktive Zwischenprodukte von den Benetzungsmitteln, die allgemein in Roundup-Formulierungen verwendet werden, produziert werden“ (Williams *et al.* 2000, S 138). Genotoxizität wurde hingegen auch von Clements *et al.* (1997) *in vitro* gezeigt. Ihr Test weist auf DNA Strangbrüche in Erythrozyten von Glyphosat-exponierten Kaulquappen hin. Obwohl Williams *et al.* (2000) prinzipiell die Resultate anerkennen, führen sie diese auf „toxische Sekundäreffekte“ zurück, wobei diese nicht genauer definiert werden. Walsh *et al.* (2000) zeigten, dass Roundup in Abhängigkeit von der Dosis die Progesteronproduktion senkt, dieser Effekt jedoch nicht bei Glyphosat alleine auftrat. Sie zeigten weiters, dass Roundup aufgrund der Unterbrechung der Proteinexpression eines regulatorischen Faktors die Steroidgenese in den Gonaden, aber auch in den Nebennierendrüsen beeinträchtigen kann.

Genotoxische Effekte von reinem Glyphosat wurden von verschiedenen Autoren nachgewiesen, sind jedoch bis dato umstritten.

Effekte, die auch auf reines Glyphosat und nicht auf Herbizidformulierungen zurückzuführen sind, werden von Lin and Garry (2000) bestätigt. Sie vermuten eine Induktion des Zellwachstums sowohl von Glyphosat als auch von Roundup aufgrund von nicht-östrogenen Wachstumsfaktoren bzw. hormonell wirksamen Substanzen. Auch Yousef *et al.* (1995) weisen eindeutig negative Auswirkungen von Glyphosat auf die Spermaqualität von Kaninchen nach. Sie vermuten, dass Glyphosat einen Langzeiteffekt auf die Spermabildung haben könnte, da die beobachteten Effekte in der follow-up Periode (6 Wochen nach Beendigung der Verabreichung des Herbizids) anhielten. Eine Abnahme der Spermienzahl wurde auch in Kurzzeit-Toxizitätstests der WHO (WHO/FAO 1986b, siehe Tabelle A 6 im Anhang) bei Ratten beobachtet, allerdings erst bei sehr hohen Dosen. Williams *et al.* (2000) kritisieren die Methodik der Studie von Yousef *et al.* (1995) und relativieren die Effekte, da sie nicht dosisabhängig waren und innerhalb der „normalen“ Schwankungsbreite lagen.

Lioi *et al.* 1998a wiesen genotoxische Effekte von reinem Glyphosat auf bovine und menschliche Lymphozyten nach. Die Ergebnisse von Lioi *et al.* 1998a; Lioi *et al.* 1998b sind auch in Zusammenhang mit der Studie von Hardell and Eriksson (1999) (Tabelle 11) zu sehen. Sie verlangen aufgrund des dramatischen Anstiegs dieses Herbizids weitere Studien zur möglichen Kanzerogenität von Glyphosat sowie epidemiologische Studien zur Abklärung des Risikos. Hinzuweisen ist in diesem Zusammenhang auf eine Angabe in WHO/FAO 1996, die die mögliche Mutagenität von Glyphosat zwar nicht bestätigt, jedoch in einem Test mit menschlichen Lymphozyten bei sehr hohen Konzentrationen genotoxische

Aufgrund der äußerst heterogenen Datenlage zur Toxizität von Glyphosat und Glyphosat-haltigen Herbiziden sind dringend unabhängige und standardisierte Studien zur Abklärung des Risikos notwendig.

Effekte nachwies (keine Angabe der Quelle). Die Genotoxizitätsstudien von Lioi *et al.* 1998b, die chromosomale Abweichungen bei Verwendung von reinem Glyphosat zeigten, werden von Williams *et al.* (2000) in Frage gestellt. Sie kritisieren die lange Versuchsdauer (72 Stunden anstatt 4 bzw. 20 Stunden) und die dreifach geringere Dosis in Lioi *et al.* im Vergleich zu einer zitierten Studie, die keine chromosomalen Effekte von Glyphosat auf menschliche Lymphozyten zeigte (van de Waart 1995 zitiert in Williams *et al.* 2000). Die Effekte auf bovine Lymphozyten werden von ihnen aufgrund der fehlenden Dosisabhängigkeit kritisiert. Auch die Ergebnisse zur Genotoxizität von Glyphosat und Roundup von Bolognesi *et al.* (1997, in Williams *et al.* 2000) stellen Williams *et al.* (2000) aufgrund von Abweichungen von standardisierten Testprotokollen in Frage, obwohl die von ihnen zitierte Studie von Kier *et al.* (1997) einen ähnlichen Effekt bei wesentlich höheren Dosen nachwies.

Williams *et al.* (2000) fordern, dass genotoxische Effekte statistisch signifikant und reproduzierbar sein sollen, zudem sollte Dosisabhängigkeit gegeben sein und die beobachteten Effekte sollen biologisch signifikant bzw. relevant für den menschlichen Organismus sein.

Der Schluss, dass für Glyphosat keine Endpunkte hinsichtlich Mutagenität gegeben sind und dass kein Risiko der Kanzerogenität aufgrund der genotoxischen Effekte gegeben ist (siehe Williams *et al.* 2000), scheint nicht zulässig, solange die Datenlage der Effekte so heterogen ist. Obwohl fehlende Konsistenz für den Nachweis genotoxischer Effekte kritisiert wird, trifft das gleiche Argument für den Nachweis fehlender Effekte zu.

Tabelle 11. Negative Effekte von Glyphosat bzw. Glyphosat-hältigen Formulierungen (Roundup)

Effekt	Quelle
1. Geringer Gewichtszunahme, verringerte Libido, geringeres Ejakulatvolumen bei Kaninchen	Yousef et al. 1995
2. erhöhtes Risiko für non-Hodgkin Lymphoma	Hardell and Eriksson 1999
3. hemmende Effekte auf die Zellzyklusregulation	Marc et al. 2002
4. genotoxische Effekte (Schwesterchromatidaustausch, Chromatidbrüche) auf bovine Lymphozyten und auf menschliche Lymphozyten	Lioi et al. 1998a; Lioi et al. 1998b
5. Punktmutationen und chromosomale Abweichungen (Roundup)	Rank <i>et al.</i> 1993
6. Glyphosat und Roundup induzieren Zellwachstum	Lin and Garry 2000
7. Roundup unterbindet Steroidgenese	Walsh et al. 2000
8. erhöhtes Risiko spontaner Aborte (Glyphosat-hältige Herbizide)	Arbuckle et al. 2001
9. signifikante Korrelation neurologischer Entwicklungsstörungen bei Kindern und der Exposition mit Glyphosat-hältigen Herbiziden	Garry et al. 2002
10. morphologische Veränderungen der Mitochondrien in Leberzellen von Karpfen (Roundup)	Szarek et al. 2000
Abstracts oder zitiert:	
11. Genmutationen und chromosomale Fehlbildungen in Lymphzellen von Mäusen	Majeska and Matheson 1982
12. Leberzellenkarzinom, Leukämie und Lymphknotengeschwülste bei Mäusen	Pavkov and Turnier 1986
13. Erhöhter Schwesterchromatidaustausch in menschlichen Lymphzellen	Vigfusson and Vyse 1980
14. Erhöhtes Risiko für Haarzellenleukämie (Form des non-hodgkin-Lymphomas)	Nordström et al. 1998 alle zitiert in Hardell and Eriksson (1999)
15. <i>in vitro</i> Toxizität von Glyphosat auf die Aktivität von Serumenzymen	El-Demerdash et al. 2001
16. Glyphosate inhibiert Monoxygenasen in Darm und Leber	Hietanen et al. 1983
17. Roundup schädigt DNA	Clements et al. 1997
18. Funktionelle Abnormalitäten in Enzymaktivitäten in versch. Organen von trächtigen Ratten	Daruich et al. 2001
19. dosisabhängige DNA Schädigung von Roundup in Nieren und Leber von Mäusen	Peluso et al. 1998

20. reduzierte Frequenz von polychromatischen Erythrozyten (PCEs) im Micronucleus Test (Roundup)	Bolognesi et al. 1997 zitiert in Williams et al. 2000
21. teratogene Effekte von Roundup (skeletale Entwicklungshemmung)	Dallegrave et al. 2003
22. erhöhtes Risiko für Non-Hodgkin-Lymphoma bei multipler Exposition von Pestiziden (u. a. Glyphosat)	De Roos et al. 2003

3.5.6 RÜCKSTÄNDE VON GLYPHOSAT AUF PFLANZEN

Aufgrund von Rückstandstests wurden von der WHO/FAO (1986a) maximal erlaubte Rückstandswerte (maximum residue limits MRL) von 0,2 ppm für Sojabohnen empfohlen. Die Rückstandstests wurden jedoch aufgrund einer Voraufaufapplikation von Glyphosat durchgeführt und nicht – wie bei der RR-Sojabohne üblich – auch im Nachaufauf. Für AMPA, das Hauptabbauprodukt von Glyphosat, wurden keine MRLs empfohlen, da AMPA weniger als 2,5% der Rückstände ausmachte (WHO/FAO, 1986b). Die US-Umweltbehörde (US EPA) genehmigte im Mai 1995 den Einsatz des Herbizids Roundup auf Roundup-Ready-Sojabohnen mit der Begründung, dass die RR-Sojabohnen Glyphosat ebenso wie nicht tolerante Pflanzen abbauen, dass keine neuen Grenzwerte in Bezug auf Herbizidrückstände an Körnern, Heu oder Hülsen der Sojabohnen erforderlich sind und dass Herbizidrückstände in Sojabohnenöl oder –mehl nicht angereichert sind. Im April 1996 setzte die US EPA allerdings neue Toleranzwerte für Glyphosatrückstände aufgrund mehrerer Anfragen von Monsanto fest (Carpenter 2001). Derzeit gültige MRL in den USA liegen bei 20 ppm für Sojabohnen, 100 ppm für Hülsen und Futtergras und 200 ppm für Heu (EPA 1996; EPA 2003). Die maximal erlaubten Werte in der Sojabohne entsprechen also dem 100fachen der Werte, die 1986 empfohlen wurden (20 ppm im Vergleich zu 0,2 ppm). Der Toleranzwert der kombinierten Glyphosat und AMPA Rückstände wurde somit wesentlich erhöht, nachdem die RR-Sojabohne zugelassen wurde (siehe dazu Prof. Kawata, genetnews, 7 Mai 2001).

Der maximal erlaubte Rückstandswert von Glyphosat auf Sojabohnen wurde nach der Zulassung der RR-Sojabohne in den USA um das 100fache erhöht.

Glyphosat kann während der gesamten Wachstumsphase der Sojabohne bis zur vollen Blüte angewendet werden (US EPA Reg. No. 524-445 für Roundup). Duke *et al.* (2003) zeigten, dass Glyphosatrückstände in Sojabohnen am höchsten waren, wenn Glyphosat zum Zeitpunkt der Blüte (8 Wochen nach der Aussaat) appliziert wurde. Zudem fanden sie erhebliche Rückstände an AMPA, dem Hauptabbauprodukt von Glyphosat, und wiesen darauf hin, dass der Abbau von Glyphosat zu AMPA über eine pflanzlichen Stoffwechselweg noch ungenügend erforscht ist. Auch Granby and Vahl (2001) fand in mehr als der Hälfte von Getreideproben von Ernten 1998 und (1999) in Dänemark Rückstände von Glyphosat oder dem Abbauprodukt AMPA. Die durchschnittliche Konzentration lag bei 0,11 mg/kg (1999) bzw. 0,08 mg/kg (1998), die jedoch unterhalb des maximalen Rückstandslimits lagen. So wurde angeblich schon im Juni 2000 in einem BBC Interview mit der britischen Supermarktkette Sainsbury bestätigt, dass ihre Tests Rückstände in importiertem US Soya finden würde (pesticide news, no 45, September 2000, S 5; www.pan-uk.org/pestnews/contents/Pn45.htm). In Anbetracht der Nachweise von Glyphosat im Grundwasser hat der dänische Umweltminister erst kürzlich eine Beschränkung der Anwendung von Glyphosat angekündigt (siehe Environment Daily, 1457, 5 Juni 2003, www.mim.dk/nyheder/presse/Dep/040503_glyphosat.htm).

In Europa wurden bereits Rückstände in Getreideproben und im Grundwasser nachgewiesen.

3.5.7 INDIREKTE EFFEKTE VON GLYPHOSAT

Bereits in den späten 80ern erwähnen Carlisle and Trevors (1988) eine erhöhte Empfindlichkeit von Pflanzen gegenüber Pathogenen aufgrund von Glyphosat-Applikationen. Sie zitieren Keen *et al.* (1982), die zeigten, dass Sojapflanzen, die mit Glyphosat behandelt wurden, empfindlich gegenüber normalerweise inkompatiblen Stämmen von *Phytophthora* wurden. Als Mechanismus dazu vermuteten sie eine Blockierung eines Phytoalexins, das

Verstärkte Schädlingsanfälligkeit aufgrund von Herbizidbehandlungen?

normalerweise Infektionen blockiert. Auch Joal & Rabe (1984, zitiert in Carlisle and Trevors 1988) fanden eine erhöhte Empfindlichkeit von Glyphosat-behandelten Bohnen gegenüber Wurzelpathogenen. King *et al.* (2001) zeigten verminderte Wurzelknöllchenbildung, Stickstofffixierung sowie geringeres Wurzelwachstum und erhöhte Sensitivität der Stickstofffixierung bei Trockenstreß von Glyphosat-behandelten Sojabohnen. Bei guter Wasserversorgung schien die verzögerte Stickstoffbindung keinen langfristigen Einfluss auf die Biomasse zu haben, da die Erträge von Glyphosat-behandelten Sojabohnen und der Kontrolle bei der Ernte vergleichbar waren. Bei Trockenstress wurden jedoch verminderte Biomasse und Samenertrag beobachtet, die sich, je nach Kultivar, in Ertragseinbußen von bis zu 25% äußerten (King *et al.* 2001). Wissenschaftler der Universität von Missouri zeigten, dass aufgrund einer Behandlung mit Roundup oder Roundup und einem konventionellen Herbizid die Häufigkeit von Fusariumbefall auf den Wurzeln von RR-Sojabohnen 2-4 Wochen nach der Herbizidapplikation um das Doppelte bis Fünffache anstieg (zitiert in Benbrook 2001). Hinweise mehrten sich, dass der Shikimatstoffwechselweg wesentliche Vorläufersubstanzen produziert, die die sogenannte „systemisch erworbene Resistenz“ (systemic acquired resistance SAR) auslösen, eine Immunantwort der Pflanze auf Herbivor- oder Pathogenangriffe. Deshalb wurde die Vermutung geäußert, dass unter Streßbedingungen Teile des EPSPS Transgens stillgelegt werden, was eine Reihe von physiologischen Beeinträchtigungen nach sich ziehen könnte (Benbrook 2001).

Weitere indirekte Effekte wie z.B. Auswirkungen aufgrund einer großflächigen Anwendung des Totalherbizides werden im Rahmen dieser Studie nicht behandelt. Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass sich Berichte in letzter Zeit häufen, die auf die massive Ausbreitung Glyphosat-resistenter Wildkräuter wie z.B. Tannenwedel *Hippuris vulgaris* und Wasserdost *Eupatorium cannabinum* in den USA hinweisen (siehe Bericht von Syngenta unter www.ecast.protusfax.com/redirector.asp? sowie www.syngentacropprotection-us.com/Resources/Prod/Touchdown/Land_Values.pdf&BID=45925538&EID=4491.pdf und www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/news/waterhemp/)

3.6 INSEKTENRESISTENTER MAIS (BT-MAIS)

3.6.1 DURCHGEFÜHRTE STUDIEN MIT DEN PROTEINEN CRY1A(B) ODER CRY1A(C)

Wie bereits im Kapitel 2 (Methodik) beschrieben wurde, wurde für Mais nicht die gleiche Ausführlichkeit der Darstellung gewählt wie für die Roundup-Ready-Sojabohne. Dies hat den Grund, dass von herbizidtoleranten Sojabohnen lediglich ein Produkt in Europa zugelassen ist, nämlich die Roundup-Ready-Sojabohne, wogegen jedoch für Bt-Mais mehrere Sorten, Bt176, Mon810, T25, Bt11 nach EU-Richtlinie 2001/18/EG zugelassen sind. Nach der EU-Verordnung 258/97 (Novel Food) sind Bt11, Mon809, Mon810 und T25 zugelassen. Eine Analyse aller Zulassungsdaten hätte den Projektrahmen gesprengt. Spök *et al.* (2002) evaluierten im Detail den Zulassungsantrag des gentechnisch veränderten Mais Bt11, Gaugitsch *et al.* (2003) untersuchten im Detail die Zulassungsanträge der gentechnisch veränderten Maissorten Mon810, Mon809, Bt11, T25, 1507, Nk603, Zuckermais Bt11 und GA21. Allen diesen Antragsunterlagen war gemeinam, dass keine chronischen Toxizitätsstudien mit den ganzen gentechnisch veränderten Maispflanzen (bzw. –produkten, z.B. Körner) durchgeführt wurden. In den meisten Zulassungsunterlagen wurden akute Toxizitätsstudien, die mit dem isolierten Protein durchgeführt wurden, vorgelegt. Darüberhinausgehende toxikologische Studien bilden die Ausnahme. Generell stammte das Protein aus Mikroorganismen und nicht aus der gentechnisch veränderten Maispflanze. Weiters wurden Futtermittelverwertungsstudien und Homologievergleiche mit bekannten Toxinen vorgelegt. Die Sicherheitsbewertung stützt sich im wesentlichen auf das Prinzip der substanzialen Äquivalenz.

Im wesentlichen gleichen die von Gaugitsch *et al.* (2003) und Spök *et al.* (2002) untersuchten Verfahren dem der gentechnisch veränderten Roundup-Ready-Sojabohne.

Aufgrund der Analyse des Zulassungsantrages durch Gaugitsch *et al.* (2003) und Spök *et al.* (2002) erfolgt im folgenden lediglich eine kurze Analyse von Futtermittelverwertungsstudien, die öffentlich verfügbar waren und sich zum Teil mit den in den Antragsunterlagen vorgelegten Studien überschneiden.

In den evaluierten Mais-Studien mit der ganzen GVO-Pflanze (Futtermittelverwertungsstudien) war das Versuchsdesign ähnlich jener der RR-Sojabohne. Die Messgrößen richteten sich meist nach agronomischen Gesichtspunkten. Es stehen Parameter wie Brustfettanteile, Brustmuskelmasse, Körpergewicht und Futtermittelverwertungsraten im Vordergrund. Diese Parameter sind zur Abschätzung der Human- oder Säugetiertoxizität ungeeignet.

Tabelle 12 listet Effekte auf, die im Rahmen von Fütterungsstudien bzw. Toxizitätstest von Bt-Mais nachgewiesen wurden. Während sich die Fütterungsstudien vor allem auf das cry1A(b) Toxin beziehen, sind histopathologische bzw. immunologische Effekte für cry1A(c) nachgewiesen.

Tabelle 12. Effekte von Bt-Mais im Rahmen von Fütterungsstudien oder Toxizitätstests

Effekt	Quelle
Beobachtete Unterschiede in der Nahrungsaufnahme oder bei Leistungsparametern bei der Fütterung von transgenem Mais	
Bt176	
1. Nahrungsverwertungseffizienz, Brustmuskel- und Brusthautanteil bei Bt-Mais gefütterten Masthühnern signifikant höher	Brake and Vlachos 1998 siehe Tab. 4, S E2 in Clark and Ipharraguerre 2001
Bt 11	
2. Nahrungsverwertungseffizienz besser bei Masthühnern, die mit Bt-Mais, mit Totalherbizid behandeltem Bt-Mais bzw. mit der Isolinie gefüttert wurden	Brake <i>et al.</i> 2003
3. Höhere Trockengewichtsaufnahme, geringerer Gewichtszuwachs und schlechtere Nahrungsverwertungseffizienz von Stieren, die mit Bt-Maissilage gefüttert wurden	Folmer <i>et al.</i> 2000 nur als Abstract publiziert
4. Unterschiede in fettkorrigierter Milch	Folmer <i>et al.</i> 2002

5. *in vitro* Trockengewichtsverdaubarkeit von Bt-Maisresten signifikant geringer als von konventionellem Mais Folmer *et al.* 2002
6. Körpergewicht und Nahrungsverwertungseffizienz geringer bei Bt-Maissilage gefütterten Stieren. Durchschnittlicher täglicher Zuwachs bei frühreifenden Sorten bei Bt-Mais höher, bei spätreifenden geringer. Folmer *et al.* 2002

MON810 bzw. MON810xGA21 bzw. RR-Mais

7. unterschiedliche Ertrags- und Leistungsparameter und Mortalitäten bei Bt-Mais gefütterten Masthühnern Taylor *et al.* 2003a
Taylor *et al.* 2003b

Toxin unklar (Zitiert in Clark and Ipharraguerre 2001)

8. Stiere, die Bt-Maissilage gefüttert wurden, zeigten schlechtere Nahrungsverwertungseffizienzen Hendrix *et al.* 2000
Seite E5
9. geringere Nahrungsaufnahme und geringeres Endgewicht bei mit Bt-Mais gefütterten Masthühnern Halle *et al.* 1998
Tab. 2, Seite E2
10. signifikant geringere Trockengewichtsaufnahme von Bt-Maissilage von Rindern Daenicke *et al.* 1999
Tab. 9, Seite E4

Histopathologische oder immunologische Effekte

11. Cry1 Toxin schädigt Zellen des Dünndarms* Fares and El-Sayed 1998
12. Cry1Ac Protoxin induziert Immunantwort, wenn es intragastrisch oder peritoneal verabreicht wird. Vazquez-Padron *et al.* 1999
13. Cry1Ac Protoxin bindet an die Dünndarmoberfläche und verursacht elektrophysiologische Veränderungen Vazquez-Padron *et al.* 2000
-

*eine genauere Spezifizierung des Toxins ist nicht angegeben, der Versuch wurde mit Bt-Kartoffeln durchgeführt

3.6.2 DISKUSSION

3.6.2.1 FÜTTERUNGSVERSUCHE

Bei der Überprüfung der Futterverwertungseffizienzen von Masthühnern (Tabelle 12, Punkte 1 und 2) wurde in zwei Studien eine schlechtere Futterverwertungseffizienz für Hühner festgestellt, die mit der konventionellen Maissorte gefüttert wurden (siehe Brake and Vlachos 1998, Brake *et al.* 2003). In beiden Studien wurde Sand, Karton und/oder Hühnerfett zur Diät mit der konventionellen Maissorte beigemischt, um Unterschiede im Rohprotein und Feuchte zwischen den Maishybriden auszugleichen, nicht jedoch zur Diät mit der Bt-Maissorte. Die verfütterte Diät mit der kommerziellen Sorte zeigte daher entsprechend leicht höhere Fett-, Faser- und Aschewerte. Die Argumentationsführung der Autoren der Studie (Brake and Vlachos 1998) scheint logisch, da sie den Effekt in der schlechteren Qualität der nicht-transgenen Isolnie aufgrund der Beimischung von Karton und Sand vermuten, die schließlich zu verringerter Nahrungsaufnahme der konventionellen Maissorte der Masthühner führen könnte. Der scheinbar „positive“ Effekt der Bt-Maissorte ist daher nicht auf die Verwendung einer transgenen Sorte zurückzuführen, sondern auf das Versuchsdesign.

Leistungs- und Ertragsparameter von Fütterungsversuchen werden als Nachweis der Sicherheit von Bt-Mais angeführt.

Fehlende statistische Auswertungen von Leistungs- bzw. Ertragsparametern bzw. zu geringe Replikation bei Fütterungsversuchen erschweren die Interpretationsmöglichkeit solcher Studien. In den von Clark and Ipharraguerre (2001) zitierten Tabellen aus Halle *et al.* (1998) (Tabelle 12, Punkt 9) geht nicht hervor, ob es sich bei den gemessenen Parametern um Mittelwerte handelt und es fehlt die Angabe der statistischen Methode bzw. der Standardabweichung, (siehe Seite E2, Tab. 1 und 2). Auch geht nicht hervor, welches Bt-Toxin für die Fütterungsstudie verwendet wurde. Die Mortalität von Bt-Mais gefütterten Masthühnern wurden von Taylor *et al.* (2003b) untersucht (Tabelle 12, Punkt 7). Weder aus dem Text noch aus der Tabelle geht hervor, ob ein statistisch

Die Aussagekraft der Futterverwertungsstudien ist begrenzt, wenn das Studiendesign unzureichend ist, statistische Auswertungen fehlen und beobachtete Effekte nicht interpretiert werden.

signifikanter Unterschied in den Mortalitäten nachweisbar ist, obwohl auffällt, dass die Mortalität an den Tagen 7-24 bei weiblichen Masthühnern, die mit MON810xRR Mais gefüttert wurden, am größten war (8%). Zudem sind Vergleiche von Leistungs- bzw. Ertragsparametern zwischen Bt-Mais und nicht Bt-Mais gefütterten Tieren nur begrenzt aussagekräftig, wenn die Ergebnisse nicht nach Geschlecht der Tiere getrennt ausgewertet werden. Die Autoren begründen die fehlende Auftrennung der Effekte nach Geschlecht damit, dass für alle gemessenen Parameter keine signifikanten Geschlecht-Behandlung-Interaktionen feststellbar waren, und daher Vergleiche innerhalb der einzelnen Geschlechter nicht gemacht wurden (Seite 450-51). Männliche Masthühner zeigen erfahrungsgemäß höhere Endgewichte am Ende der Versuchsdauer und bessere Nahrungsverwertungseffizienzen. Somit kann angenommen werden, dass bei Vergleichen, in denen die Werte beider Geschlechter gepoolt werden (siehe z.B. Tabellen 6, 10 und 11 in Taylor *et al.* 2003a), die Variabilität der Daten so groß ist, dass keine signifikanten Unterschiede nachweisbar sind.

Auch bei Bt-Mais ist, wie bei der RR-Sojabohne, die Interpretation der gezeigten Effekte nicht immer nachvollziehbar oder fehlend.

Obwohl Clark and Ipharraguerre (2001) in ihrem Review angeben, dass Halle *et al.* (1998) keine signifikanten Unterschiede nachwies (Tabelle 12, Punkt 9), erreichten die mit Bt-Mais gefütterten Masthühner in der zitierten Studie ein um rund 90 g geringeres Endgewicht als die Kontrollgruppe (bei geringfügig größerem Ausgangsgewicht und um rund 100g geringerer Nahrungsaufnahme). Der geringere Körpergewichtszuwachs entspricht rund 5%. Kestin and Knowles (2000) geben an, dass nach ihrer Erfahrung mit ähnlichen Studien ein Unterschied von 5,48% im Körpergewicht einen signifikanten Effekt ergäbe, wenn genügend Replikas getestet würden. Auch bei den in Clark and Ipharraguerre (2001) zitierten Fütterungsversuchen von Daenicke (1999, Tabelle 12, Punkt 10) scheint die Interpretation der Ergebnisse unlogisch. Die signifikant geringere Trockengewichtsaufnahme (DMI; dry matter intake) von Bt-Maissilage durch die Rinder führen Clark and Ipharraguerre (2001) darauf zurück, dass die Bt-Maissilage einen etwas geringeren Anteil an Trockengewicht (in %) aufweist, der jedoch aus der zitierten Tabelle als nicht signifikant unterschiedlich hervorgeht. Daher ist fraglich, ob dies der einzige Grund ist, warum die DMI Werte unterschiedlich sind, oder ob die Tiere tatsächlich weniger fraßen.

Zudem werden oft beobachtete Unterschiede auf Sorteneffekte und nicht auf die Inkorporation des Transgens zurückgeführt. Ähnliche Effekte sind nicht immer bei unterschiedlichen Bt-Maishybriden gegeben (z.B. früh- bzw. spätreifende Hybriden), wie dies z.B. in der Studie von Folmer *et al.* (2000) der Fall ist (Tabelle 12, Punkt 3). Allerdings ist hier die Originalstudie nur als Abstract abgedruckt. Die Tabellen, auf die sich Clark and Ipharraguerre (2001) beziehen, scheinen aufgrund der angegebenen persönlichen Kommunikation mit Klopfenstein zitiert zu sein, da sie in Folmer *et al.* (2000) nicht aufscheinen und daher hinsichtlich Methodik bzw. Statistik nicht überprüfbar sind.

Eine ähnliche Interpretation erfolgt bei Folmer *et al.* 2002 (Tabelle 12, Punkte 4-6). Den beobachteten Effekt in Punkt 4 führen die Autoren auf die generell höhere Verdaubarkeit der frühreifen Maissorten zurück. Die Argumentation scheint jedoch nicht schlüssig, da die bessere Verdaubarkeitswerte nur bei frühreifendem **Bt-Mais** (im Vergleich zum spätreiferen Bt-Mais) beobachtet wurden, hingegen die Werte bei frühreifem **konventionellem** Mais entweder gleich oder geringer sind. Daher wäre denkbar, dass die Unterschiede in der fettkorrigierten Milch auf die unterschiedliche Verdaubarkeit von Bt-Mais und konventionellem Mais zurückzuführen sind.

Unterschiede in der Leistung der Tiere werden häufig nicht mit unterschiedlicher Futterqualität in Verbindung gebracht. Zwar wird als Erklärung eines Effektes die Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Silage angeführt (siehe Punkt Folmer *et al.* 2002, Punkt 6 in Tabelle 12), es wird aber nicht näher darauf eingegangen. Folmer *et al.* (2002) kommen zu dem Schluss, dass die unterschiedliche Leistung der Tiere auf die kumulativen Effekte aller Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zurückzuführen sind. Sie zitieren sogar Studien, die belegen, dass diese Unterschiede in der chemischen

Zusammensetzung – auch wenn relativ gering – unterschiedliche Leistungen der Tiere ergeben können.

Eine mögliche Erklärung wäre in diesem Fall, dass die bessere Verdaubarkeit von frühreifenden Bt-Sorten zu einer höheren täglichen Trockengewichtsaufnahme und somit einem höheren täglichen Gewichtszuwachs führte.

Entsprechend zeigt das Endgewicht der Tiere eine höhere Tendenz, die jedoch in diesem Fall zu keinem signifikanten Unterschied führte.

Signifikante Unterschiede werden als „biologisch nicht relevant“ klassifiziert.

Die Interpretation von Ergebnissen fehlt vollkommen bei Folmer *et al.* (2002) (Tabelle 12, Punkt 5) und Hendrix *et al.* (2000, Tabelle 12, Punkt 8). Obwohl hier eindeutig Effekte nachweisbar sind, geben die Autoren an, keine wesentlichen Unterschiede in den Nahrungswerten der Silagen gefunden zu haben (Hendrix *et al.* 2000 zitiert in Clark and Ipharraguerre 2001). Teilweise werden signifikanten Unterschiede von den Autoren als „nicht von biologischer Relevanz“ angeführt, mit der Begründung, dass sie innerhalb der Variabilität von aus der Literatur bekannten Werten liegen (Taylor *et al.* 2003a). Diese Argumentationsweise entspricht jener, die auch bei der substantziellen Äquivalenz der RR-Sojabohne angewandt wird (siehe Kapitel 3.2.7).

3.6.2.2 HISTOPATHOLOGISCHE BZW. IMMUNOLOGISCHE STUDIEN

Mehrere Studien weisen auf negative Effekte von Bt-Toxinen im Dünndarm von Säugetieren hin. So zeigten Fares and El-Sayed (1998) ultrastrukturelle Veränderungen im Dünndarm bei Mäusen, die mit Bt-Toxinen gefüttert wurden.

Aus dem Studiendesign geht jedoch nicht hervor, ob die Mäuse ausschließlich über die Versuchsdauer mit Kartoffeln gefüttert wurden und welches Toxin konkret für die Versuche verwendet wurde. Es wird lediglich „cry1“

Negative Effekte von Bt-Toxinen im Verdauungssystem können derzeit nicht ausgeschlossen werden.

(siehe Material & Methoden) angegeben. Cr1 ist jedoch eine recht unspezifische Bezeichnung für eine Vielzahl an Proteinen wie z.B. cry1A, Cry1Ac, Cry1B, cry1F. Die Klasse der cry1-Proteine wirken auf die Organismengruppe der Lepidopteren (Schmetterlinge) toxisch. Die Effekte bei den mit GV Kartoffeln gefütterten Tiere lagen jeweils zwischen jenen der Bt-besprühten Kartoffeln und der Kontrollgruppe, auch die Morphologie der Darmzellen war signifikant unterschiedlich zu jener der Kontrollgruppe.

Vazquez-Padron *et al.* 1999 vermuten, dass das cry1Ac Protoxin ein systemisches und intestinales Antigen ist, das ähnlich stark wie das Cholera Toxin wirkt. In einer Folgestudie zeigten die Autoren, dass das Protein fähig ist, an die apikale Oberfläche des Dünndarmepithels von Mäusen zu binden und dort temporäre elektrophysiologische Veränderungen in der Dünndarmmembran verursacht (Vazquez-Padron *et al.* 2000). Die berichteten Effekte sind auch im Zusammenhang mit den Ergebnissen von Chowdhury *et al.* (2003) zu sehen, die das cry1A(b) Proteins im Verdauungssystem von Schweinen nachweisen konnten, die mit Bt-Mais gefüttert wurden. Wie bereits oben erwähnt, wird im Zulassungsverfahren mit Hilfe von *in vitro* Verdauungsstudien von einem raschen Abbau des Bt-Toxins ausgegangen. Der Nachweis des Bt-Toxins im gesamten Verdauungstrakt von Schweinen sowie der Nachweis der Bindemöglichkeit an das Dünndarmepithel von Mäusen zeigt jedenfalls deutlich, dass immunologische Interaktionen im Darmepithel nicht auszuschließen sind.

3.7 „ANECDOTAL EVIDENCE“

3.7.1 EINLEITUNG

Einzelbeobachtungen von Landwirten, Ärzten und anderen Personen sind häufig die ersten Anhaltspunkte, die auf ein bisher unbekanntes Krankheitsbild bzw. Schadensbild hinweisen. Diese sogenannte „anecdotal evidence“ oder erste Indizien sind wichtige Anhaltspunkte im Fortschritt der Erkenntnis. Dies trifft insbesondere für die Risikoforschung zu, die der Technologieentwicklung kontinuierlich hinterher hinkt.

In den meisten Fällen der „anecdotal evidence“ kann zwischen der Beobachtung und möglichen Ursachen kein klarer Zusammenhang festgestellt werden, jedoch gibt es erste Vermutungen und Anhaltspunkte, die wissenschaftlich überprüft werden sollten. Aufgrund begrenzter Forschungsressourcen sind auch der wissenschaftlichen Überprüfung von „anecdotal evidence“ enge Grenzen gesetzt, wodurch eine Überprüfung nicht in jedem Einzelfall möglich ist.

Im Rahmen dieser Studie wurde im Sinne eines Frühwarnsystems versucht, „anecdotal evidence“ bezüglich gesundheitlicher Risiken von gentechnisch veränderten Soja- und Maispflanzen nachzugehen. Das heißt, es wurden Berichte aus Zeitungen, Newsdiensten und dem Internet recherchiert und dahingehend überprüft, ob die getätigten Aussagen durch wissenschaftliche Studien bereits belegt werden konnten.

In den nachfolgenden Tabellen wird in beobachtete Effekte beim Menschen bzw. bei Tieren unterschieden.

3.7.2 ANALYSE DER SACHVERHALTE

Tabelle 13. Beobachtete oder vermutete Effekte beim Menschen

Beobachteter/angenommener Effekt	vermutete Ursache	Quelle
1. 1998-1999 Anstieg bei Sojaallergien um 50% in GB und Soja unter den Top 10 der allergenen Nahrungsmittel (Aufstieg im Ranking auf Platz 9 von Platz 14)	RR-Sojakonsum, ab 1997 vermehrt RR-Soja in verarbeiteten Produkten Soja ist in 60% aller verarbeiteten Produkte in GB)	York Nutritional Laboratory (Mark Varey, J. Graham) Daily Express 12.März 1999
2. Anstieg von Sojaallergien bei Kindern in Irland seit dem Import von GM Soja	siehe oben	Dr. Elizabeth Cullen, co-chair der Irish Doctors Environmental Association, The Irish Times 13. März 2001
3. Anstieg bestimmter Geburtsdefekte um bis zu 50% in 5 Jahren (1995-1999) z.B. „hypospadias“ (Genitalabnormitäten bei männlichen Säuglingen)	Anstieg an östrogen-ähnlichen Substanzen in der Diät, u. a. hat Soja einen feminisierenden Effekt auf männl. Föten	The Independent, Jeremy Laurance, 18. März 2002 (Studie der britischen Birth Defects Foundation)
4. 10facher Anstieg an Nahrungsmittelunverträglichkeiten (food related illnesses) in den USA (z.B. „irritable bowel syndrome“, Durchfall, Erbrechen) seit 1994 (Stand 1999) bzw. verdoppelt in den letzten 7 Jahren	www.btinternet.com , www.consumerhealthreviews.com ISIS Report, 3. Nov. 2001 New York Times 18. März 2001 www.soilassociation.org	
5. Einzelbeobachtungen von Konsumenten (z.B. allergische Reaktion nach Konsum von GV-Produkten)	www.btinternet.com	

Beobachteter/angenommener Effekt	vermutete Ursache	Quelle
6. Gentechnisch hergestellte -Enzyme in Zusammenhang mit Allergien	Anita Baumgartner: „Allergien: Enzyme unter schwerem Verdacht“, PulsTip März 1999, p14-16, Zürich (Originalliteratur: Dissertation T. Bohner, ETH Zürich)	
<p>1. In einer Pressemeldung des Daily Express vom 12.März 1999, wird eine Presseaussendung der York Nutritional Laboratory (Mark Varey) zitiert, die von einem Sojananstieg um 50 % im Jahr 1998 berichten. Der Autor von Daily Express meint, dass das Jahr 1998 das erste Jahr war, in dem gentechnisch veränderte RR-Soja im großen Stil verkauft wurde. Ein Zusammenhang des Sojanstieges mit der gentechnisch veränderten Sojabohne kann weder ausgeschlossen noch angenommen werden, weil gentechnisch verändertes Soja nicht von konventionellem Soja getrennt vermarktet wird. John Graham von den York Nutritional Laboratory wird in Daily Express vermutlich nach telefonischer Rückfrage durch Daily News mit den Worten zitiert: <i>„Forscher des York Nutritional Laboratory hatten in einem Screening von 4.500 Personen einen Anstieg von Gesundheitsbeschwerden durch Soja von 10 von 100 auf 15 von 100 Personen gefunden. Hierbei wurden Verdauungsprobleme, Hautprobleme udgl. analysiert. Durch diese Studie wird die Sicherheit von gentechnisch veränderten Sojabohne in Frage gestellt.“</i></p>	<p>Keine der berichteten Effekte im Zusammenhang mit RR-Soja konnte durch publizierte oder offizielle Studien bestätigt werden.</p>	
<p>Huib de Vriend vom holländischen Konsumentenverband, der die Original-Presseaussendung der York Nutritional Laboratories zitiert (Genet News vom 17 März 1999), relativiert die Aussage bzw. die Zitate im Daily Express. Die Presseaussendung der York Nutritional Laboratories bestätigte nur, dass Soja eines der Top 10 Nahrungsmittel ist, das mit chronischen Krankheiten einhergeht. In der Presseaussendung werden keine Verbindungen zu RR-Soja hergestellt, es wird angeführt, dass der Anstieg der Allergien genauso auf einen erhöhten Sojakonsum zurückzuführen sein könnte. Morris in genet-news vom 28 Mai 2000 berichtet, dass sie die erwähnte Studie von den York Nutritional Laboratories erhalten und analysiert habe. In der „Studie“ wurde ca. 20-50 Personen getestet. 1997 seien 10 Personen positiv getestet worden und 1998 15 Personen positiv getestet worden. Dem Anschein nach hat es eine wissenschaftlich verlässliche Untersuchung von York Laboratories nie gegeben. Die Presseaussendung von den York Nutritional Laboratories und das Promoten der „Studie“ dürfte für Vermarktungszwecke durchgeführt worden sein, um den Verkauf des neu entwickeltes Test-Kit für Allergien der York Nutritional Laboratories zu fördern. (Morris in genet-news vom 28 Mai 2000). Die angeführte Studie ist weder über die Homepage der York Nutritional Laboratories zu finden, auch eine Kontaktaufnahme war nicht erfolgreich (email am 17. 9. 2003). Ebenso blieb eine Recherche in internationalen Datenbanken bezüglich eines Anstieg von Sojallergien erfolglos.</p>	<p>2. Zu dem Artikel über den Anstieg von Sojaallergien bei Kindern in Irland in der Tageszeitung “The Irish Times” konnte keine Originalliteratur gefunden werden. Dr. Elizabeth Cullen bestätigte, dass es keine wissenschaftliche Grundlage gibt, die den Allergiestieg belegt, sondern nur “anecdotal evidence” (siehe Antwort-email vom 15. 10. 2003).</p>	
<p>3. Zum berichteten Anstieg an Geburtsdefekten in der Tageszeitung “The Independent” ist keine Originalliteratur verfügbar. Weder eine Publikation noch eine offizielle Studie sind von der britischen Birth Defects Foundation erhältlich. Die Organisation weist auf ihrer Homepage eine Grafik aus, die die Geburtsdefekte pro 10.000 Geburten anführt. Im Zeitraum 1995 bis 1999 stiegen Gastroschisis (abdominaler Eingeweidebruch) von 1,3 auf 1,9 Fälle, gespaltene Gaumen von 5,9 auf 9,2 Fälle und Genitalabnormalitäten von 7,5</p>		

auf 8,5 Fälle (jeweils pro 10.000 Geburten) an. Allerdings ist keine Quelle zu der Grafik angegeben. Dr. Patton, ein Arzt der British Birth Defects Foundation wird zitiert: "...dass manche Substanzen, wie z.B. Soja, Phytoöstrogene enthalten, von denen vermutet wird, dass sie eine feminisierende Wirkung auf männliche Föten haben...". Es wird jedoch kein Zusammenhang mit RR-Soja hergestellt. Baskin *et al.* 2001 evaluiert mögliche Ursachen für Genitalabnormalitäten bei Neugeborenen, finden aber keine Studien, die einen Zusammenhang zwischen Phytoöstrogenen und Genitalabnormalitäten herstellen. In epidemiologischen Studien hatten Söhne von vegetarischen Müttern erhöhte Chancen für Genitalabnormalitäten. Obwohl es unterschiedliche Vermutungen gibt (siehe Tabelle 3 in Baskin *et al.* 2001), sind die genauen Ursachen dieser Geburtsdefekte bis dato unbekannt.

4. Zu den Meldungen, die auf ein human- oder säugetiertoxisches Potenzial im Lebensmittelbereich hinweisen, gibt es wenig fundierte Daten oder seriöse Studien. Die Informationen entstammen unterschiedlichen Quellen – meist aus Zeitungsartikeln oder von Internetseiten, selten aus Fachjournalen. Es zeigt sich, dass sowohl der Effekt selbst meist nicht wissenschaftlich gesichert ist (z.B. Häufung von Allergien), auch die zugrundeliegende Ursache ist unbekannt und wird lediglich vermutet.
5. Die Angaben der Anstiege von Nahrungsmittelunverträglichkeiten zwischen 1994 und 1999 sind aus zwei Studien des amerikanischen Center for Disease Control (Mead *et al.* 1999) entnommen. Auf den oben genannten Homepages ist angeführt, dass im Vergleich zu einer retrospektiven Studie in Schweden in den USA Nahrungsmittelerkrankungen bis zu 10mal häufiger vorkommen. Die US Studie schätzt, dass von 76 Millionen Erkrankungen rund 81% auf unbekannte Ursachen zurückzuführen sind, ein ähnlicher Prozentsatz wird für Schweden angeführt (79%). Die Autoren der US Studie weisen jedoch auch auf eine Reihe von methodischen Schwierigkeiten und Annahmen hin, wie z.B. das Ausmass des Nicht-Meldung von einzelnen Pathogenen und die Berechnung der Häufigkeit von akuten Darmentzündungen, die eine Vergleichbarkeit dieser Studie mit anderen erschwert und auch Aussagen zu allgemeinen Entwicklungstrends von Nahrungsmittelerkrankungen schwierig macht. So lassen sich Unterschiede z.B. aufgrund von besserer Diagnostik und Analysemöglichkeiten erklären bzw. auf die Miteinbeziehung von bestimmten Erkrankungen (z.B. durch Norwalk-ähnlichen Viren verursacht, der für rund 67% aller Fälle verantwortlich ist). Zudem ist auch der bessere Zugang zu Informationen (auch leichte Erkrankungen werden nun erfasst, die nicht dem Hausarzt berichtet werden) für einen scheinbaren Anstieg der Erkrankungen verantwortlich (Mead *et al.* 1999).
6. Die Vermutung, dass Allergien im Zusammenhang mit gentechnisch hergestellten Enzymen stehen, konnte von einer Mitarbeiterin des zitierten Journals (PulsTipp) nicht anhand einer Studie belegt werden (Antwort-email von Sonja Marti vom 27 Juni 2003). Eine Kontaktaufnahme mit Professor Folkers vom Institut für Pharmazie der ETH Zürich, wo angeblich eine Dissertation zu dem Thema von Thomas Böhner verfasst wurde, blieb erfolglos (email vom 30 Juni 2003).

Selbst die berichteten Effekte, deren Ursachen mit GVO in Zusammenhang gebracht werden, sind meist wissenschaftlich nicht gesichert.

Tabelle 14. Beobachtete Effekte bei Tieren

Beobachtete Effekte	Quelle
1. Scheinschwangerschaften bei Zuchtsauen in Iowa, USA, die mit Bt-Mais (cry9C) gefüttert wurden	Iowa Farm Bureau Spokesman, USA, Tom Block zitiert in: genet-news 29 April 2002: Pseudopregnancies puzzle swine producer http://www.ifbf.org/publication/archive/t_search1.asp?number=19120&atype=current und genet-news vom 13 Mai 2002: More Iowa sow herds experiencing breeding problems http://www.ifbf.org/publication/archive/t_search1.asp?number=19212&atype=current
2. Tiere verweigern Aufnahme von GV Pflanzen bzw. zeigen geringere Gewichtszunahme (GV Mais und Soja)	Steven Sprinkle, US Journalist, Bericht für ACRES USA, Jänner 1999 und Artikel in Farmers Weekly, März 1998 von Leon Ridzon
3. Rinder ziehen durch GV-Versuchsfeld (herbizidresistenter Mais) – keine Beschädigung des Mais durch Fraßspuren	Presseaussendung des britischen MAFF, 10. November 2000 Novotny 2002
4. tendenzielle Bevorzugung von nicht-Bt-Mais gegenüber Bt-Mais von jungen Stieren	Folmer <i>et al.</i> 2002 (siehe Tab. 12 in Clark and Ipharraguerre 2001)

1. In Berichten von gehäuftem Auftreten von Scheinschwangerschaften auf amerikanischen Farmen in Iowa, die ihre Zuchtsauen mit Bt-Maishybriden fütterten, wird ein bis zu 100facher Anstieg von *Fusarium* Infektionen der Maishybriden als Ursache für die beobachteten Effekte angesehen. Zearalenon, ein Toxin, das von bestimmten *Fusarium*arten produziert wird, kann derartige Scheinschwangerschaften auslösen, wurde jedoch nicht im verfütterten Mais nachgewiesen. Forscher der Iowa State Universität kamen zu dem Schluss, dass nicht das Bt-Toxin für die Scheinschwangerschaften verantwortlich war. Die Wissenschaftler erwähnen, dass die Ursachen von Scheinschwangerschaften bis dato nicht geklärt sind, jedoch konnte eine detaillierte Untersuchung des Züchtungsmanagements in einigen der Farmen die beobachteten Probleme klären (siehe genet-news vom 18 Oktober 2002: GE corn not to blame for sow reproductive problems und News Service der Iowa State University vom 15 Oktober 2002). Eine detaillierte Studie zu der erwähnten Untersuchung ist jedoch von der Iowa State Universität nicht erhältlich.
2. Die berichtete Vermeidung von Bt-Mais von Rindern stammt von einer Presseaussendung des britischen MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food) vom 10. November 2000 und wird in Novotny (2000) zitiert. Darin wird berichtet, dass Rinder, die ein Bt-Maisfeld in Somerset, UK, querten, dieses zwar zerstörten, aber nichts von dem Mais fraßen. Bei dem Mais handelt es sich um die Sorte "Sheridan", einen herbizidresistenten Mais.
3. Die Berichte zur Verweigerung der Konsumation von GV Pflanzen (Mais oder Soja) sind einer speziellen Ausgabe der Zeitschrift ACRES USA zu entnehmen.
4. Obwohl eine Reihe von wissenschaftlichen Publikationen die Futterverwertung von GVO untersuchen Brake and Vlachos 1998; Donkin *et al.* (2000); Brake *et al.* (2003); Donkin *et al.* (2003), ist nur Folmer *et al.* (2002) ein konkreter Versuchsansatz zur Untersuchung der Nahrungspräferenz zu entnehmen. Bei diesem Versuch ist jedoch eine Erhöhung der Replikation für den Nachweis der Nahrungspräferenzen für konventionellen Mais von Jungstieren wünschenswert. Obwohl die Fraßpräferenz von Bt und konventionellen Mais nicht signifikant unterschiedlich waren, fraßen tendenziell weit weniger Tiere Bt-Mais und die ausgewiesenen Mittelwerte in Prozent scheinen nur knapp innerhalb des Standardfehlers zu liegen (47.5% Bt-Mais, 52.5% nicht Bt-Mais, SEM 5.2, $p = 0.5$, siehe Folmer *et al.* 2002).

Mittels Futterpräferenzstudien könnten die berichteten Vermeidungen von Bt-Mais von Rindern überprüft werden.

3.7.3 DISKUSSION

Die hier aufgezeigten Fälle zeigen die Bandbreite von „anecdotal evidence“ auf“. In einem Fall stammt die „anecdotal evidence“ von einem Marketing Gag, um den Verkauf eines Testkits zu fördern. In einem anderen Fall handelt es sich um eine „subjektive Wahrnehmung“ einer Ärztin. Ihre Beobachtungen stellen keinen Beweis, sondern lediglich eine vage Vermutung dar. Ihre Wahrnehmung könnte durch Forschung belegt oder widerlegt werden. Bisher war anscheinend kein Interesse vorhanden, die Frage, ob Sojaallergien in den letzten Jahren angestiegen sind, epidemiologisch zu untersuchen.

Manchmal ist der Effekt unbestritten (vermehrtes Auftreten von Scheinschwangerschaften bei Schweinen), jedoch die Ursache nicht eindeutig geklärt. Wenn man den Effekt wissenschaftlich gesichert hat, wird es meist noch schwieriger, die mögliche Ursache für den Effekt zu identifizieren. Denn gerade im Bereich der Epidemiologie ist es sehr schwierig, Effekte auf eine einzige Ursache zurückzuführen. Wir leben in einer Umwelt von vielfältigsten potenziell schädigenden Einflüssen. Die Herstellung eines kausalen Zusammenhanges zwischen einem beobachteten Anstieg von Krankheiten in der Bevölkerung und einer erhöhter GVO- oder Pestizidexposition in der Nahrung ist schwierig. Dennoch verdienen gerade epidemiologische Daten besondere Beobachtung. Experimentelle Untersuchungen haben immer Modellcharakter, eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit kann, muss aber nicht zwingend zutreffen. Da aber experimentelle Versuche mit dem Menschen nicht durchführbar sind, stellen sie die Basis für die Risikoabschätzung dar. Epidemiologische Daten haben den „Vorteil“, dass es sich hierbei um reale Daten handelt, die nicht aus einem Tiermodell abgeleitet wurden. Nachteilig ist, dass in einer komplexen Umwelt die Identifizierung der Ursachen äußerst schwierig ist. Voraussetzung für die Analyse der Ursache ist, dass es Bevölkerungsgruppen gibt, die sich in ihrer Exposition zum untersuchten Pestizid bzw. GVO von der durchschnittlichen Bevölkerung unterscheiden. Diese unbelastete Vergleichsgruppe, die allen Faktoren bis auf einen (Pestizid oder GVO) gleichermaßen ausgesetzt ist, ist aber immer schwieriger zu finden.

Die hier angeführten Beispiele von „anecdotal evidence“ zeigen deutlich auf, dass viele Fragen nicht untersucht sind. Eine Gesundheitsgefährdung kann weder angenommen noch ausgeschlossen werden.

3.8 EXKURS - RISIKEN TRANSGENER ORGANISMEN DURCH SYNTHETISCHE RNA

3.8.1 NEUE ROLLE DER RNA

Die Bedeutung von RNA wurde bislang unterschätzt, obwohl menschliche Zellen ihre Energie dafür einsetzen, zu 98% RNA und nur zu 2 % Proteine zu produzieren (Taft und Mattick 2003). Frühere Analysen der DNA mit den methodischen Ansätzen der Sprachwissenschaft wiesen jedoch darauf hin, dass sich in dem nicht-codierenden Bereich, der bislang als evolutionärer Abfall gehandelt wurde, Information befindet. Interessanterweise wiesen die Bereiche, in denen die Gene lagen, keine Übereinstimmung mit sprachlichen Mustern auf (Flam 1994, Havlin et al. 1995, Stanley et al. 1999). Die Vielfalt der Funktionen der RNA wurde erst vor wenigen Jahren entdeckt. RNA ist an der Expression von Genen stark beteiligt (Scacheri et al. 2004, Epshtein et al. 2003, Sudarsan et al. 2003, Suess et al. 2004). Die Expression von bis zu 26 Genen kann von sogenannten „Riboswitches“ (sehr kleine RNA-Moleküle) kontrolliert werden (Winkler et al. 2003). Zudem dürften sehr zentrale Funktionen des Organismus, wie zB die Neuronalentwicklung, von RNA-Molekülen gesteuert werden (Krichevsky et al. 2003, Sempere et al. 2004, Kim et al. 2004) Ebenso dürften RNAs bei der Krebsentstehung oder Verhinderung eine Rolle spielen (Calin et al. 2004, McManus 2003). Die bisherigen Funktionen beziehen sich vorwiegend auf kleine sogenannte micro RNAs (ca. 21 basepairs). Jedoch auch längere RNAs wie zB Pseudogene (Hirotsune et al. 2003) oder Abschnitte in „Gene desert“ (Nobrega

et al. 2003a) - das sind besonders lange Abschnitte im Genom zwischen den Genen (500.000 basepairs) - haben regulatorische Funktionen.

Auf Basis der neu entdeckten vielfältigen Funktionen der RNA (RNA interference, imprinting, methylation and transvection) wird vermutet, dass in höheren Eukaryoten (höher entwickelten Organismen) ein Regulationssystem höherer Ordnung auf RNASignalen basiert (Mattick und Gagen 2001). Dies lässt sich auch daran ablesen, dass mit der Komplexität des Organismus nicht die Anzahl der Gene, sondern der Gehalt an non coding DNA ansteigt, deren Funktion bisher weitgehend unbekannt ist (Taft und Mattick 2003). Viele non coding DNA-Bereiche sind evolutionär konserviert, das heißt, sie kommen in vielen unterschiedlichen Tierarten vor (Nobrega et al. 2003b). Dies deutet auf eine wichtige Funktion von RNA im Tierreich hin und ist auch ein deutliches Indiz dafür, dass RNA über die Artgrenzen hinweg wirksam ist.

Die bisherige Unterschätzung der RNA wird bereits als der größte Fehler in der Geschichte der Molekularbiologie gesehen (siehe folgendes Zitat).

*“The failure to recognize the importance of introns may well go down as one of the biggest mistakes in the history of molecular biology”
John S. MATTICK Director of Institute of Molecular Bioscience, University Queensland (Australia) (see Gibbs 2003)*

3.8.2 ÜBERRASCHENDE STABILITÄT VON RNA AUßERHALB VON ZELLEN – RNA - KOMMUNIKATION

Bisher wurde angenommen, dass RNA außerhalb von Zellen nicht „lebensfähig ist“. Durch das ubiquitäre Vorkommen von Enzymen (Ribonucleasen), die RNA abbauen, wurden bisher Funktionen der RNA außerhalb der Zelle ausgeschlossen. RNA, die in die Blutbahn injiziert wird, ist binnen weniger Sekunden nicht mehr nachweisbar (Tsui et al. 2002). Die Entdeckung von (cell free) RNA außerhalb der Zelle war eine wissenschaftliche Sensation, die man sich auch heute noch schwer erklären kann. Mittlerweile wurden erste Nachweise geführt, dass DNA an diverse Oberflächen gebunden und so vor dem Abbau geschützt werden kann (Hasselmann et al. 2001). Tsui et al. geben im folgenden Zitat einen kurzen Überblick über mögliche Mechanismen.

The existence of circulating RNA is a remarkable finding because RNA is more labile than DNA and ribonuclease is known to be present in blood . At present, the exact mechanisms that protect circulating RNA are still un-known. The RNA may possibly be complexed to lipids, proteins, lipoproteins, or phospholipids bound. with DNA in nucleosomes (9, 12); or protected within apoptotic bodies or other vesicular structures (Tsui et al. 2002)

RNA aus dem Fötus lässt sich im Blut der Mutter nachweisen - und lässt sich bereits wenige Minuten nach der Geburt im Blut der Mutter nicht mehr nachweisen. Dies deutet auf eine Kommunikationsfunktion der RNA hin (Ng et al. 2003).

3.8.3 DNA UND RNA AUFNAHME ÜBER DEN VERDAUUNGSTRAKT

Sowohl für die DNA als auch für die RNA wurde bisher angenommen, dass sie vollständig im Verdauungstrakt abgebaut werden.

Erst die Untersuchungen von SCHUBBERT et al. 1997 zeigten, dass DNA-Bruchstücke sehr wohl in der Lage sind, den Verdauungstrakt vollständig zu überstehen. Nahrungs-DNA wird offenbar über das Darm-assoziierte Lymphsystem (GALT – gut-associated-lymphoid-tissue) aufgenommen. Von

dort kann es in die Blutbahn übertreten und zu verschiedenen Geweben transportiert werden. Selbst eine Übertragung von DNA-Bruchstücken über die Placenta in einzelne Gewebsteile von Föten konnte im Rahmen der Versuche nachgewiesen werden.

Erste DNA-Fütterungsversuche bei Mäusen wurden mittels viraler DNA oder nackter DNA durchgeführt. Bei diesen Versuchen konnte bereits gezeigt werden, dass Bruchteile der Nahrungs-DNA entgegen den bisherigen Erwartungen in der Lage sind, den Magen-Darm-Trakt zu überstehen und in die Blutbahn und in einzelne Zellen des Immunsystems aufgenommen zu werden (Schubbert et al. 1998, Doerfler et al. 2001b).

Die beobachteten Phänomene wurden aber auf die spezielle Form der DNA (virale und nackte DNA) zurückgeführt. Eine erfolgreiche Übertragung aus pflanzlicher Nahrungs-DNA wurde immer noch angezweifelt. Es wurde angenommen, dass sie im Magen- und Darmtrakt vollständig abgebaut wird. Doch interessanterweise war die Integrationsrate in Lymphocyten und Organen von DNA-Bruchstücken aus Sojablättern höher als bei nackter DNA. Dies wird auf mögliche Bindungen mit Zellpartikel zurückgeführt (Hohlweg und Doerfler 2001). Mittlerweile wurde von mehreren Forscher-Gruppen der Nachweis der Aufnahme von Bruchstücken pflanzlicher Nahrungs-DNA in Säugetieren (Schwein, Kuh) und Geflügel erbracht. Besonders in Lymphocyten wurden häufig DNA-Bruchstücke identifiziert. Bei Geflügel konnte jedoch in allen untersuchten Organen der Nachweis einer Nahrungs-DNA Sequenz geführt werden (Einspanier et al. 2001). Spuren pflanzlicher DNA konnten auch in der Milch (Einspanier et al. 2001, Phipps et al. 2003) und im rohen Schweinefleisch (Reuter 2003) nachgewiesen werden.

Die Hauptintegration von Bruchstücken aus Nahrungs-DNA erfolgt in den Lymphocyten (Schubbert et al. 1997) Dies deutet auf einen engeren Zusammenhang zwischen Nahrungs-DNA/RNA und dem Immunsystem hin.

3.8.4 MÖGLICHE RISIKEN DES TRANSFERS VON DNA UND RNA

3.8.4.1 ANSATZ VON INDUSTRIE UND WISSENSCHAFT – KEINE RISIKEN DURCH RNA, DNA

Die vorhergehenden Abschnitte dienen dazu, um einerseits die vielfältigen Funktionen der RNA, die unerwartete Stabilität von RNA und die Aufnahme von DNA-Bruchstücken in den Säugetierorganismus zu zeigen. Die Möglichkeit der Aufnahme von Nahrungs-RNA wurde bei Säugern bisher noch nicht gezeigt. Die Aufnahme von Bruchstücken von Nahrungs-RNA ist bei dem Nematoden *C. elegans* nachgewiesen. Die Aufnahme von RNA über die Nahrung bei Säugern kann nicht mehr verlässlich ausgeschlossen werden, sondern liegt nahe (siehe oben: Stabilität an Partikel gebundener RNA außerhalb von Zellen).

Es ergibt sich die zentrale Frage nach der Bedeutung dieser Phänomene für die Risikoabschätzung transgener Pflanzen.

Vertreter der Gentech-Firmen (GLENN 2003) und Wissenschaftler (Beever und Phipps 2001, ILSI 2002) sehen in der Aufnahme von Bruchstücken von Nahrungs-DNA noch kein Risiko. Dies wird vor allem damit begründet, dass

6. DNA und Proteine häufig in unserer Nahrung vorkommen
7. DNA und Proteine transgener Pflanzen aus den gleichen Bausteinen aufgebaut sind
8. DNA und Proteine transgener Pflanzen den gleichen Verdauungsvorgängen unterliegen wie normale DNA
9. DNA und Proteine in der Verdauung rasch zu kleinen Bruchstücken abgebaut werden.

Ein Risiko ergibt sich nach deren Auffassung lediglich dann, wenn eine Funktion (Transkribierung des Transgens im Säugetierorganismus nachgewiesen werden kann). Dies konnte auch nach 8 Monaten

Versuchdauer bei Mäusen bisher nicht gezeigt werden (Hohlweg und Doerfler 2001) und ist auch aus theoretischen Überlegungen sehr unwahrscheinlich. Es kann vermutet werden, dass durch diese Argumentation lediglich eine falsche Fährte gelegt werden soll. Durch den Ausschluss eines Risikoaspektes (Integration des ganzen Transgens in Säugetierzellen) werden alle Risiken von DNA und RNA aus transgenen Pflanzen von vornherein ausgeschlossen.

Bevor man Risiken durch DNA/RNA von vornherein ausschließt, sollten zuvor noch folgende Fragen geklärt werden:

- Kann mit Sicherheit angenommen werden, dass nur vollständige Gene eine Funktion im Organismus übernehmen – und kann deshalb mit Sicherheit ausgeschlossen werden, dass DNA/RNA Bruchstücke keine regulatorische Funktion haben können?
- Gibt es einen Unterschied in der Qualität der DNA/RNA Bruchstücke, die ein verändertes (erhöhtes) Risiko transgener Pflanzen nahe legen lassen?

3.8.4.2 FUNKTION VON RNA/DNA BRUCHSTÜCKEN

Die Frage, ob mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, dass DNA/RNA Bruchstücke keine regulatorische Funktion haben können, kann klar mit NEIN beantwortet werden.

Wie die Erkenntnisse der RNA-Forschung zeigen, sind es vor allem kleine RNA-Bruchstücke, die im Organismus hochspezifische regulatorische Funktionen übernehmen (zB Scacheri et al. 2004, Epshtein et al. 2003, Sudarsan et al. 2003, Suess et al. 2004, Winkler et al. 2003 - siehe oben). Zudem wurde bereits für den Nematoden *C. elegans* nachgewiesen, dass kleine RNA aus der Nahrung im Organismus die Expression von Genen regeln kann (Kamath und Ahringer 2003). Die Vielfalt an möglichen regulatorischen Elementen, die im non coding Bereich der DNA liegen und als RNA aktiv sind, wird zunehmend erkannt. Für das menschliche Genom erhofft man sich im Rahmen eines weiteren Großforschungsprojektes die Funktionen der 1% non coding DNA zu erforschen. Hier werden noch viele unerwartete überraschende Ergebnisse zu Tage treten, wie dies bereits die jüngere Geschichte gezeigt hat. Ein weiteres Argument, das auf die Funktionsweise von DNA/RNA Bruchstücken hinweist, ist die simple Tatsache, dass sie das Verdauungssystem passieren können. Damit sich überhaupt zelluläre Organismen entwickeln konnten, mussten sie zwischen gut und böse unterscheiden lernen. Was gut für die Zelle ist, wird aufgenommen, was schlecht ist, wird nicht hereingelassen. Wenn dieser Mechanismus nicht funktioniert, dann wird der Organismus krank. Es ist anzunehmen, dass DNA/RNA-Bruchstücke im Prinzip einen Zweck erfüllen müssen, der nützlich für den Organismus ist. Es erscheint unlogisch, Müll im Lymphsystem aufzunehmen und diesen erst nach und nach wieder aus dem Körper zu entfernen. Teile der oben erwähnten Funktionen organismuseigener RNA könnten auch von von Nahrungs-RNA/DNA durchgeführt werden. Zumindest in *C. elegans* wurde dies ja schon nachgewiesen. Daneben gibt es auch Hinweise, dass Nahrung epigenetische Auswirkungen auf die Nachkommen hat, die ein Leben lang fixiert sind. Das heißt diese Änderung sind nicht in der DNA sonder epigenetisch in der Zelle fixiert, und werden an die Nachkommen weitervererbt. Mäuse, die unterschiedliches Futter während der Schwangerschaft aufnahmen, zeigten deutliche Unterschiede in der Haarfarbe (gelb versus braun), in der Größe und in der Anfälligkeit gegenüber Krebserkrankungen (Waterland und Jirtle 2003).

3.8.4.3 UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DNA/RNA TRANSGENER PFLANZEN UND KONVENTIONELL GEZÜCHTETEN SORTEN

Unterschiede zwischen DNA/RNA transgener Pflanzen und konventionell gezüchteter Sorten lassen sich wie folgt begründen:

5. Transgene Pflanzen enthalten synthetische Gene, die in dieser Form in keinem einzigen Lebewesen der Erde vorkommen. Die einzelnen regulatorischen Sequenzen des Gens (Promoter, Expressionssequenz, Terminator, etc.) sind Elemente verschiedenster Organismen. Die Elemente wurden zu einem neuen synthetischen Gen rekombiniert. Zudem ist die Expressionssequenz noch verändert, um Aktivitäten zu steigern.
6. Da der Ort der Integration zufällig ist, erfolgt die Integration möglicherweise in Regionen, die regulatorische Funktionen ausüben. Störungen der Expression von Protein bzw. RNA-Genen könnten die Folge sein.
7. Nach erfolgter Transgen-Insertion erfolgen seitens der Pflanze Veränderungen am synthetischen Gen und der umliegenden DNA Region (DNA rearrangement). So gehen ursprüngliche Teile des synthetischen Gens verloren (wie zB bei Mais Mon810, Bt176 Maize, GA21 (Collonier et al. 2003). Es treten zudem noch unbekannte Sequenzen auf, die nur RNA, jedoch keine Proteine exprimieren, zB Roundup-ready Sojabohne (Windels et al. 2001, Collonier et al. 2003) und NK603 (EFSA 2003).
8. Mit der Geninsertion werden auch mehrere tausend Mutationen im Genom der Pflanze ausgelöst. Diese werden erst durch Rückkreuzungen größtenteils eliminiert (Wilson et al. 2003).
9. DNA Integration verändert die Transkription und Methylierungsmuster des Genoms. Dies betrifft nicht nur Abschnitte unmittelbar an der Integrationsstelle des Genoms, sondern auch entfernt gelegene Abschnitte (Doerfler et al. 2001a).

Allen diesen Unterschieden ist gemeinsam, dass neue unbekannte RNAs gebildet werden, die bisher in keinem Organismus vorkamen. Die Funktion solcher RNA ist im Prinzip nicht vorhersagbar, jedoch können auch wesentliche RNA-RNA, RNA-Protein, RNA-DNA Interaktionen betroffen sein, die Veränderungen im Säugetierorganismus hervorrufen. Die Beobachtung veränderter Zellkerne in Mäusen bzw. Ratten, die mit transgener Soja (Malatesta et al. 2002a, Malatesta et al. 2002b) bzw. Kartoffeln (Ewen, Pusztai pers. Communication 2003) gefüttert wurden, könnte darauf zurückgeführt werden.

3.8.5 ZUSAMMENFASSUNG

Diese Befunde weisen darauf hin, dass in der Risikoabschätzung von GVO der bisherige Fokus auf gesundheitliche Wirkungen durch Proteine möglicherweise zu eng gefasst war. Zwischen DNA/RNA der Nahrung und dem Immunsystem von Säugetieren besteht offenbar ein engerer Zusammenhang als bisher gedacht wurde. Auch der Einfluss von Nahrung auf unser die Nachkommen ist deutlich höher als bisher gedacht. Mäuse die unterschiedliches Futter während der Schwangerschaft aufnahmen, zeigten deutliche Unterschiede in Haarfarbe (gelb versus braun), in der Größe und in der Anfälligkeit gegenüber Krebserkrankungen. Der RNA-Gehalt in der Nahrung ist ca. zwei bis sechs mal höher als der DNA-Gehalt (ILSI 2002).

4 Fazit und Empfehlungen

4.1 FAZIT

Seit 1996 sind sowohl die gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohne (Linie 40-2-3) als auch mehrere gentechnisch veränderte Maissorten: Bt176, Mon810, Bt11, T25 in der EU und anderen Staaten (z.B. USA, Kanada, Mexiko, Japan) für Lebensmittelzwecke zugelassen worden. **Jeder Zulassung ging ein Verfahren voraus, in dem die gesundheitliche Unbedenklichkeit von den Behörden festgestellt wurde.** Bereits andere Autoren haben wesentliche Mängel im Zulassungsverfahren von anderen gentechnisch veränderten Organismen (GVOs) aufgezeigt (Mueller et al. 1999, Spök et al. 2002a, Millstone 2002b, Gaugitsch et al. 2003) Im Rahmen dieser Studie wurde der Zulassungsantrag der Sojabohne kritisch untersucht. Darüber hinaus wurde der aktuelle Kenntnisstand zu gesundheitsrelevanten Effekten von GVO (Soja und Mais) recherchiert. Auf der Basis der zusammengetragenen Ergebnisse lassen sich folgende Aussagen treffen:

4.1.1 DIE SICHERHEIT VON GENTECHNISCH VERÄNDERTEN LEBENSMITTELN IST AUF BASIS DER VORLIEGENDEN DATEN NICHT GARANTIERT.

Die Datenlage zur Abschätzung der Lebensmittelsicherheit ist sowohl für die gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohne als auch für gentechnisch veränderten Bt-Mais unzureichend. Wesentliche Informationen, die die Sicherheit des Lebensmittels belegen sollen (z.B. chronische toxikologische Studien), wurden von den Antragstellern im Rahmen des Zulassungsverfahrens nicht vorgelegt und von den Behörden nicht eingefordert. GVO sind sicher, wenn sie nach dem besten Stand des Wissens vollständig geprüft werden und keine offenen Fragen bestehen. Nicht oder nur unzureichend untersuchte GVOs sind im Sinne des Vorsorgeprinzips als nicht sicher einzustufen. Von vielen Politikern, z.B. EU-Kommissar Byrne, wird der fehlende Nachweis eines Risikos mit dem Fehlen eines Risikos gleichgesetzt. Auf Basis dieser Annahme ließe sich beweisen, dass gentechnisch veränderte Lebensmittel umso sicherer sind, je weniger sie untersucht wurden. Für die Roundup-Ready-Sojabohne wurden nur zwei Studien (Malatesta et al. 2002a, Malatesta et al. 2002b) mit einer Versuchsdauer von 240 Tagen gefunden, die dem Anspruch von chronischen toxikologischen Tests (Versuchsdauer 100 bis 700 Tage) annähernd gerecht werden können. Für Bt-Mais konnte lediglich eine Studie mit einer maximalen Dauer von 101 Tagen gefunden werden. Die Mehrzahl der Studien dauerten lediglich 40 bzw. 70 Tage. Nicht alle der publizierten Studien sind als toxikologische Studien zu werten. Vielmehr handelt es sich häufig um Futtermittelwertungsstudien, in denen Leistungsparameter (wie Gewichtszunahme) bei Schweinen, Kühen und Hühnern gemessen wurden. Die geringe Zahl an publizierten toxikologischen Studien über GVOs zeigt deutlich das Ausmaß an „Nicht-Wissen“ bezüglich chronischen Gesundheitsrisiken von GVOs auf.

4.1.2 ERSTE HISTOPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN WEISEN AUF MÖGLICHE GESUNDHEITSRELEVANTE EFFEKTE HIN.

Fütterungsversuche bei Mäusen mit der gesamten Roundup-Ready-Sojabohne wurden über eine Dauer von 8 Monaten durchgeführt. Histopathologische Befunde weisen auf eine Veränderung der Enzymaktivität in der Bauchspeicheldrüse sowie veränderte (kleiner und andere Form) Zellkerne in den Leberzellen der Mäuse erst ab einer Versuchsdauer von 120 Tagen bis zum Ende der Versuchszeit auf (Malatesta et al. 2002a, Malatesta et al. 2002b). Ursache und mögliche Implikationen der veränderten (irreguläre Form und kleinere) Leberzellkerne und der veränderten Enzymaktivität sind bis dato unklar. Dichtgepackte Zellen und vergrößerte Zellkerne weisen auf Vorstadien von Krebszellen hin (Backman et al. 2000). Dies unterstreicht die Notwendigkeit von

Tests die chronische und cancerogene Effekte untersuchen. Für das Bt-Toxin konnte gezeigt werden, dass es nicht, wie bisher angenommen, in wenigen Sekunden bis Minuten im Magen abgebaut wird. Das Toxin ließ sich im gesamten Darmbereich sowie im Kot von Schweinen nachweisen (Chowdhury et al. 2003). Das Bt-Toxin ist in der Lage, an die Epithelzellen der Darmwand zu binden (Vazquez-Padron et al. 2000a) und löst bei Mäusen eine Immunantwort aus (Vazquez-Padron et al. 1999, Vazquez-Padron et al. 2000b).

4.1.3 NÄHRUNGS-DNA/RNA WIRD IN DAS LYMPHSYSTEM UND DIE BLUTBAHN AUFGENOMMEN - BISHER UNBEKANNTE FUNKTION

Bruchstücke von Nahrungs-DNA (GVO Soja, bzw. GVO Mais) sind entgegen den bisherigen Erwartungen in der Lage, den Magen-Darm-Trakt unbeschadet zu überstehen und werden über das Darm-assoziierte-Lymphsystem in die Lymphgefäße und von dort in die Blutbahn und in einzelne Organe von z.B. Mäusen, Kühen, Hühner und Schweinen aufgenommen (Einspanier et al. 2001, Doerfler et al. 2001, Hohlweg und Doerfler 2001, Phipps et al. 2003, Reuter 2003) Selbst in der Milch (Einspanier et al. 2001, Phipps et al. 2003) und im rohen Schweinefleisch (Reuter 2003) konnten Spuren von Nahrungs-DNA nachgewiesen werden. Bei Nematoden konnte gezeigt werden, dass Nahrungs-RNA in der Lage ist Gene stillzulegen (Kamath und Ahringer 2003) Zudem zeigen neuere Erkenntnisse, dass nicht freie nicht-zelluläre RNA an Zellpartikel gebunden, vor Abbau durch Enzyme geschützt ist, und so im Blut (Hasselman et al. 2001, Tsui et al. 2002, Chan et al. 2003, Ng et al. 2003) nachgewiesen werden kann. Diese Befunde weisen darauf hin, dass in der Risikoabschätzung von GVO der bisherige Fokus auf gesundheitliche Wirkungen durch Proteine möglicherweise zu eng gefasst war.

Bisher wurden nur jene Bereiche der DNA als Gene bezeichnet, die für ein Protein codieren. Die Produktion der Proteine erfolgt über ein Zwischenprodukt (RNA), das lange nur als Hilfsbaustein der Zelle ohne eigene Funktion angesehen wurde. Der überwiegende Teil der DNA, der für keine Proteine codiert (nicht codierende DNA) wurde als Müll (junk-DNA) bezeichnet. Dieses Bild hat sich in den letzten Jahren dramatisch gewandelt. Ein großer Teil der nicht codierenden Bereiche der DNA codiert für RNA, ohne dass daraus jemals Proteine entstehen (nicht codierende RNA). Die Bedeutung der RNA dürfte die Bedeutung der Proteine für das Funktionieren eines Organismus übersteigen. Da nicht die Anzahl der (Protein-)Gene (Reis hat ca. 50.000 Gene, der Mensch ca. 30.000 Gene) mit der Komplexität ansteigt, sehr wohl aber der Anteil der nicht codierenden DNA, werden wesentliche regulatorischer Funktionen einem auf RNA basierendem Netzwerk zugeschrieben (Mattick und Gagen 2001). Dies wird auch durch linguistische Analysen unterstützt, die der nicht codierenden DNA Eigenschaften einer Sprache zusprechen (Flam 1994, Havlin et al. 1995, Stanley et al. 1999). Bestätigt wird dies durch erste Funde regulatorische Funktion von kleinen micro RNAs (Epshtein et al. 2003, Sudarsan et al. 2003, Suess et al. 2004) die bis zu 26 Gene regulieren können (Winkler et al. 2003). Der Mensch ist womöglich die sensibelste Art, die auf Störungen im RNA-Netzwerk reagiert, da er im Vergleich zu anderen Arten den höchsten Anteil 98 % an nicht-codierender DNA und nur 2 % codierende Gene hat. Da transgene Pflanzen neue synthetische RNA bilden (ein unbeabsichtigter Nebeneffekt durch pflanzeneigene Umstrukturierungen im Genom nach der Übertragung (Insertion) des synthetischen Gens) (Collonier et al. 2003), sind Effekte möglich, die jenseits des derzeitigen „Denkrahmens“ der Risikoabschätzung liegen. Erste Indizien hierfür könnten die beobachteten in Form und Größe veränderten Zellkerne sein.

4.1.4 INTERNET-BERICHT BEZÜGLICH DIREKTER GESUNDHEITSGEFÄHRDUNGEN DURCH GENTECHNISCH VERÄNDERTE ROUNDUP-READY-SOJABOHNEN SOWIE GENTECHNISCH VERÄNDERTEN MAIS KONNTEN NICHT VERIFIZIERT ABER AUCH NICHT FALSIFIZIERT WERDEN.

Viele Internet-Berichte bezüglich direkter Gesundheitsgefährdungen durch gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohnen sowie gentechnisch veränderten Mais beruhen auf „subjektiver Wahrnehmung“ („anecdotal evidence“), wo eine wissenschaftliche Evaluierung noch nicht stattgefunden hat. In den

meisten Fällen konnte keine wissenschaftliche Literatur gefunden werden, die den Effekt klar widerlegt oder bestätigt. Ebenso konnten die Urheber der Berichte keine wissenschaftlichen Quellen anführen.

4.1.5 CHEMISCHE VERGLEICHENDE INHALTSSTOFFANALYSEN SAGEN NICHTS ÜBER DIE SICHERHEIT EINES GVOs AUS

Die derzeitige Form der Risikoabschätzung von gentechnisch veränderten Pflanzen erfolgt im Wesentlichen nach dem Prinzip der substanziellen Äquivalenz, welches bisher wissenschaftlich nicht validiert worden ist. Dem Prinzip der substanziellen Äquivalenz liegt die ungeprüfte Hypothese zugrunde, dass auf Basis von vergleichenden chemischen Inhaltsstoffanalysen eine vollständige Aussage über das Fehlen oder Vorhandensein von gesundheitlichen Risiken von GVOs getroffen werden kann. Doch Beispiele aus der Medizin zeigen, dass Änderungen in der 3-Dimensionalen Struktur von Proteinen von gentechnisch hergestellten Medikamenten, zu unerkannten gesundheitlichen Risiken führen können. (Jimenez 2003) Trotz vieler Kritik, (Millstone et al. 1999a, Schenkelaars 2002) ist das Prinzip der substantiellen Äquivalenz immer noch wesentlicher Bestandteil der aktuellen Risikoabschätzung (siehe positive Entscheidung zum Genmais NK603 im Dezember 2003 durch die European Food Safety Agency (EFSA) (EFSA 2003). Ein vollständiges Überdenken der Risikoabschätzung von GVO scheint dringend geboten.

Das Gesamtbild ist keineswegs befriedigend. Weder für den Nachweis der Gefährdung noch für den Nachweis der Sicherheit von gentechnisch veränderten Sojabohnen und Mais liegen wissenschaftliche Studien vor. Der Mangel an Studien, die die Sicherheit der Roundup Ready-Sojabohne belegen sollten, ist jedoch bedenklich, da die gentechnisch veränderte Roundup-Ready-Sojabohne und gentechnisch veränderte Maissorten als sicher eingestuft und seit ca. 8 Jahren für den Konsum freigegeben sind und täglich konsumiert werden. Neue Erkenntnisse weisen darauf hin, dass ca. 98 % der Risiken (chronische Risiken und Risiken durch RNA) aus der Risikoabschätzung von GVO bisher ausgeblendet wurden.

4.2 EMPFEHLUNGEN

4.2.1 RASCHE NEUBEWERTUNG DER BISHER ZUGELASSENEN GVOs UND DES PESTIZIDS ROUNDUP

Eine Neubewertung der gentechnisch veränderten Roundup Ready-Sojabohne anhand chronisch-toxikologischer Tests ist dringend geboten. Sollte diese Neubewertung nicht rasch durchgeführt werden, wäre ein vorläufiges Importverbot die logische Konsequenz. Verlässliche Aussagen über die gesundheitliche Unbedenklichkeit der gentechnisch veränderten Roundup-Ready-Sojabohne sind derzeit nicht möglich. Zudem scheint eine Neubewertung des Komplementärherbizids der RR-Sojabohne Roundup notwendig, weil der Anbau von gentechnisch veränderten Roundup resistenten Kulturpflanzen mit einem großflächigen Einsatz von des Herbizids Roundup verbunden ist. Schon jetzt ist Roundup das weltweit am meisten verkaufte Herbizid. Zudem hat Roundup mit 90 % den mit Abstand höchsten Anteil am weltweiten Herbizidmarkt. (Barboza 2003) Neben der erhöhten Umweltbelastung durch Roundup Rückstände in der Umwelt sind auch erhöhte Rückstände auf den Kulturpflanzen und der Lebensmittelkette insgesamt zu erwarten, wie auch die angehobenen Grenzwerte in den USA deutlich zeigen. Weiters gibt es bereits heute eine Reihe von unabhängigen Studien, die zumindest als Indiz für mögliche negative Gesundheitseffekte interpretiert werden müssen (Yousef et al. 1995, Hardell und Eriksson 1999, Marc et al. 2002). Zudem hat Dänemark die Zulassung von Roundup bereits aufgehoben.

4.2.2 VORSCHLAG FÜR EINE VERBESSERUNG DER RISIKOABSCHÄTZUNG VON GVO

Folgende Maßnahmen werden zur Verbesserung der Risikoabschätzung vorgeschlagen:

1. Analyse der Stabilität des Inserts
2. Verpflichtende chronische toxikologische Studien mit der gesamten Pflanze (siehe auch EU-Verordnung 178/2002)
 - Chronische Kanzerogenitätstest für 24 Monate bzw. die gesamte Lebenszeit
 - Reproduktionstoxische Studien über 2 Generationen
 - Neurotoxische Untersuchungen

4.2.3 UNABHÄNGIGE RISIKOFORSCHUNG, NEUZUSAMMENSETZUNG DER EUROPEAN FOOD SAFETY AGENCY

Wissenschaftler der EFSA sind zur Zeit nicht willens strengere Prüfkriterien bei GVOs anzuwenden. Eine Änderung der Zusammensetzung der EFSA scheint aus Sicht der vorliegenden Schwachpunkte des Prüfverfahrens sinnvoll. Zudem ist dringend Risikoforschung vonnöten, die sich mit den bisher unbeantworteten Fragen der Sicherheit von GVO auseinandersetzt. Der Bericht „Late Lessons of Early Warnings“ der European Environment Agency (EEA 2001) zeigt auf, dass Wissenschaftler, die Wirtschaftsinteressen vertreten, geneigt sind, anhand mehrerer methodischer und statistischer Tricks das Ergebnis von Studien wesentlich zu beeinflussen, und deshalb nachteilige Effekte jahrelang „übersehen“ wurden. Unabhängige Risikoforschung, die eine Frühwarnfunktion ausüben soll, kann nur verlässlich von jenen Institutionen durchgeführt werden, die kein Verwertungsinteresse an transgenen Pflanzen und GVOs allgemein haben und in keinem Interessenskonflikt mit den Zielen der Risikoforschung und der sonstigen Forschungstätigkeit stehen.

Folgende Untersuchungen werden als prioritär angesehen:

- Chronische Toxikologische Studien
- Vergleichende Fütterungsversuche (Fruchtbarkeit, Aufzuchterfolg, Regeneration der Muttertiere)
- Untersuchungen zu Wirkungen von RNA/und DNA Bruchstücken
- Untersuchungen freier Nahrungs-RNA im Lymphsystem
- Erforschung von komplett neuen Ansätzen und Methoden z.B. Biophotonen in der Risikoabschätzung

5 Glossar

3'poly A Signal	Ende der mRNA, an dem ein Enzym mehrere Adenylsäurereste (poly A) anhängt
Adenom	Gutartiges Drüsengeschwulst
AMPA	Hauptabbauprodukt von Glyphosat
Anti-Nutritiva	pflanzliche Abwehrstoffe, z.B. Phenole, Phytate und Enzyminhibitoren, die die Verdauung beeinträchtigen
bp	Base-pair; Basenpaare
Bt Toxin	ein für Fraßinsekten giftiges Protein, aus dem Bodenbakterium <i>Bacillus thuringiensis</i> isoliert und auf Pflanzen gentechnisch übertragen. Diese produzieren nun in ihren Zellen den für Fraßinsekten giftigen Wirkstoff. Um eine gentechnisch vermittelte Insektenresistenz zu erzeugen, werden verschiedene Varianten von Bt-Genen übertragen, bei Mais etwa Cry 1Ab, Cry 1Ac und Cry 9c.
CP4 EPSPS	EPSPS aus <i>Agrobacterium</i> sp. Stamm 4
Daidzein	Isoflavon, sekundärer Pflanzenstoff
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ; Darmbakterium, spielt in der gentechnischen Forschung und Praxis eine wichtige Rolle
EFSA	European Food Safety Agency, Europäische Agentur für Lebensmittelsicherheit
ELISA	enzyme-linked-immunosorbent-assay; sehr empfindliches Verfahren zum Nachweis bestimmter Moleküle (Proteine)
EPSPS	5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat-synthase. Aus dem Bodenbakterium <i>Agrobacterium tumefaciens</i> isoliertes Gen, das mittels gentechnischer Methoden auf Pflanzen übertragen wird. Diese Enzym baut das Herbizid Glyphosat ab. Im Gegensatz zu Unkräutern, können transgene Pflanzen mit dem eingebauten EPSPS-Gen eine Glyphosatbehandlung ohne Schaden tolerieren.
Erythropoietin	Blutbildungshormon
Exprimierung	Umsetzung der genetischen Information in Proteine
Glykosylierung	Verknüpfung von Zuckermolekülen mit Proteinen, wichtige Veränderung von Proteinen nach ihrer Synthese
GUS-Gen/Aktivität	Reportergen, das das Enzym β -Glucuronidase codiert; zum Screening der Genaktivität
GV-Linie	Gentechnisch veränderte Linie; Nachkommen einer gentechnisch veränderten Pflanze
HindIII Restriktionsfragment	Teilstück der DNA, das durch ein Restriktionsenzym (HindIII) entstanden ist, das DNA-Moleküle an einer ganz bestimmten Stelle aufschneidet
Insert/Insertion	Einbau eines Stückes Erbmateriale (DNA) oder auch nur einzelner Bausteine in ein Gen
Isoflavon	sekundäre Pflanzenstoffe, z.B. Phytoalexine, Pterocarpane
Isogene Elternlinie	Pflanzen, die zur Erzeugung der GV-Pflanzen verwendet wurden; unterscheiden sich bis auf die gentechnisch übertragenen Gene nicht voneinander
NOS Terminator	Häufig verwendete DNA Sequenz (Nopalin-Synthase-Gen) in transgenen Pflanzen, die die Transkription beendet .
nptII Gen	selektierbares Markergen, codiert die Neomycinphospho-transferase; vermittelt Resistenz gegen Antibiotika zur Selektion eines Pflanzenphänotyps
Phytoalexin	antimikrobiell wirkende Verbindungen, die von Pflanzen nach Infektion durch Mikroorganismen gebildet werden (pflanzliche Abwehr)
Plasmid	ringförmiges DNA-Stück in Bakterien
Pleiotrope Veränderungen	Phänomen, dass ein Gen zwei oder mehrere voneinander unabhängige Merkmale beeinflussen kann.
Promotor	Abschnitt auf der DNA; wirkt als Signal für den Beginn der Ablesung eines Gens
RR-Sojabohne, RR-Soja	Roundup-Ready-Sojabohne; Sojabohne mit gentechnisch vermittelter Resistenz gegen das Totalherbizid „Roundup“ (Wirkstoff Glyphosat)
Segregationsverhältnis	Verhältnis der Aufspaltung von Erbanlagen während der Reifeteilung von

	Zellen. Dieser Vorgang wird in der Pflanzenzüchtung genutzt, um bestimmte Merkmale zu trennen.
Sequenzhomologie	Gleiche Abfolge von Aminosäuren
Totalherbizid	Komplementärherbizid zu Pflanzen mit gentechnisch vermittelter Herbizidtoleranz; „nicht-selektives“ oder „Breitbandherbizid“. Greift an zentralen Stellen des pflanzlichen Stoffwechsels ein und wirkt daher auf eine Vielzahl von Pflanzenarten
Transpeptid	Aminosäureverbindung, die den Übergang des im Cytoplasma gebildeten Enzyms in die Chloroplasten vermittelt
Trypsininhibitoren	Siehe auch: Anti-Nutritiva
Vektor	DNA-Molekül, das den Einbau beliebiger Gene oder Regulatorsequenzen erlaubt, meist Plasmide
Western Blot	Verfahren zum Nachweis von spezifischen Proteinen nach elektrophoretischer Auftrennung

6 Literaturverzeichnis

1. Alink GM, Rijnkels JM, Kuiper HA, Hollanders VM, Woutersen RA (1997) *Carcinogenicity testing of complete human diets in rats*. *Cancer Lett* **114**(1-2): 271-4.
2. Arbuckle TE, Lin Z, Mery LS (2001) An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environ Health Perspect* **109**(8): 851-7.
3. Astwood JD, Hammond BG, Dobert RC, Fuchs RL (2000) Updated molecular characterisation and safety assessment of RR soybean event 40-3-2. Internal Report. Monsanto Company St. Louis, MO .
4. Backman V, Wallace MB, Perelman LT, Arendt JT, Gurjar R, Muller MG, Zhang Q, Zonios G, Kline E, McGilligan JA, Shapshay S, Valdez T, Badizadegan K, Crawford JM, Fitzmaurice M, Kabani S, Levin HS, Seiler M, Dasari RR, Itzkan I, Van Dam J, Feld MS, McGillican T (2000) *Detection of preinvasive cancer cells*. *Nature* **406**(6791): 35-36.
5. Bahnsen U (2002) *Kopierfehler im Bioreaktor*. *Die Zeit* 51/2002 .
6. Barboza D (2003) *Monsanto struggles even as it dominates*. *New York Times* , 31 05 2003 .
7. Baskin LS, Himes K, Colborn T (2001) *Hypospadias and endocrine disruption: is there a connection?* *Environ Health Perspect* **109**(11): 1175-83.
8. Beever D, Phipps RH (2001) *The fate of plant DNA and novel proteins in feeds for farm livestock: A United Kingdom*. *J Anim Sci* **79**(E. Suppl.): E290-E295.
9. Benbrook ChM (2001) *Troubled Times Amid Commercial Success for Roundup Ready Soybeans*. AgBioTechInfoNet Technical Paper Number 4. May 3, 2001. Northwest Science and Environmental Policy Center, Sandpoint Idaho.
10. Brake J, Faust MA, Stein J (2003) Evaluation of transgenic event Bt11 hybrid corn in broiler chickens. *Poult Sci* **82**(4): 551-9.
11. Brake J, Vlachos D (1998) Evaluation of transgenic event 176 "Bt" corn in broiler chickens. *Poult Sci* **77**(5): 648-53.
12. Burks AW, Fuchs RL (1995) Assessment of the endogenous allergens in glyphosate-tolerant and commercial soybean varieties. *J Allergy Clin Immunol* **96**(6 Pt 1): 1008-10.
13. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM (2004) *Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers*. *Proc Natl.Acad Sci U.S.A* **101**(9): 2999-3004.
14. Carlisle SM, Trevors JT (1988) *Glyphosate in the environment*. *Water, Air and Soil Poll.* **39**: 409-420.
15. Carpenter JE (2001) *Case studies in Benefits and Risks of Agricultural Biotechnology: Roundup Ready Soybeans and Bt Field Corn*. National Center for Food and Agricultural Policy, Washington, D.C.
16. Casadevall N (2003) Pure red cell aplasia and anti-erythropoietin antibodies in patients treated with epoetin. *Nephrol.Dial.Transplant.* **18 Suppl 8**: VIII37-VIII41.
17. Chan, A.K. *et al.* Cell-free nucleic acids in plasma, serum and urine: a new tool in molecular diagnosis. *Ann Clin Biochem.* **40**, 122-130 (2003).
18. Chowdhury EH, Kuribara H, Hino A, Sultana P, Mikami O, Shimada N, Guruge KS, Saito M, Nakajima Y (2003) Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *J.Anim Sci.* **81**(10): 2546-2551.
19. Clark JH, Ipharraguerre IR (2001) *Livestock performance: feeding biotech crops*. *J.Dairy Sci.* **84**(E. Suppl.): E9-E18.
20. Clements C, Ralph S, Petras M (1997) Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (comet) assay. *Environ Mol Mutagen* **29**(3): 277-88.
21. Cohen C (2003) *Excerpts from Biogeneric Drugs: Ready Or Not Here they Come*. The science advisory board. <http://www.scienceboard.net/community/perspectives.86.html> .
22. Collonier C, Berthier G, Boyer F, Duplan M, Fernandez S, Kebdani N, Kobilinsky A, Romaniuk M, Bertheau Y (2003) *Characterisation of commercial GMO inserts: A source of useful material to study genome fluidity?* Poster: International Congress for plant molecular biology n° VII, Barcelona 23-28 June 2003.

23. Daenicke R, Gädeken D, Aulrich K (1999) Einsatz von Silomais herkömmlicher Sorten und der gentechnisch veränderten Bt-Hybriden in der Rinderfütterung - Mastrinder. Maiskolloquium.wittenberg, Germany : 40-42.
24. Dallegre E, Mantese FD, Coelho RS, Pereira JD, Dalsenter PR, Langeloh A (2003) *The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats*. Toxicol Lett **142**(1-2): 45-52.
25. Daruich J, Zirulnik F, Gimenez MS (2001) Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. Environ Res **85**(3): 226-31.
26. De Roos AJ, Zahm SH, Cantor KP, Weisenburger DD, Holmes FF, Burmeister LF, Blair A (2003) *Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men*. Occup Environ Med **60**(9): E11.
27. De Schrijver A, Moens W (2003) *Report on the molekular chracterisation of the genetic map of event Bt11*. Scientific Institut of Public Health:Service of Biosafety and Biotechnology IPH/1520/SBB/03-0325 www.biosafety,ihe.be .
28. Diamond E (2001) *The food gamble*. Report of FOE UK on the safety of GM food, edited by Helen .
29. Doerfler W, Hohlweg U, Muller K, Remus R, Heller H, Hertz J (2001a) *Foreign DNA integration--perturbations of the genome--oncogenesis*. Ann N Y Acad Sci **945**: 276-288.
30. Doerfler W, Remus R, Muller K, Heller H, Hohlweg U, Schubert R (2001b) *The fate of foreign DNA in mammalian cells and organisms*. Dev Biol (Basel) **106**: 89-97.
31. Domingo JL (2000) Health risks of GM foods: many opinions but few data. Science **288**(5472): 1748-9.
32. Domingo Roig JL, Gomez Arnaiz M (2000) *[Health risks of genetically modified foods: a literature review]*. Rev Esp Salud Publica **74**(3): 255-61.
33. Donkin SS, Velez JC, Totten AK, Stanisiewski EP, Hartnell GF (2003) Effects of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. J Dairy Sci **86**(5): 1780-8.
34. Duke SO, Rimando AM, Pace PF, Reddy KN, Smeda RJ (2003) Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. J Agric Food Chem **51**(1): 340-4.
35. EEA (2001) *Late lessons from early warnings: the precautionary principle 1896-2000. Environmental issue report No 22*, European Environment Agency (EEA) .
36. EFSA (2003) Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference CE/ES/00/01) for the placing on the market of herbicide-tolerant genetically modified maize NK603, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto. The EFSA Journal **10**: 1-13.
37. Einspanier R, Klotz A, Kraft J, Aulrich K, Schwaegele F, Jahreis G, Flachowsky G (2001) *The fate of forage DNA in farm animals: A collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material*. Eur Food Res Technol **212**: 129-134.
38. El-Demerdash FM, Yousef MI, Elagamy EI (2001) Influence of paraquat, glyphosate, and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro). J Environ Sci Health B **36**(1): 29-42.
39. EPA US (1996) Pesticide Tolerances for Glyphosate 61, Fed. Reg. 15, 192.
40. EPA US (2003) Federal Register, Volume 68, No 117; electronic code of federal regulations, § 180.364 Glyphosate; tolerances for residues, http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/cfrhtml_00/Title_40/40cfr180_00.html.
41. Epshtein V, Mironov AS, Nudler E (2003) *The riboswitch-mediated control of sulfur metabolism in bacteria*. Proc Natl.Acad Sci U.S.A **100**(9): 5052-5056.
42. Fares NH, El-Sayed AK (1998) Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. Nat Toxins **6**(6): 219-33.
43. Flam F (1994) *Hints of a language*. Science **266**(5189): 1320.
44. Folmer JD, Erickson LL, Milton CT, Klopfenstein TJ, Beck JF (2000) *Utilization of Bt corn residue and corn silage for growing beef steers*. J.Anim.Sci. **78**(Suppl. 2): 85 (Abstract).
45. Folmer JD, Grant RJ, Milton CT, Beck J (2002) Utilization of Bt corn residues by grazing beef steers and Bt corn silage and grain by growing beef cattle and lactating dairy cows. J Anim Sci **80**(5): 1352-61.

46. Garry VF, Harkins ME, Erickson LL, Long-Simpson LK, Holland SE, Burroughs BL (2002) Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. *Environ Health Perspect* **110 Suppl 3**: 441-9.
47. Gaugitsch H, Spök A, Hofer H, Lehner P, Kienzl-Plochberger K, Valenta R (2003) *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten*. Roten Reihe des Bundesministeriums für Gesundheit und Frauen - Sektion IV, Band 5/03, ISBN 3-85010-112 .
48. Gertz JM, Venecil WK, Hill NS (1999) *Tolerance of transgenic soybean (Glycine max) to heat stress*. The 1999 Brighton Conference 8C-6, 835-840, The British Crop Protection Council, Farnham, 1999 .
49. Gibbs W (2003) *The unseen Genome: Gems among the junk*. Scientific American **November 2003**: 48-53.
50. Giri A, Lu L (1995) Genetic damage and the inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced genetic damage by the phytoestrogens, genistein and daidzein, in female ICR mice. *Cancer Lett* **95**(1-2): 125-33.
51. Gonzales de Mejia E, Bradford T, Hasler C (2003) *The anticarcinogenic potential of soybean lectin and lunasin*. *Nutr Rev* **61**(7): 239-246.
52. Granby K, Vahl M (2001) Investigation of the herbicide glyphosate and the plant growth regulators chlormequat and mepiquat in cereals produced in Denmark. *Food Addit Contam* **18**(10): 898-905.
53. Halle I, Aulrich K, Flachowsky G (1998) *Einsatz von Maiskörnern der Sorte Cesar und des gentechnisch veränderten Bt-Hybriden in der Broilermast*. Proc.5.Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Wittenberg, Germany : 265.
54. Hammond BG, Vicini JL, Hartnell GF, Naylor MW, Knight CD, Robinson EH, Fuchs RL, Padgett SR (1996) The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. *J Nutr* **126**(3): 717-27.
55. Hardell L, Eriksson M (1999) A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer* **85**(6): 1353-1360.
56. Harrison LA, Bailey MR, Naylor MW, Ream JE, Hammond BG, Nida DL, Burnette BL, Nickson TE, Mitsky TA, Taylor ML, Fuchs RL, Padgett SR (1996) *The expressed protein in glyphosate-tolerant soybean, 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from Agrobacterium sp. strain CP4, is rapidly digested in vitro and is not toxic to acutely gavaged mice*. *J Nutr* **126**(3): 728-40.
57. Haselbeck A (2003) Epoetins: differences and their relevance to immunogenicity. *Curr Med Res Opin* **19**(5): 430-432.
58. Hasselmann DO, Rappl G, Tilgen W, Reinhold U (2001) *Extracellular tyrosinase mRNA within apoptotic bodies is protected from degradation in human serum*. *Clin Chem* **47**(8): 1488-1489.
59. Havlin S, Buldyrev SV, Goldberger AL, Mantegna RN, Peng CK, Simons M, Stanley HE (1995) *Statistical and linguistic features of DNA sequences*. *Fractals*. **3**(2): 269-284.
60. Hendrix KS, Petty AT, Lofgren DL (2000) *Feeding value of whole plant silage and crop residues from Bt or normal corns*. *J.Anim.Sci.* **78 (Suppl. 1)**: 273.
61. Hietanen E, Linnainmaa K, Vainio H (1983) Effects of phenoxyherbicides and glyphosate on the hepatic and intestinal biotransformation activities in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* **53**(2): 103-12.
62. Hirotsune S, Yoshida N, Chen A, Garrett L, Sugiyama F, Takahashi S, Yagami K, Wynshaw-Boris A, Yoshiki A (2003) *An expressed pseudogene regulates the messenger-RNA stability of its homologous coding gene*. *Nature* **423**(6935): 91-96.
63. Hohlweg U, Doerfler W (2001) *On the fate of plant or other foreign genes upon the uptake in food or after intramuscular injection in mice*. *Mol Genet Genomics* **265**(2): 225-233.
64. ILSI (2002) *Safety considerations of DNA in foods*. Novel Food Task Force of the European Branch of the International Life Sciences Institute (ILSI Europe).March 2002 .
65. Jimenez F (2003) *What do our experts tell us about follow-on Biologics?* BIO 2003 Annual Convention, June 22-25 2003, Regulatory Session: The Threat of Generic Biologics: Lessons to Learn from the Implementation of the Hatch-Waxman Act. BIO (Biotechnology Industry Organisation) .
66. Kamath RS, Ahringer J (2003) *Genome-wide RNAi screening in Caenorhabditis elegans*. *Methods* **30**(4): 313-321.

67. Kestin St, Knowles T (2000) An analysis of "the Chicken Study" The effect of Glufosinate Resistant Corn on Growth of Male Broiler Chickens. Joint Proof of Evidence. November 2000. Dept. Clinical Veterinary Science, Univ. of Bristol Bristol .
68. Kim J, Krichevsky A, Grad Y, Hayes GD, Kosik KS, Church GM, Ruvkun G (2004) *Identification of many microRNAs that copurify with polyribosomes in mammalian neurons*. Proc Natl.Acad Sci U.S.A **101**(1): 360-365.
69. King CA, Purcell LC, Vories ED (2001) Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. Agron.J. **93**: 179-186.
70. Krichevsky AM, King KS, Donahue CP, Khrapko K, Kosik KS (2003) *A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development*. RNA **9**(10): 1274-1281.
71. Lankas GR (1981) A lifetime feeding study of glyphosate (Roundup technical) in rats. Unpublished report from Bio/Dynamics, Inc. (project no. 410/77), E. Millstone, NJ, USA. Submitted to WHO by Monsanto Europe S. A., Brussels, Belgium .
72. Lappe MA, Bailey EB, Childress C, Setchell KDR (1999) Alterations in Clinically important Phytoestrogens in genetically modified, herbicide-tolerant soybeans. J.Med.Food **1**(4): 241-245.
73. Liener IE, Goodale RL, Desmukh A, Satterberg TL, Ward G, DiPietro CM, Bankey PE, Borner JW (1988) *Effect of a trypsin inhibitor from soybeans (Bowman-Birk) on the secretory activity of the human pancreas*. Gastroenterology **94**(419-427)
74. Lin N, Garry VF (2000) In vitro studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. J Toxicol Environ Health A **60**(6): 423-39.
75. Lioi MB, Scarfi MR, Santoro A, Barbieri R, Zeni O, Di Berardino D, Ursini MV (1998) *Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures in vitro*. Mutat Res **403**(1-2): 13-20.
76. Lioi MB, Scarfi MR, Santoro A, Barbieri R, Zeni O, Salvemini F, Di Berardino D, Ursini MV (1998) Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed in vitro to glyphosate, vinclozolin, atrazine, and DPX-E9636. Environ Mol Mutagen **32**(1): 39-46.
77. Majeska JB, Matheson DW (1982) Mutagenicity evaluation in mouse lymphoma multiple endpoint test. A forward mutagenicity assay/mutation assay/cytogenetic assay. Farmington: Stauffer Chemical Company.
78. Malatesta M, Caporaloni C, Gavaudan S, Rocchi MB, Serafini S, Tiberi C, Gazzanelli G (2002a) *Ultrastructural morphometrical and immunocytochemical analyses of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean*. Cell Struct Funct **27**(4): 173-80.
79. Malatesta M, Caporaloni C, Rossi L, Battistelli S, Rocchi MB, Tonucci F, Gazzanelli G (2002b) *Ultrastructural analysis of pancreatic acinar cells from mice fed on genetically modified soybean*. J Anat **201**(5): 409-15.
80. Marc J, Mulner-Lorillon O, Boulben S, Hureau D, Durand G, Belle R (2002) *Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/cyclin B activation*. Chem Res Toxicol **15**(3): 326-31.
81. Mattick JS, Gagen MJ (2001) *The Evolution of Controlled Multitasked Gene Networks: The Role of Introns and Other Noncoding RNAs in the Development of Complex Organisms*. Molecular Biology and Evolution **18**(9): 1611-1630.
82. McGuinness EE, Morgan RG, Wormsley KG (1984) *Effects of soybean flour on the pancreas of rats*. Environ Health Perspect **56**: 205-12.
83. McManus MT (2003) *MicroRNAs and cancer*. Semin.Cancer Biol **13**(4): 253-258.
84. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV (1999) *Food-related Illness and Death in the United States*. Emerging Infectious Diseases **5** : 607-25.
85. Millstone E (2002) The limitations and potential utility of substantial equivalence. In: Spök A and Gaugitsch H (Hg.) Evaluating Substantial Equivalence: A step towards improving the risk/safety evaluation of GMOs. pp. Federal Environment Agency - Austria, IFZ, Conference Papers CP-032.
86. Millstone E, Brunner E, Mayer S (1999) *Beyond 'substantial equivalence'*. Nature **401**(6753): 525-526.
87. Millstone,E (2002)b. Evaluating Substantial Equivalence: A step towards improving the risk/safety evaluation of GMOs. Spök,A. & Gaugitsch,H. (eds.) (Federal Environment Agency - Austria, IFZ, Conference Papers CP-032.

88. Mitchell DG, Chapman PM, Long TJ (1987) Acute toxicity of Roundup and Rodeo herbicides to rainbow trout, chinook, and coho salmon. *Bull Environ Contam Toxicol* **39**(6): 1028-35.
89. Monsanto (2002a) DNA Sequences flanking the 3' End of the functional insert of RR soybean event 40-3-2 are identical to DNA sequences from the wild-type soybean lines A5403 and A3244. Monsanto Report No. MSL-17561. <http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/webpage/72699>.
90. Monsanto (2002b) Transcript analysis of the sequence flanking the 3' end of the functional insert in RR soybean event 40-3-2. Monsanto Study 01-01-30-32, MSL 17432. <http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/webpage/72699>. Monsanto Company St. Louis, MO .
91. Moreno-Fierros L, Garcia N, Gutierrez R, Lopez-Revilla R, Vazquez-Padron RI (2000) Intranasal, rectal and intraperitoneal immunization with protoxin Cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* induces compartmentalized serum, intestinal, vaginal and pulmonary immune responses in Balb/c mice. *Microbes Infect* **2**(8): 885-90.
92. Morgan RG, Crass RA, Oates PS (1986) *Dose effects of raw soybean flour on pancreatic growth*. *Adv Exp Med Biol* **199**: 81-9.
93. Mueller,W., Torgersen,H. & Gaugitsch,H. (1999) Risk assessment of transgenic plants - a comparison with pesticide regulation. In *Methods for Risk Assessment of Transgenic Plants III. Ecological risks and prospects of transgenic plants, where do we go from here? A dialogue between biotech industry and science*. Ammann,K., Jacot,Y., Simonsen,V. & Kjellsson,G. (eds.), pp. 175-178 (Birkhäuser Verlag, Basel Boston Berlin).
94. Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ, Stephen AM, Doull J, Flamm WG, Adlercreutz H (2003) *Soy isoflavones: a safety review*. *Nutr Rev* **61**(1): 1-33.
95. Nandula VK, Westwood JH, Foster JG, Foy CL (2001) *Influence of glyphosate on amino acid composition of Egyptian broomrape*. *J Agric Food Chem* **49**(3): 1524-8.
96. Naylor M. (1993) *Acute Oral Toxicity Studie of CP4 EPSPS in Albino Mice*. Monsanto Report ML 92542, St. Louis.
97. Ng EK, Tsui NB, Lau TK, Leung TN, Chiu RW, Panesar NS, Lit LC, Chan KW, Lo YM (2003) *mRNA of placental origin is readily detectable in maternal plasma*. *Proc Natl.Acad Sci U.S.A* **100**(8): 4748-4753.
98. Nobrega MA, Ovcharenko I, Afzal V, Rubin EM (2003) *Scanning human gene deserts for long-range enhancers*. *Science* **302**(5644): 413.
99. Nordström M, Hardell L, Magnuson A, Hagberg H, Rask-Andersen A (1998) Occupational exposures, animal exposure and smoking as risk factors for hairy cell leukaemia evaluated in a case-control-study. *Br.J.Cancer* **77**: 2048-52.
100. Novak WK, Haslberger AG (2000) Substantial equivalence of antinutrients and inherent plant toxins in genetically modified novel foods. *Food Chem Toxicol* **38**(6): 473-83.
101. Novotny E (2002) Non-suitability of genetically engineered feed for animals. A report for the Chardon LL hearing. Scientists for Global Responsibility Folkestone .
102. OECD (2001) *Consensus document on compositional considerations for new varieties of soybean: key food and feed nutrients and anti-nutrients*. OECD Environmental Health and Safety Publications; Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No.2, OECD Environment Directorate **ENV/JM/MONO(2001)15, 30 Nov 2001**: pp 28.
103. Padgette S. R., Waters, S. P., Re D. B., Hammond B. G., Fuchs R. L., Rogers S. G., Harrison L. A., Nida D. L., Naylor M. W., Kolacz K. H., Biest N. A., Ream J. E. (1994) *Application to the United Kingdom Advisory Committee on Novel Foods and Processes for Review of the Safety of Glyphosate Tolerant Soybeans*. provided by the Agricultural Group of Monsanto Company, July 27, 1994
104. Padgette SR, Kolacz KH, Delannay X, Re DB, LaVallee BJ, Tinius CN, Rhodes WK, Otero YI, Barry GF, Eichholtz DA, Peschke VM, Nida DL, Taylor NB, Kishore GM (1995) *Development, Identification and Characterisation of a Glyphosate-Tolerant Soybean Line*. *Crop Sci*. **35**(5): 1451-1461.
105. Padgette SR, Taylor NB, Nida DL, Bailey MR, McDonalds J, Holden LR, Fuchs RL (1996) *Composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans*. *J.of Nutrition* **126**: 702-716.
106. Padgette, S. R., Barry G. F., Re D. B., Weldon M., Eichholtz D. A., Kolacz K. H., Kishore G. M. (1993) *Purification, cloning and characterization of a highly glyphosate-tolerant EPSPS synthase from Agrobacterium sp. strain CP4*. Monsanto Technical Reporte MSL-12738, St. Louis

107. Pavkov KL, Turnier JC (1986) 2-year chronic toxicity and oncogenicity dietary study with SC-0224 in mice. T-11813. Farmington. Stauffer Chemical Company.
108. Peluso M, Munnia A, Bolognesi C, Parodi S (1998) *32P-postlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide Roundup*. Environ Mol Mutagen **31**(1): 55-9.
109. Phipps RH, Deaville ER, Maddison BC (2003) *Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows*. J Dairy Sci **86**(12): 4070-4078.
110. Pryme IF, Lembcke R (2003) In vivo studies on possible health consequences of genetically modified food and feed--with particular regard to ingredients consisting of genetically modified plant materials. Nutr Health **17**(1): 1-8.
111. Puztai A, Bardocz S, Ewen WB (2003) Genetically Modified Foods: Potential Human Health Effects. In: D'Mello: Foodsafety: Contaminants and Toxins. CABI International, pp 347-372.
112. Rackis JJ, Gumbmann MR (1981) Protease inhibitors: physiological properties and nutritional significance. In: Ory RL (Hg.) Antinutrient and Natural Toxicants in Foods. pp. Food and Nutrition Press, Inc., Westport.
113. Rank J, Jensen AG, Skov B, Pedersen LH, Jensen K (1993) Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test. Mutat Res **300**(1): 29-36.
114. Ream J. E., Bailey M. R., Leach J. N., Padgett S. R. (1993) *Assessment of the in vitro digestive fate of CP4 EPSPS Synthase*. Monsanto Study 92-01-30-15. Technical Report MSL 12949, St. Louis.
115. Reuter T (2003) *Vergleichende Untersuchungen zur ernährungsphysiologischen Bewertung von isogenem und transgenem (Bt) Mais und zum Verbleib von "Fremd"-DNA im Gastrointestinaltrakt und in ausgewählten Organen und Geweben des Schweines sowie in einem rohen Fleischerzeugnis*. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Doktor der Ernährungswissenschaften (Dr. troph.) vorgelegt an der Landwirtschaftlichen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg verteidigt am 27.10.2003, <http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/03/03H312/> .
116. Sandermann H, Wellmann E (1998) *Risikobewertung der künstlichen Herbizidresistenz*. Biologische Sicherheit **1**: 285-292.
117. Scacheri PC, Rozenblatt-Rosen O, Caplen NJ, Wolfsberg TG, Umayam L, Lee JC, Hughes CM, Shanmugam KS, Bhattacharjee A, Meyerson M, Collins FS (2004) *Short interfering RNAs can induce unexpected and divergent changes in the levels of untargeted proteins in mammalian cells*. Proc Natl.Acad Sci U.S.A **101**(7): 1892-1897.
118. Schenkelaars (2001) GM food crops and application of substantial equivalence in the European Union. Commissioned by the Dutch Foundation on "Consumer & Biotechnologie". Schenkelaars Biotechnology Consultancy The Netherlands .
119. Schenkelaars,P. (2002) Rethinking substantial equivalence. *Nat. Biotechnol.* **20**, 119).
120. Schubbert R, Hohlweg U, Renz D, Doerfler W (1998) *On the fate of orally ingested foreign DNA in mice: chromosomal association and placental transmission to the fetus*. Mol Gen Genet **259**(6): 569-76.
121. Schubbert R, Hohlweg U, Renz D, Doerfler W (1998) *On the fate of orally ingested foreign DNA in mice: chromosomal association and placental transmission to the fetus*. Mol Gen.Genet **259**(6): 569-576.
122. Schubbert R, Renz D, Schmitz B, Doerfler W (1997) *Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA*. Proc Natl.Acad Sci U.S.A **94**(3): 961-966
123. SCP (1998) Guidance document to facilitate notifiers in the preparation of plant GMO dossiers for consideration by de Scientific Committee on Plants (SCP/GMO/103-final), opinion expressed on 18 Dec 1998.
124. Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, Moss E, Dmitrovsky E, Ambros V (2004) *Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation*. Genome Biol **5**(3): R13.
125. Smith JC, Wilson FD, Allen PV, Berry DL (1989) Hypertrophy and hyperplasia of the rat pancreas produced by short-term dietary administration of soya-derived protein and soybean trypsin inhibitor. J.Appl.Toxicol. **9**(3): 175-9.

126. Spök A, Hofer H, Valenta R, Kienzl-Plochberger K, Lehner P, Gaugitsch H (2002) *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten*. UBA Monographien, Band 109 Wien .
127. Stanley HE, Buldyrev SV, Goldberger AL, Havlin S, Peng CK, Simons M (1999) *Scaling features of noncoding DNA*. *Physica A* **273**(1-2): 1-18.
128. Su SJ, Yeh TM, Lei HY, Chow NH (2000) The potential of soybean foods as a chemoprevention approach for human urinary tract cancer. *Clin Cancer Res* **6**(1): 230-6.
129. Sudarsan N, Wickiser JK, Nakamura S, Ebert MS, Breaker RR (2003) *An mRNA structure in bacteria that controls gene expression by binding lysine*. *Genes Dev.* **17**(21): 2688-2697.
130. Sudarsan,N. *et al.* An mRNA structure in bacteria that controls gene expression by binding lysine. *Genes Dev.* **17**, 2688-2697 (2003).
131. Suess B, Fink B, Berens C, Stentz R, Hillen W (2004) *A theophylline responsive riboswitch based on helix slipping controls gene expression in vivo*. *Nucleic Acids Research* **32**(4): 1610-1614.
132. Szarek J, Siwicki A, Andrzejewska A, Terech-Majewska E, Banaszkiwicz T (2000) *Effects of the herbicide Roundup on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (Cyprinus carpio)*. *Mar Environ Res* **50**(1-5): 263-6.
133. Taft R, Mattick J (2003) *Increasing biological complexity is positively correlated with the relative genome-wide expansion of non-protein-coding DNA sequences*. *Genome Biology* **5**(1): 1.
134. Taylor ML, Hartnell GF, Riordan SG, Nemeth MA, Karunanandaa K, George B, Astwood JD (2003a) Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from roundup ready (NK603), yieldgard x roundup ready (MON810 x NK603), non-transgenic control, or commercial corn. *Poult Sci* **82**(3): 443-53.
135. Taylor ML, Hartnell GF, Riordan SG, Nemeth MA, Karunanandaa K, George B, Astwood JD (2003b) Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from YieldGard (MON810), YieldGard x Roundup Ready (GA21), nontransgenic control, or commercial corn. *Poult Sci* **82**(5): 823-30.
136. Taylor NB, Fuchs RL, MacDonald J, Shariff AR, Padgett SR (1999) *Compositional analysis of glyphosate-tolerant soybeans treated with glyphosate*. *Agricult.Food Chem.* **47**(4469-4473)
137. Tsui NB, Ng EK, Lo YM (2002) *Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma*. *Clin Chem* **48**(10): 1647-1653.
138. UBA (2002) Evaluating substantial equivalence. A step towards improving the risk/safety evaluation of GMOs. Conference papers, Vol. 32. Vienna .
139. Vazquez-Padron RI, Gonzales-Cabrera J, Garcia-Tovar C, Neri-Bazan L, Lopez-Revilla R, Hernandez M, Moreno-Fierro L, de la Riva GA (2000) *Cry1Ac protoxin from Bacillus thuringiensis sp. kurstaki HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine*. *Biochem Biophys Res Commun* **271**(1): 54-8.
140. Vazquez-Padron RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, de la Riva GA, Lopez-Revilla R (1999) Intra-gastric and intraperitoneal administration of Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* induces systemic and mucosal antibody responses in mice. *Life Sci* **64**(21): 1897-912.
141. Vazquez-Padron RI, Moreno-Fierros L, Neri-Bazan L, Martinez-Gil AF, de-la-Riva GA, Lopez-Revilla R (2000) Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz J Med Biol Res* **33**(2): 147-55.
142. Velimirov A, Plochberger K, Huspeka U, Schott W (1992) *The Influence of Biologically and Conventionally Cultivated Food on the Fertility of Rats*. *Biological Agriculture and Horticulture* **8**: 325-337.
143. Vigfusson NV, Vyse ER (1980) The effect of the pesticides, Dexon, Captan and Roundup, on sister-chromatid exchanges in human lymphocytes in vitro. *Mutat Res* **79**(1): 53-7.
144. Walker R (2000) Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Topic 6: Safety Testing of Food Additives and Contaminants and the Long Term Evaluation of Foods Produced by Biotechnology, 29 May-2 June 2000, Geneva. FAO & WHO Geneva .
145. Walsh LP, McCormick C, Martin C, Stocco DM (2000) Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* **108**(8): 769-76.
146. Waterland RA, Jirtle RL (2003) *Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation*. *Mol Cell Biol* **23**(15): 5293-5300.
147. WHO (2003) *Glyphosate and its Metabolite AMPA*. www.who.int/docstore/water_sanitation_health/GDWQ/draftchemicals/glyphosate2003.pdf

148. WHO/FAO (1986) Pesticide residues in food. Evaluations 1986. Part I. Residues. Sponsored jointly by FAO and WHO with the support of the International Programme on Chemical Safety (IPCS). Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues Rome, 29 Sept - 8 Oct 1986 .
149. WHO/FAO (1986a) Pesticide residues in food. Evaluations 1986. Part II. Toxicology. Sponsored jointly by FAO and WHO with the support of the International Programme on Chemical Safety (IPCS).
150. WHO/FAO (1996b) WHO/FAO Data Sheets on Pesticides. No 91. Glyphosate. WHO/PCS/DS/96.91. November 1996.
151. WHO/IPCS (1994) *Environmental Health Criteria 159. Glyphosate*. WHO, International Programme on Chemical Safety. Geneva .
152. Williams GM, Kroes R, Munro IC (2000) Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regul Toxicol Pharmacol* **31**(2 Pt 1): 117-65.
153. Wilson A, Latham J, Steinbrecher R (2003) *Transgenic Crop Plants: Transformation, Unintended Genome Alteration and Risk*. Preliminary Report December 2003, EcoNexus UK .
154. Windels P, Taverniers I, Depicker A, Bockstaele Ev, Loose Md (2001) *Characterisation of the Roundup Ready soybean insert*. *Eur Food Res Technol* **213**: 107-112.
155. Winkler WC, Nahvi A, Sudarsan N, Barrick JE, Breaker RR (2003) *An mRNA structure that controls gene expression by binding S-adenosylmethionine*. *Nat Struct.Biol* **10**(9): 701-707.
156. Yousef,M.I. *et al*. Toxic effects of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits. *J Environ Sci Health B* **30**, 513-34 (1995).

7 Anhang

Tabelle A 1. Toxizitätsstudien mit RR-Soja

Hammond et al. 1996	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Toxin	Testdauer	Replikation	Statistik
Beobachtete Effekte:	Fütterungsversuch 2 GV- Linien, 1 Elternlinie, 1 Kontrolldiät	Ratten (8 Wochen alt) 10 Ratten pro Gruppe (männl., weibl.)	Verarbeitetes Soja (entfettet, geröstet) 24,8% w/w (=24,8g/100g)	1 Monat	keine	ANOVA, Dunnetts multiple comparison test, je nach Normalverteilung Dunnett's test bzw. Lineare Regression oder nonparametrische Tests
Beobachtete Effekte:	w.o.	Gemahlenes Soja (nicht verarbeitetes) 5 und 10g/100 g Diät*	w.o.	w.o.	w.o.	w.o.
Beobachtete Effekte:	2 GV Linien 1 Elternlinie	Masthühner (frisch geschlupfte Kücken, 5 pro Gruppe)	verarbeitetes Soja 32,8-33,8g/100g Starterdiät 26,6-24,7g/100 g Wachstumsdiät	6 Wochen	12 pro Geschlecht	ANOVA (3x2x3 Faktorielle Analyse)
Beobachtete Effekte:	2 GV Linien 1 Elternlinie	Holstein Kühe (6 pro Gruppe)	Gemahlenes Soja (nicht verarbeitetes) 10,2g/100g TG	1 Monat (Vorversuch 14 Tage)	2	ANOVA
Beobachtete Effekte:	2 GV Linien 1 Elternlinie	Weise <i>Ictalurus punctatus</i> (ca. 3g/Individuum), 20 Fische/Tank, insg. 300	Verarbeitetes Soja(mehl) 45-47g/100g Diät	10 Wochen	5	ANOVA, Duncan's multiple range test

Harrison et al. 1996	Versuchsdesign	Akuter Toxizitätstest (einmalige Verabreichung per Magensonde)	Testobjekt	Mäuse (10 Ind./Dosis und Geschlecht, je 10 Kontrollind./ Geschlecht für Buffer und BSA Kontrolle)	Getestetes Toxin	CP4 EPSPS 49, 154, 572 mg/kg bw*d	Testdauer	8-9 Tage	Replikation	keine	Statistik	ANOVA, Dunnett's multiple comparison test für Körpergewichte, Konsumation Parametrische bzw. non-parametrische Tests für Endgewichte
	Beobachtete Effekte:	Keine Effekte in Körpergewicht, Gewichtszuwachs, Konsumation. Geringe pathologische Effekte bei weiblichen Mäusen (keine Daten angeführt).										
Malatesta et al. 2002a	Versuchsdesign	Ultrastruktur- und biochemische Analyse des Pankreas bei Fütterung einer Standarddiät mit 14% RR-Soja	Testobjekt	Mäuse (je 12 pro Gruppe)	Getestetes Toxin	CP4 EPSPS	Testdauer	1, 2, 5, 8 Monate	Replikation	12	Statistik	ANOVA (2-way), Least significant Difference Test, Mann-Whitney U-Test
	Beobachtete Effekte:	Traubenförmige Zellen des Pankreas: Proenzym Körnchengröße signifikant kleiner in RR-Soja gefütterten Mäusen Nahrungs-Alter-Interaktionen bei Zellkerngröße, Kern-Plasma-Relation, Proenzymgröße, Proenzymanteil im Plasma Alpha-Amylase Mengen im Pankreas signifikant geringer in 2-, 5- und 8 Monate alten Mäusen										
Malatesta et al. 2002b	Versuchsdesign	Morphometrische, biochemische und Immunocyto-chemische Analysen der Leber bei Fütterung einer Standarddiät mit 14% RR-Soja	Testobjekt	Mäuse (je 12 pro Gruppe), Fütterung ab Entwöhnung vom Muttertier	Getestetes Toxin	CP4 EPSPS	Testdauer	1, 2, 5, 8 Monate	Replikation	12	Statistik	ANOVA
	Beobachtete Effekte:	Ultrastrukturelle Veränderungen (irreguläre Form, weniger kompakte Zellkerne) der Leberzellkerne von 2, 5 und 8 Monate alten RR-Soja gefütterten Mäusen Morphometrische Veränderungen (kleinere Zellkerne, geringeres Kern-Plasma-Verhältnis in 8 Monate alten Mäusen, größerer Formindex, unterschiedliche Nukleoluskomponenten, höhere Zellkernporosität) Immunocytochemische Veränderungen (mehr Spleißfaktoren im Zellkern)										

*nur ein Teil des Sojabohnenmehls wurde durch RR-Soja ersetzt *

Tabelle A 2. Analyse der inhaltsstofflichen Zusammensetzung von RR-Soja

Pagdetta et al. 1996	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestete Parameter	Replikation	Statistik
Beobachtete Effekte:	2 separate Verarbeitungsexperimente	Entfettete, geröstete Sojabohnen	Protein, Öl, Fasern, Asche, Kohlehydrate, Feuchte und Energiewert	9 bzw. 4	Two-way ANOVA, pairwise t-test
		2 GV Linien	9 (1992) bzw. 4 (1993) US-Anbauflächen Einzeltests von Einzelproben		
Beobachtete Effekte:	1992: Signifikant erhöhter Fett- und Aschegehalte; 1992: erhöhter Anteil einer Fettsäure (22:0)	1 Eltermilinie	signifikant geringerer Kohlenhydratgehalt als Kontrolle		
		Zusammengesetzte Probe aus 8 US Anbauflächen (small scale) und 1 US Anbaufläche (large scale)			
Beobachtete Effekte:	2 separate Verarbeitungsexperimente	Entfettete, geröstete Sojabohnen	weniger Feuchte, erhöhter Kohlenhydratgehalt der Linie 40-3-2 (im Vergleich zur 2. GV Linie und zur Kontrolle, Tabelle 7)	Keine*	kein Mittelwert, kein SE Einzeltests von Einzelproben*
		2 GV Linien			
Beobachtete Effekte:	Nur 1 Verarbeitungsexperiment (small scale)	1 Eltermilinie	tendenziell höhere freie Daizideingehalte der Linie 40-3-2 im „small scale“ Versuch, höhere gebundene Daizideinwerte der Linie 40-3-2 im „large scale“ Versuch (Tabelle 8)	keine	kein Mittelwert, kein SE Einzeltests von Einzelproben
		1 Probe aus 8 US Anbauflächen			
Beobachtete Effekte:	Nur 1992 Verarbeitungsexperiment	2 GV Linien	Doppelt so hoher Feuchteanteil, ca. zwei Drittel geringerer Fettgehalt, 26,7% mehr Trypsin-Inhibitoren im entfetteten Sojabohnenmehl der GV Linie 40-3-2 im Vergleich zur Kontrolle (Tabelle 9)	keine	Keine Angabe Einzeltests von Einzelproben
		1 Eltermilinie			
Beobachtete Effekte:	P-Cholingehalt um rund ein Drittel in der GV Linie 40-3-2 verringert (Tabelle 11)				

Taylor et al. 1999	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestete Parameter	Replikation	Statistik
	Analyse der Zusammensetzung der Sojabohnen (Glyphosat-Effekt)	Rohe Sojabohnen 1 GV Linie 1 Elternlinie (siehe Padgett et al. 1996)	Isolflavone; Anbau an 4 Standorten Vorlaufapplikation von Roundup 17,8l/ha, 2,34l/ha im frühen und im späten Nachlauf (Blütenknospenstadium) keine Herbizidanwendung in Kontrollfeldern	keine	GLM Prozedur, t-Test Einzelproben pro Standort
Beobachtete Effekte:	keine statistisch signifikanten Unterschiede in den Isolflavon- und Aminosäurewerten zwischen RR-Sojabohnen und Kontrolle				
Lappe et al. 1999	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestete Parameter	Replikation	Statistik
	Analyse der Zusammensetzung der Sojabohnen	Rohe Sojabohnen 2 versch. kommerzielle Varietäten H5545, H4994 GV und isogene Linie (gleiche Anbaubed.)	Isolflavone	3 (für H5545) 4 bzw. 5 (für H4994)	Paired t-Test F-statistics
Beobachtete Effekte:	In 12 von 21 Analysen zeigte RR-Soja signifikante Reduktion an Genistin, Daidzin und Glycitin; in 2 Analysen signifikant höhere Daidzinwerte in RR-Soja Gesamtkonzentration an Genistin signifikant reduziert in RR-Soja in beiden Varietäten (Daidzin und Glycitin tendenziell reduziert, aber n. s.)				
Duke et al. 2003	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestete Parameter	Replikation	Statistik
	Analyse der Zusammensetzung der Sojabohnen	Rohe Sojabohnen 2 unterschiedliche Kultivare (DPF5806 und Asgrow 3701) 2 Standorte, unterschiedliche Herbizidapplikation	Isolflavone, Shikimat, Glyphosat- und AMPA-Rückstände auf Sojabohnen	4	ANOVA, GLM, least significant difference Test, Fisher's LSD
Beobachtete Effekte:	Sign. erhöhter Daidzinlevel auf einem Standort (Glyphosat Anwendung 3 und 6 Wochen nach Aussaat) Sign. erhöhte Glyphosat- und AMPA-Rückstände auf beiden Standorten, wenn Glyphosat 8 Wochen nach der Aussaat (in Blüte) angewendet wurde.				

*gemäß britischem Zulassungsantrag wurden in diesem Fall 3 Verarbeitungsstudien durchgeführt und die Ergebnisse als MW und ranges angegeben

Tabelle A 3. Inhaltsstoffe der RR-Sojabohne, deren Werte außerhalb der angeführten Literaturwerte liegen (Padgett et al. 1996). Fett markierte Werte zeigen an, ob die gemessenen Werte unter- oder überhalb der Literaturwerte liegen.

Parameter	Linie	Gemessener Wert	Schwankungsbreite Literatur
Rohe Sojabohnen (Mittelwerte, Tabellen 2,3, 4 und 6)			
Faser (1992)	Kontrolle	7,13	4,7 – 6,48
Faser (1992)	GV 40-3-2	6,87	4,7 – 6,48
Faser (1992)	GV 61-67-1	7,08	4,7 – 6,48
Kohlehydrate (1992)	Kontrolle	38,1	30,9 – 34,0
Kohlehydrate (1992)	GV 40-3-2	37,1	30,9 – 34,0
Kohlehydrate (1992)	GV 61-67-1	37,5	30,9 – 34,0
Feuchtigkeit (1993)	Kontrolle	6,12	7 – 11
Feuchtigkeit (1993)	GV 40-3-2	6,34	7 – 11
Faser (1993)	Kontrolle	6,71	4,7 - 6,48
Faser (1993)	GV 40-3-2	6,63	4,7 - 6,48
Glycin	Kontrolle	1,72	1,88 – 2,02
Glycin	GV 40-3-2	1,67	1,88 – 2,02
Glycin	GV 61-67-1	1,69	1,88 – 2,02
Tryptophan	Kontrolle	0,59	0,53 – 0,54
Tryptophan	GV 40-3-2	0,59	0,53 – 0,54
Tryptophan	GV 61-67-1	0,58	0,53 – 0,54
18:1 cis Fettsäure (Ölsäure)	Kontrolle	19,72	20 - 50
18:1 cis Fettsäure (Ölsäure)	GV 40-3-2	19,74	20 - 50
18:1 cis Fettsäure (Ölsäure)	GV 61-67-1	19,81	20 – 50
Totales Daidzein	Kontrolle	734	330,6 - 706
Totales Daidzein	GV 40-3-2	721	330,6 - 706
Totales Daidzein	GV 61-67-1	748	330,6 – 706
Geröstete Sojabohnen (Einzelmessungen, Tabellen 7 und 8)			
Asche (small scale)	Kontrolle	6,58	5,5 – 6,5
Asche (small scale)	GV 40-3-2	6,93	5,5 – 6,5
Asche (small scale)	GV 61-67-1	6,69	5,5 – 6,5
Asche (large scale)	Kontrolle	6,83	5,5 – 6,5
Asche (large scale)	GV 40-3-2	6,69	5,5 – 6,5
Asche (large scale)	GV 61-67-1	6,74	5,5 – 6,5
Kohlehydrate (large scale)	Kontrolle	38,3	32,0 – 38,0
Kohlehydrate (large scale)	GV 40-3-2	40,0	32,0 – 38,0
Kohlehydrate (large scale)	GV 61-67-1	38,7	32,0 – 38,0
Stacchyose (small scale)	Kontrolle	5,67	4,0 – 5,3
Stacchyose (small scale)	GV 40-3-2	5,61	4,0 – 5,3
Stacchyose (small scale)	GV 61-67-1	6,00	4,0 – 5,3
Stacchyose (large scale)	Kontrolle	6,00	4,0 – 5,3
Stacchyose (large scale)	GV 40-3-2	5,52	4,0 – 5,3
Stacchyose (large scale)	GV 61-67-1	6,65	4,0 – 5,3
Raffinose (smale scale)	Kontrolle	0,96	1,0 – 2,0
Raffinose (large scale)	Kontrolle	0,90	1,0 – 2,0
Raffinose (large scale)	GV 40-3-2	0,94	1,0 – 2,0
Urease (small scale)	Kontrolle	0,03	0,05 – 0,20
Urease (small scale)	GV 40-3-2	0,04	0,05 – 0,20
Urease (small scale)	GV 61-67-1	0,01	0,05 – 0,20
Urease (large scale)	GV 40-3-2	0,09	0,05 – 0,20
Urease (large scale)	GV 61-67-1	0,01	0,05 – 0,20
Trypsininhibitor (small scale)	Kontrolle	3,4	3,8 – 17,9
Trypsininhibitor (small scale)	GV 40-3-2	3,3	3,8 – 17,9
Trypsininhibitor (small scale)	GV 61-67-1	3,4	3,8 – 17,9
Trypsininhibitor (large scale)	Kontrolle	2,6	3,8 – 17,9
Trypsininhibitor (large scale)	GV 40-3-2	2,6	3,8 – 17,9
Trypsininhibitor (large scale)	GV 61-67-1	2,1	3,8 – 17,9

Daizdein total (small scale)	Kontrolle	837	200 – 625,4
Daizdein total (small scale)	GV 40-3-2	856	200 – 625,4
Daizdein total (small scale)	GV 61-67-1	850	200 – 625,4
Daizdein total (large scale)	Kontrolle	1250	200 – 625,4
Daizdein total (large scale)	GV 40-3-2	1310	200 – 625,4
Daizdein total (large scale)	GV 61-67-1	1300	200 – 625,4
Nicht geröstete Sojabohnen (Einzelmessungen, Tabelle 9)			
Asche (entfettetes Mehl)	Kontrolle	6,53	6,0 – 6,4
Asche (entfettetes Mehl)	GV 40-3-2	6,89	6,0 – 6,4
Asche (entfettetes Mehl)	GV 61-67-1	6,65	6,0 – 6,4
Fett (entfettetes Mehl)	Kontrolle	2,3	0,9 – 1,0
Fett ((entfettetes Mehl)	GV 40-3-2	0,73	0,9 – 1,0
Fett (entfettetes Mehl)	GV 61-67-1	2,13	0,9 – 1,0
KH ((entfettetes Mehl)	GV 40-3-2	38,8	34,0 – 38,0
KH (entfettetes Mehl)	GV 61-67-1	38,4	34,0 – 38,0
Protein (Proteinisolat)	Kontrolle	84,6	85,2 – 92,0
Protein (Proteinisolat)	GV 40-3-2	82,2	85,2 – 92,0
Kohlehydrate (Proteinisolat)	Kontrolle	11,0	0,3 – 0,6
Kohlehydrate (Proteinisolat)	GV 40-3-2	12,2	0,3 – 0,6
Kohlehydrate (Proteinisolat)	GV 61-67-1	7,5	0,3 – 0,6
Fett (Proteinkonzentrat)	Kontrolle	5,27	0,9 – 2,0
Fett (Proteinkonzentrat)	GV 40-3-2	4,47	0,9 – 2,0

Tabelle A 4. Vorgeschlagene (OECD 2001) und untersuchte Parameter der Inhaltsstoffzusammensetzung von RR-Soja, das für den menschlichen Konsum bestimmt ist

Parameter		Untersucht Brit. Antrag	Untersucht Padgette et al. 1996	Gefordert (OECD 2001)
Rohe Sojabohnen:	Proximatanalyse			
	Feuchte		X	X
	Protein	X	X	X
	Fett	X	X	X
	Faser	X	X	X*
	Asche	X	X	X
	Kohlehydrate	X	X	X
	Aminosäurenanalyse			
	Alanin	X	X	
	Arginin	X	X	X
	Asparaginsäure	X	X	
	Cystein	X	X	X
	Glutaminsäure	X	X	
	Glycin	X	X	
	Histidin	X	X	X
	Isoleucin	X	X	X
	Leucin	X	X	X
	Lysin	X	X	X
	Methionin	X	X	X
	Phenylalanin	X	X	X
	Prolin	X	X	
	Serin	X	X	
	Threonin	X	X	X
	Tryptophan	X	X	X
	Tyrosin	X	X	
	Valin	X	X	X
	Fettsäurenanalyse			
	6:0		X	
	Palmitinsäure C16:0	X	X	X
	C17:0		X	
	Stearinsäure C18:0	X	X	X
	Oleinsäure C18:1	X	X	X
	Linolsäure C18:2	X	X	X
	Leinölsäure C18:3	X	X	X
	Arachidinsäure C20:0		X	X
	C20:1		X	
	C22:0		X	
	C24:0		X	
	Anti-Nutritiva/Isoflavone			
	Trypsininhibitoren	X	X	X
	Lektine	X	X	X
	Phytinsäure			X
	Genistein	X	X	X
	Daidzein	X	X	X
	Glycitein			X
	Biochanin	X	X	
	Coumestrol	X	X	X
Sojabohnenöl	Fettsäuren			
	C6:0		X	
	C7:0		X	
	Palmitinsäure C16:0		X	X

	C17:0		x	
	Stearinsäure C18:0		x	x
Sojabohnenöl	Fettsäuren			
	Oleinsäure C18:1		x	x
	Linolsäure C18:2		x	x
	Leinölsäure C18:3		x	x
	C19:0		x	
	Arachidinsäure C20:0		x	x
	C20:1		x	
	C22:0		x	
	C24:0		x	
	Proteinanalyse		x	
Sojaproteinisolat	Aminosäuren			
	Arginin			x
	Cystin			x
	Histidin			x
	Isoleucin			x
	Leucin			x
	Lysin			x
	Methionin			x
	Phenylalanin			x
	Threonin			x
	Tryptophan			x
	Valin			x
	Proximatanalyse		x	
	Sojaprotein-konzentrat	Proximatanalyse		x
Entfettetes Sojamehl	Proximatanalyse		x	
	Trypsininhibitoren		x	
Soja-Lecithin	Phosphatide		x	X

*Neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF)

Tabelle A 5. Vorgeschlagene (OECD 2001) und untersuchte Parameter der Inhaltsstoffzusammensetzung von RR-Soja, das zur Verfütterung bestimmt ist

Parameter		Untersucht Brit. Antrag	Untersucht Padgette et al. 1996	Gefordert (OECD 2001)
Rohe Sojabohnen (wie oben)	Proximatanalyse			
	Aminosäuren	x	x	x
	Fettsäuren	x	x	x
	Phytinsäure/Phytat	x	x	x
	Trypsininhibitoren	x	x	x
	Isoflavone	x	x	x
	Lektine	x	x	x
Geröstetes Sojamehl	Proximatanalyse			
	Feuchte		x	x
	Rohprotein		x	x
	Fett		x	x
	Asche		x	x
	Faser		x	x
	Kohlehydrate (nitrogen free extract NFE)		x	x
	Aminosäuren			x
	Anti-Nutrients/Isoflavone			
	Stachyose	x	x	
	Raffinose	x	x	
	Phytat/Phytinsäure	x	x	x
	Trypsininhibitoren	x	x	x
	Lektine	x	x	
	Genistein	x	x	
	Daidzein	x	x	
	Glycitein			
	Coumestrol	?	x	
	Biochanin	?	x	
	Sojahüllen/Grün/ Heu	Proximatanalyse		

Tabelle A 6. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Kurzzeitstudien (aus WHO/IPCS 1994, WHO 1996, WHO 2003)

	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
BioDynamics Inc. 1979	Kurzzeit-Fütterungsversuch	Je 15 Mäuse pro Gruppe	Technisches Glyphosat; 0, 0,5, 1 und 5% (5000, 10 000 and 50 000 mg/kg diet)	13 Wochen	keine	?
			Bei 5%: Wachstumsverlangsamung, höheres Gewicht von Gehirn, Herz, Nieren Bei 1% und 5%: höhere Lebergewichte Keine histopathologischen Effekte			
Monsanto 1987	Kurzzeit-Fütterungsversuch	Ratten (wieviele?)	Technisches Glyphosat; 0, 1, 0,5, 2% 1000, 5000 or 20 000 mg/kg diet	13 Wochen	?	?
Beobachtete Effekte:	Keine					
NTP (US National Toxicology Program) 1992	Kurzzeit-Fütterungsversuch	Nager (Mäuse und Ratten) (wieviele?)	Technisches Glyphosat; 0, 3125, 6250, 12500, 25000, 50000 mg/kg Futtermittel	13 Wochen	?	?
Beobachtete Effekte:	<p>Bei 50 000mg/kg: reduzierter Gewichtszuwachs (Mäuse)</p> <p>Bei 6250 mg/kg: dosisabhängige Läsionen der Ohrspeicheldrüse (Mäuse)</p> <p>Bei 25 000 mg/kg: reduzierter Gewichtszuwachs (männliche Ratten)</p> <p>Bei 50 000 mg/kg: reduzierter Gewichtszuwachs (Ratten)</p> <p>Bei > 12 500 mg/kg: leichter Anstieg von Hämatokriten und roten Blutkörperchen (männl. Ratten)</p> <p>Bei > 6250 mg/kg und 12 500 mg/kg: Anstieg von Alkaliphosphatase, Alanin-Aminotransferase (Ratten)</p> <p>Bei 25 000 und 50 000 mg/kg: Anstieg der Gallensäure im Blut (Ratten)</p> <p>Bei > 25 000 mg/kg: Abnahme der Spermien (Ratten)</p> <p>Histologische Effekte: dosis-abhängige (bereits ab 3125 mg/kg) zytoplasmatische Veränderungen der Ohrspeichel- und Speicheldrüsen von Ratten (basophile Veränderungen und Hypertrophie von azinösen Zellen)</p> <p>Zytoplasmatische Veränderungen der Ohrspeicheldrüse bei 6250 mg/kg; Speicheldrüsen bei 50 000 mg/kg (Mäuse)</p>					
Monsanto 1985	Fütterungsversuch	Hunde (je 6 pro Gruppe)	Technisches Glyphosat; 0, 20, 100, 500 mg/kg Körpergewicht	52 Wochen	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 100 und 500 mg/kg: erhöhtes Organgewicht der Hirnanhangdrüse					
USDA 1987	Fütterungsversuch	Kühe	Technisches Glyphosat; 400, 500, 630 or 790 mg Roundup/kg Körpergewicht und Tag	7 Tage	?	?
Beobachtete Effekte:	<p>Bei 790 mg/kg: 1/3 der Tiere starben</p> <p>Bei 630 and 790 mg/kg: geringere Nahrungsaufnahme</p> <p>Bei 500, 630 and 790 mg/kg: Durchfall</p>					

Tabelle A 7. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Langzeitstudien (aus WHO/IPCS 1994, WHO 1996, WHO 2003)

	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
Bio/Dynamics Inc. 1983	Fütterungsversuch	Mäuse (je 50 pro Gruppe)	Technisches Glyphosat; 0, 0.1, 0.5, 3% in der Diät (0, 1000, 5000 bzw. 30 000 mg/kg Diät)	24 Monate	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 3%: verringertes Körpergewicht (männl. Mäuse), Leberzellenthytrophie (incidences: 9/49, 5/50, 3/50 und 17/50) und –nekrose (incidences: 0/49, 2/50, 2/50 and 10/50) Bei 0.5 und 3%: epitheliale Hyperplasie der Blase (männl. Mäuse) (incidences: 3/49, 3/50, 10/50 and 8/50).					
Lankas (Bio/Dynamics Inc.) 1981a	Fütterungsversuch	Ratten (je 50 pro Gruppe)	Technisches Glyphosat; 0, 3, 10, 32 mg/kg Körpergewicht pro Tag (0, 60, 200 and 600 mg/kg Diät)	26 Monate	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 32 mg/kg: leichte Wachstumsverzögerung (männl. Ratten) Bei 32 mg/kg: Wachstumsverzögerung testikuläre Zellumore erhöht (statistisch signifikant) (incidences: 0/50, 3/50, 1/50 and 6/50; historical control range: 3-7%)					
Monsanto 1990a	Fütterungsversuch	Ratten (je 60 pro Gruppe)	Technisches Glyphosat; 0, 100, 410, 1060 mg/kg Körpergewicht pro Tag (2000, 8000 or 20 000 mg/kg Diät)	24 Monate	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 1060 mg/kg: Wachstumsverzögerung bei weiblichen Ratten, Anstieg von degenerativen Linsenveränderungen sowie Anstieg in Lebergewichten bei männlichen Ratten Histopathologie: Anstieg von Entzündung der Magenschleimhaut bei mittlerer und hoher Dosis (incidences Männchen: 2/58, 3/58, 5/59 and 7/59; Weibchen: 0/59, 3/60, 9/60, and 6/59; historical range: 0-13.3%). Statistisch signifikanter Anstieg der Häufigkeit von Drüsengeschwulsten (Adenomas) in Bauchspeicheldrüsen von männlichen Ratten bei geringen und hohen Dosen (incidences: 1/58, 8/57, 5/60 and 7/59; historical control range of test laboratory 1.8-8.5%)					

Tabelle A 8. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Reproduktive oder Entwicklungstoxizität (Teratogenität) (aus WHO/IPCS 1994, WHO 1996, WHO 2003)

	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
IRDc 1980b	Fütterungsversuch	Ratten (wieviele?)	Technisches Glyphosat; 0, 300, 1000, 3500 mg/kg Körpergewicht pro Tag	Am Tag 6-19 während der Tragezeit	?	?
Beobachtete Effekte:	Effekte nur bei der höchsten Dosis auf den Embryo nachgewiesen (Mortalität 6/25, Resorptionen, Wachstumsverzögerungen, Föten mit reduzierter Ossifikation der Wirbel etc.)					
IRDc 1980c	Fütterungsversuch (Verabreichung mit Magenschlauch)	Kaninchen (je 16 pro Gruppe)	Technisches Glyphosat; 0, 75, 175, 350 mg/kg Körpergewicht pro Tag	Am Tag 6-27 während der Tragezeit	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 175 und 350 mg/kg: 2 bzw. 10 Muttertiere starben (Ursache unbekannt)					
Schroeder (Bio/Dynamics Inc.) 1981b	Fütterungsversuch, Multigenerationsstudie (3 Generationen)	Ratten (wieviele?)	Technisches Glyphosat; 0, 3, 10, 30 mg/kg Körpergewicht pro Tag	60 Tage	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 30 mg/kg: vermehrtes Auftreten von Nierentubuserweiterungen in der 3. Generation von männlichen Jungtieren (der Effekt wurde bei bei mittlerer Dosis und bei früheren Nachkommen nicht untersucht) (incidence 6/10 versus 0/10 in controls, not determined in intermediate groups, earlier litters not examined).					
Monsanto 1990c	Fütterungsversuch, Multigenerationsstudie (2 Generationen)	Ratten (wieviele?)	Technisches Glyphosat; 0, 100, 500 and 1500 mg/kg Körpergewicht pro Tag	?	?	?
Beobachtete Effekte:	Bei 500 und 1500 mg/kg: geringeres Körpergewicht der Elterntiere, leicht verringerte Größe und Gewicht der Jungtiere Keine histopathologischen Effekte bei Nieren					

Tabelle A 9. Studien zur Toxizität von Glyphosat: Mutagenitätstests (aus WHO/IPCS 1994)

Verschiedene Autoren	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
Monsanto 1978c Monsanto 1983b, f IET 1978 Benova et al. 1989 IRDG 1980a Gopalan & Njagi 1981	Mutagenitätstest Ames-Test Rec Assay Reverse mutation assay Forward mutation assay Zytogenetische Studien Mikronucleus Test Dominant lethal Test Rezessiver sex-linked lethal Test DNA repair assay	Salmonella typhimurium S. typhimurium Bacillus subtilis E. coli <i>CHO Zellen</i> Rattenknochenmark Erythrozyten (Mäuse) Maus <i>Drosophila melanogaster</i> Hepatozyten (Ratten)	Technisches Glyphosat (98,4%) Versch. Konzentrationen			
Beobachtete Effekte:	Keine Effekte					

In additional studies it was demonstrated that: (1) glyphosate produced no effect on viability and mitotic index of bone marrow cells of rats after i.p. doses of 200-1000 mg/kg body weight (Monsanto, 1983g); and (2) after giving 14C-labelled glyphosat i.p. significant concentrations of 14C reached the bone marrow (peak levels reached after 0.5 h remaining virtually constant up to 10 h after dosing) (Monsanto, 1983h).

Tabelle A 10. Unabhängige Studien zur Toxizität von Glyphosat oder Glyphosat-hältigen Herbizidformulierungen

Yousef et al/ 1995	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Fütterungsversuch (orale Verabreichung des Herbizids in Gelatinkapsel)	geschlechtsreife männliche Kaninchen (8 Monate alt) 4 Ind/Gruppe	Glyphosat, geringe (1/100 LD ₅₀) und hohe (1/10 LD ₅₀) Dosis (keine genaue Angabe der Dosierung)	6 Wochen (je für Eingewöhnung, Behandlung, follow-up)	Keine	General linear model
Beobachtete Effekte:	Reduziertes Körpergewicht, reduzierte Libido, Ejakulatvolumen, verringerte Spermakonzentration, vermehrte Spermaabnormalitäten,					
Hardell & Eriksson 1999	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Retrospektive Populationsanalyse mit 404 Fällen von NHL (741 Kontrollen)	Männliche Patienten in Schweden mit NHL (diagnostiziert 1987-1990)	Glyphosat-Formulierungen in Herbiziden			Uni- und multivariate Methoden (konditionale logistische Regression für Odds-Ratio OR)
Beobachtete Effekte:	Herbizidexposition erhöht das Risiko von NHL. Die Autoren schließen ein Risiko für Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) bei Glyphosat-Exposition nicht aus, obwohl die untersuchte Gruppe in der Studie sehr klein war (4 Fälle, 3 Kontrollen, OR=2,3 mit Konfidenzintervall 0,4-13, bei multivariater Auswertung OR=5,8, CI 0,6-54).					
Marc et al. 2002	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Zellteilungsaktivität (CDK1/Zyclin B Aktivität)	Frühe embryonale Zellen von <i>Sphaerechinus granularis</i> (Seeigel) jeweils 100 Zellen	Glyphosat und Roundup (Konzentration 0-1%)	Bis 240 Minuten nach Fertilisation	n. a.	n. a.
Beobachtete Effekte:	Roundup: Dosiseffekt bei der Verzögerung der 1. Zellteilung. (Zellteilungsstopp bei >1% Roundup), Verzögerung der M-Pphase, Inhibierung der Proteinsynthese von CDK1/Zyclin B					
Arbuckle et al. 2001	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Retrospektive Populationsanalyse von spontanen Aborten	Landwirte in Ontario	Glyphosat-Formulierungen in Herbiziden			logistische Regression für Odds-Ratio OR
Beobachtete Effekte:	Exposition von Glyphosat erhöht das Risiko von spontanen späten Aborten (12-19 Woche; OR=1,7, C. I.=1,0-2,9 für präkonzeptive Exposition, OR=1,4, C. I.=0,8-2,5 für postkonzeptive Exposition)					
Garry et al. 2002	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Retrospektive Populationsanalyse von Geburtsdefekten (Querschnittstudie)	Landwirte in Ontario	Glyphosat-Formulierungen in Herbiziden			logistische Regression für Odds-Ratio OR

Beobachtete Effekte:	von 14 Pestiziden zeigt die Exposition von Glyphosat (und Phosphin) signifikante Korrelation mit neurologischer Entwicklungsstörungen bei Kindern (6 von 14 Kindern, OR=3,6, C.I.=1,35-9,65)					
Lin & Garry 2000	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Östrogen induzierter Proliferationstest	MCF-7 Zellen	Glyphosate (40% w/w) Roundup (kommerzielle Formulierung) versch. Hilfsstoffe jeweils 3 Konzentrationen	7 Tage (Prolif.test)	2	Lineare Regression, ANOVA, Scheffe's Mittelwertvergleich
Beobachtete Effekte:	Glyphosat und Roundup induzieren Zellwachstum (maximale Induktion sign. Unterschiedlich von Kontrolle (135% für Glyphosat, 126% für Roundup), Konzentration, die Zellwachstum induziert: 0,228-2,28µg/ml Glyphosat, 1-10µg/ml Roundup)					
Szarek et al. 2000	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Toxizitätstest von Roundup	Leberzellen von Karpen (<i>Cyprinus carpio</i>) 12 Fische/Gruppe	Roundup (kommerzielle Formulierung), 0,05% und 0,1% Lösung (40-20fach geringer als Standardanwendung in Gewässern)	0,5 bzw. 1 Stunde Exposition	2	Student's t-Test für Mortalität
Beobachtete Effekte:	Die getesteten Konzentrationen waren für alle Fische tödlich (sign.). Makroskopisch keine morphologischen Läsionen. Myelin-ähnliche Strukturen im Zytoplasma, vergrößerte Mitochondrien, Cristae reduziert, z.t. fehlende externe Mitochondrienmembran, vergrößerte Golgi-Komplexe, vergrößerte ER-Kanäle, verminderte Glykogenmengen in Leberzellen					
Lioi et al. 1998	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	SCE-Test (sister chromatid exchange) Chromosomale Abweichungen (CA) G6PD Enzymversuch	Bovine Lymphozyten	Glyphosat 17, 85 und 170 µM, (Vinclozolin, DPX-E9636)	72 Stunden (CA, SCE) 6 Stunden (G6PD)	3	Two-tailed paired Student's t-Test
Beobachtete Effekte:	CA-Test: signifikanter dosis-abhängiger Anstieg im Prozentsatz von abweichenden Zellen und Abweichungsfrequenz (Chromatidenbrüche), eine sign. Reduktion des Mitotischen Index SCE-Test: dosis-abhängiger Trend von Zellwachstum, dosis-abh. Anstieg der SCEs pro Zelle (leichte Reduktion bei höchster Konzentration) G6PD-Test: sign. Reduktion der Enzymaktivität					
Walsh et al. 2000	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	Test auf Effekt auf die Steroidhormonsynthese	Maus MA-10 Leydigzellen	Roundup (180g/l)	2-4 Stunden Inkubation je nach Test	Unterschiedl.	ANOVA, Fisher's LSD multiple comparison

Beobachtete Effekte:	Roundup senkt Progesteronproduktion (dosisabhängig) (keine gleichzeitige Hemmung der Proteinsynthese, daher keine akute zelluläre Toxizität) nicht jedoch Glyphosat! Roundup reduziert STAR Proteinlevels signifikant mittels Unterbrechung die STAR-Proteinexpression post-transkriptionell Das steroid -genische akut regulatorische Protein STAR ist ein regulatorischer Faktor der Steroidgenese in den Gonaden, aber auch in den Nebennierendrüsen – Störung der STAR Proteinexpression könnte auch Kohlenhydratmetabolismus, Immunsystemfunktion und Wasserbilanz beeinträchtigen.					
Rank et al. 1993	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Herbizid	Testdauer	Replikation	Statistik
	1. Knochenmark-Micronukleustest 2. Salmonella Mutagenitätstest 3. Allium Anaphase-Telophasetest	Maus (7-10 pro Gruppe) Salmonella typhimurium (2 Stämme) Allium cepa Wurzelzellen	Roundup (480g/l), Glyphosat 100, 150, 200 mg/kg KG Glyphosat 133 und 200 mg/kg KG Roundup (beide Test 1) 180, 360, 720, 1081, 1440µg Roundup/Platte (Test 2) 720, 1440, 2880µg Glyphosat/ (Test 3)	24 bzw. 48 h (Test 1) 24 h (Test 3)	3 (Test 2) 6 (Test 3)	Chi-Quadrat Test Student's t-Test
Beobachtete Effekte:	Test 1. sign. Abnahme an polychromatischen Erythrozyten bei höchster Konzentration von Roundup Test 2. sign. Höherer Anzahl an Revertanten/Platte bei 360 und 720µg (nicht bei höherer Konz) bei einem Stamm (Roundup) Test 3. sign. Höherer Anteil chromosomaler Abweichungen bei mittlerer und höchster Dosis (Roundup) – bei mittlerer Dosis gleich wie Positivkontrolle (MMS), aber nicht definierte Abweichungen „other aberrations“ – leichte Spindelstörungen					

n.a. = nicht anwendbar

Tabella A 11. Effekte von Bt-Mais in Fütterungsstudien bzw. Toxizitätstests

	Versuchsdesign	Testobjekt	Getestetes Toxin	Testdauer	Replikation	Statistik
Brake & Viachos 1998	Fütterungsversuch: Futterbrei oder Pellets, ca. 60% Maisanteil	40 Masthühner pro Gruppe (männl., weibl.)	Bt176	38 Tage für Gewicht,	4	General Linear Model ANOVA
				41 Tage für Fleischentrag		
Beobachtete Effekte:	Futterverwertungseffizienz bei Bt-Mais gefütterten Hühnern signifikant höher ist als bei der Kontrollgruppe (nach 28 und 38 Tagen) sowie der prozentuale Anteil an Brustmuskel (Pectoralis minor) und Brusthaut					
Brake et al. 2003	Fütterungsversuch: 48-67% Maisanteil	25 Masthühner pro Gruppe (männl., weibl.)	Bt11	42 Tage	8	General Linear Model (GLM) ANOVA
Beobachtete Effekte:	Jene Masthühner, die mit der konventionellen Maissorte gefüttert wurden, wiesen ein signifikant geringeres Körpergewicht und eine schlechtere Nahrungsverwertungseffizienz auf. Ein signifikanter Effekt von Geschlecht x Maishybrid zeigte sich in der kumulierten Mortalität 0-35 Tage.					
Halle et al. 1998	Fütterungsversuch: 50% Mais im Futler	12 männliche Masthühner pro Gruppe	Bt? (konventionelle Maissorte Cesar)	35 Tage	keine?	Keine Angabe
Beobachtete Effekte:	keine					
Daenicke et al. 1999	Fütterungsversuch: Maissilage	20 Holstein Bullen pro Gruppe	?	?	Keine?	Keine Angabe
Beobachtete Effekte:	keine					
Folmer et al. 2000	Fütterungsversuch mit Maisresten, Gewichtszuwachs	8-9 Stiere pro Gruppe	Bt11	70 Tage	3	k. A.
		8 Stiere pro Gruppe	Bt11	Keine Angabe		k. A.
		64 Stiere pro Gruppe	Bt11	101 Tage	0	k. A.
		Höhere Trockengewichtsaufnahme beim Nahrungsaufnahmeversuch von Stieren, die mit Bt-Maissilage gefüttert wurden				
Beobachtete Effekte:	Täglicher Gewichtszuwachs höher bei Stieren, die mit Bt-Mais gefüttert wurden					
	Nahrungsverwertungseffizienz schlechter bei Stieren, die mit Bt-Mais gefüttert wurden					
Folmer et al. 2002	Fütterungsversuch: 40% Maissilage	12 Holstein Kühe pro Gruppe	Cry1Ab (Bt 11)	21 Tage, davon die	Je eine früh- bzw. späteifende Sorte (Bt, nicht Bt)	ANOVA 4x4 Latin Square Test
				letzten 7 Tage für Probenahme		
Beobachtete Effekte:	signifikanter Unterschied bei fettkorrigierten Milchwerten pro Trockengewichtsaufnahme					

Beobachtete Effekte:	MON 810: Brustgewicht signifikant höher als das der Kontrollgruppe						
Taylor et al. 2003b	Trommelgewicht signifikant geringer als das einer mit kommerziellem Mais gefütterten Gruppe						
Beobachtete Effekte:	Fütterungsversuch	10 Masthühner pro Gruppe	Cry1Ab, EPSPS (RR, MON810xRR)	43 Tage (männl.) 44 Tage (weibl.)	5		ANOVA
	Maiskörner - Hühnerfutter (55-60% Mais)	(männl., weibl.)					
Beobachtete Effekte:	RR Mais: Nahrungsverwertungseffizienz besser als die von konventionell gefütterten Hühnern	Fettgewichtanteil geringer als jener der Kontrollgruppe und der konventionell gefütterten Hühner (weibliche Masthühner)					
	Hüftleischfeuchtigkeit geringer als jener konventionell gefütterter Hühner	Höheres Hüftleischgewicht weiblicher Masthühner					
Folmer et al. 2002	MON810xRR: geringerer Brustproteinanteil als Kontrolle						
	Fütterungsversuch	8 bzw. 9 junge Maisreste (nur spätreifende Sorte)	Cry1Ab (Bt 11)	70 Tage	3 (je 3 Bt und 3 nicht-Bt)		Least square means, F-test
Beobachtete Effekte:	Die <i>in vitro</i> Verdaubarkeit des Trockengewichts von Bt-Mais-Resten (Körner, Blätter, Stängel und Hüllblätter) war signifikant geringer (Tabelle 11).						
	Fraßpräferenz Maisreste (nur Stängel)	16 junge Stiere pro Gruppe	Cry1Ab (Bt 11)	70 Tage	50		GLM Model, f-test für least square mean
Beobachtete Effekte:	keine						
Folmer et al. 2002	Fütterungsversuch: 90% Maissilage	8 Stiere pro Gruppe	Cry1Ab (Bt 11)	101 Tage	4		2x2 faktorielles Design
	Beobachtete Effekte:	Höhere Trockengewichtsaufnahme von Bt-Mais (beide Sorten: früh- und spätreifend) Durchschnittlicher täglicher Gewichtszuwachs höher bei frühreifendem Bt-Mais. Geringeres Körpergewicht, geringere täglicher Gewichtszuwachs und schlechtere Nahrungsverwertungseffizienz bei Fütterung von spätreifendem Bt-Mais.					
Hendrix et al. 2000	Fütterungsversuch mit Maisilage	56 Stiere pro Gruppe	k. A.	87 Tage	2 (aufeinanderfolgende Jahre)		k. A.
	Beobachtete Effekte:	Bessere Nahrungsverwertungseffizienz bei Stieren, die nicht-Bt-Maisilage gefüttert wurden					
Taylor et al. 2003a	Fütterungsversuch mit Maiskörner - Hühnerfutter (55-60% Mais)	10 Masthühner pro Gruppe (männl., weibl.)	Cry1Ab, EPSPS (MON810, MON810xRR)	42 Tage	5		ANOVA
Vazquez-Padron et al. 1999	Verabreichung des cry-Anitgens (Vergleich mit Cholera Toxin)	5 weibliche Mäuse pro Gruppe	Cry1Ac Protoxin kristallin bzw. löslich (3 Dosen)	täglich 3 Wochen lang	12		MW±Stabw, Mann-Whitney Test, Newman-Keuls Test der Antikörper-mengen

Beobachtete Effekte:	a) intraperitoneal	Beide Formen induzierten eine systemische Antikörper-Reaktion; im Dünndarm auch spezifische IgG Antikörper				
	b) intragastrisch	Nur lösliches Toxin induzierte eine mukose Reaktion; kristalline Form induzierte eine systemische, aber keine lokale IgA Antikörper-Reaktion				
Vazquez-Padron et al. 2000	bakterienisoliertes cry-Protoxin wird In-situ dem Gewebe beigegeben und mit Antikörpern inkubiert	Dünndarm (Leerdarm) von Labormäusen	Cry1Ac Protoxin	2 h	-	-
Beobachtete Effekte:	Protoxin bindet an die apikale Oberfläche des Dünndarmepithels					
	Elektrophysiologische Messungen (Potenzialdifferenz u. a.)	Dünndarm von Labormäusen	Cry1Ac Protoxin	16 min	-	-
Beobachtete Effekte:	Protoxin induziert eine temporäre Hyperpolarisation ohne sichtbare Schädigung des Gewebes					
	Membranvesikelqualität: Messung der Phosphatase und β -Glucoronidaseaktivitäten sowie Proteinkonzentration	w.o.	Cry1Ac Protoxin	-	-	-
Beobachtete Effekte:	Nachweis von sechs cry1Ac-bindenden Proteinen					
Fares & El-Sayed 1998	Fütterungsstudie mit Kartoffeln (mit δ -Endotoxin besprüht versus transgene Kartoffel)	5 Mäuse (1 Monat alt) pro Gruppe	Cry1 Genauere Angabe fehlt!	täglich 2 Wochen lang	keine	Morphometrische Analysen: paired students t-test
	Beobachtete Effekte:	Darmschleimhaut des unteren Teils des Dünndarms zeigt ultrastrukturelle Veränderungen: - Mitochondrien mit Anzeichen von Degeneration und gestörte/unterbrochene kurze Microvilli - Enterozyten hatten erweiterte Mitochondrien mit kurzen Fortsätzen. Die Basallamina wird als „relativ intakt“ beschrieben (s 227) - Morphologie der Darmzellen signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe				