

Auswirkungen des Anbaus gentechnisch veränderter Pflanzen auf Umwelt und Gesundheit: Potentielle Schäden und Monitoring



Elisabeth Marquard

Walter Durka



UFZ-Umweltforschungszentrum
Leipzig-Halle
in der Helmholtz-Gemeinschaft

Auswirkungen des Anbaus gentechnisch veränderter

Pflanzen auf Umwelt und Gesundheit:

Potentielle Schäden und Monitoring

Bericht erstellt im Auftrag des
Sächsischen Staatsministeriums für Umwelt und Landwirtschaft (SMUL)

Autoren:

Elisabeth Marquard
Dr. Walter Durka

UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH
Department Biozönoseforschung
Theodor-Lieser-Str. 4
06110 Halle
email: Walter.Durka@ufz.de

Mit Beiträgen von:

Gabriele Weiß, Fa. Ecostrat (Kapitel 7)

Nadine K. Rühr (Kapitel 6.8)

Sophie Bundtzen (Kapitel 5.4; 5.6.4)

Bildautoren Titelseite: Norma Neuheiser, Sabine Geißler-Strobel, UFZ Leipzig-Halle

Inhalt

1	Einleitung	1
2	Vorgehensweise	3

TEIL I Grundlagen

3	Der Schadensbegriff in der ökologischen Sicherheitsforschung.....	5
3.1	Schadensdefinitionen	5
3.2	Identifizierung von Schutzgütern	5
3.3	Bestimmung von Referenzpunkten und Schwellenwerten.....	7
3.4	Operationalisierbarkeit	7
3.5	Spezialfall Gentechnik	10
3.6	Zwischenfazit Schadensbegriff	11
4	Gesetzliche Rahmenbedingungen	12
4.1	Hintergründe zur gegenwärtigen Situation in der EU	12
4.2	EU-Gesetzgebung	12
4.3	Gesetzgebung in Deutschland	14
4.4	Antragsstellung	14
4.4.1	Freisetzung	15
4.4.2	Inverkehrbringen	16
4.5	Monitoring laut Richtlinie 2001/18/EG	19
5	Herstellung und Anwendung von GVP	22
5.1	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -vermittelter Gen-Transfer	22
5.2	Chloroplasten-Transformation	25
5.3	Akkumulation von mehreren Transgenen („Gene Stacking“)	26
5.4	Molekularbiologische Sicherheits-Techniken	26
5.4.1	Markergen-Entfernung	27
5.4.2	Vermeidung von „Rückgrat-DNA“	29
5.4.3	Induzierbare oder gewebespezifische Promotoren	29
5.5	Transgene Pflanzen mit „Input-Eigenschaften“	30
5.5.1	Herbizidresistente Pflanzen	30
5.5.2	Insektizidexprimierende Pflanzen	32
5.5.3	Krankheitsresistente Pflanzen	36
5.5.4	Stresstolerante Pflanzen	37
5.6	Transgene Pflanzen mit „Output-Eigenschaften“	38
5.6.1	Novel Food	39
5.6.2	Pflanzen zur Produktion von Pharmazeutika („Gene Pharming“)	39
5.6.3	Weitere transgene Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen	40
5.6.4	Pflanzen zur Phytoremediation	41

TEIL II Risiken, Fallstudien, Überwachung

6	Potentielle Schäden	49
6.1	Genfluss, Hybridisierung, Introgression und Verbreitung von Transgenen ...	49
6.1.1	Übersicht	49
6.1.2	Ausbreitung von Genen und Transgenen	51
6.1.3	Hybridisierung und Introgression	60
6.1.4	Ökologische und evolutionäre Folgen von Introgression in Wildarten ...	70
6.1.5	Zwischenfazit Genfluss/Hybridisierung	71
6.2	Schäden durch den Anbau von herbizidresistenten Pflanzen	73
6.2.1	Evolution und Verbreitung herbizidresistenter Unkräuter	73
6.2.2	Schäden durch eine veränderte Bewirtschaftungsweise	78
6.2.3	Zwischenfazit herbizidresistente Pflanzen	80
6.3	<i>Bt</i> -Resistenzen bei Zielorganismen	81

6.3.1	Entstehung von von <i>Bt</i> -resistenten Schädlingen	81
6.3.2	Präventionsstrategien	83
6.3.3	Zwischenfazit <i>Bt</i> -Resistenzen bei Zielorganismen	87
6.4	Negative Effekte auf Nicht-Zielorganismen	88
6.4.1	Bestäuber	89
6.4.2	Natürliche Feinde von Feldfrucht-Schädlingen	92
6.4.3	Bodenorganismen (ohne Mikroorganismen).....	94
6.4.4	Zwischenfazit Nicht-Zielorganismen (ohne Mikroorganismen).....	95
6.4.5	Mikroorganismen	97
6.4.6	Zwischenfazit Mikroorganismen.....	98
6.5	Horizontaler Gentransfer.....	100
6.5.1	Pflanzen-assoziierte Bakterien	103
6.5.2	HGT in Darmbakterien.....	105
6.5.3	Transfer von genetischem Material zu eukaryotischen Zellen.....	107
6.5.4	Methodische Schwierigkeiten	107
6.5.5	Schlussfolgerungen und Zwischenfazit HGT	108
6.6	Spezielle Risiken virusresistenter (VR-) Pflanzen	109
6.7	Spezielle Risiken beim ‚Gene-Pharming‘	111
6.7.1	Zwischenfazit ‚Gene Pharming‘	114
6.8	Gesundheitsrisiken	115
6.8.1	Sicherheitsbewertung transgener Lebens- und Futtermittel.....	115
6.8.2	Allergenität.....	117
6.8.3	Toxizität	119
6.8.4	Nährstoffe.....	119
6.8.5	Fallbeispiele zu Gesundheitsrisiken.....	120
6.8.6	Kritik an der Sicherheitsbewertung von GVO	121
6.9	Unbeabsichtigte Effekte	123
7	GVO-Monitoring.....	126
7.1	Akteure	126
7.1.1	Antragsteller / Betreiber	126
7.1.2	Bundesbehörden	126
7.2	Fachliche Konzepte der wichtigsten Akteure.....	129
7.2.1	BfN –Konzept zum GVO-Monitoring der Umweltwirkungen	129
7.2.2	BBA – Konzept zum Monitoring im Agrarökosystem	144
7.3	Praktische Erfahrungen mit GVO-Monitoringkonzepten	152
7.4	Organisation des Monitorings	153
7.4.1	Aufgabenverteilung.....	153
7.5	Fazit Monitoring.....	154
7.6	Offene Fragen.....	155
 <u>TEIL III Schlußfolgerungen</u>		
8	Schlussfolgerungen	158
Literatur		159
Index		185
APPENDIX		189

Verzeichnis der Abkürzungen

BBA:	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
BC:	Rückkreuzung (backcross)
BDF:	Boden-Dauerbeobachtungsflächen
BfN:	Bundesamt für Naturschutz
BLAG:	Bund/Länder Arbeitsgruppe
BMU:	Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
BMELV:	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
BMVEL:	Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft
BNatSchG:	Bundesnaturschutzgesetz
BSA:	Bundessortenamt
<i>Bt:</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
BUND:	Bund für Natur- und Umweltschutz Deutschland
BVL:	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CaMV:	Cauliflower Mosaic Virus
Cry:	kristallines Protein (crystal protein)
DNA:	= DNS, Desoxyribonukleinsäure
EFSA:	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority)
EPSP:	5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphatsynthase
EU:	Europäische Union
F1:	erste Tochtergeneration
FAO:	Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (Food and Agriculture Organization)
FLI:	Friedrich-Löffler-Institut
F&E:	Forschung und Entwicklung
GenTG:	Gentechnikgesetz
GenTBeobV:	Gentechnik-Beobachtungsverordnung
GenTNeuordG:	Gesetz zur Neuordnung des Gentechnikrechts
GFP:	green fluorescent protein
GNA:	<i>Galanthus nivalis</i> Agglutinin
GVO:	Gentechnisch veränderter Organismus
GVP:	Gentechnisch veränderte Pflanze
GV-:	gentechnisch verändert
HDR-Strategie:	Hohe Dosis/Refugiums-Strategie
HGT:	Horizontaler Gentransfer
HR-:	herbizidresistent
IE-:	insektizidexprimierend
IFBC:	Internationales Lebensmittel Biotechnologie Konsortium (International Food Biotechnology Consortium)
IgE:	Immunglobulin der Klasse E
ILSI:	Internationales Institut der Lebenswissenschaften (International Life Sciences Institute)
IR:	insektenresistent
ISMO:	Informationssystem zum GVO-Monitoring
KH-:	kohlenhydratmodifiziert
mRNA:	Boten-Ribonukleinsäure (messenger RNA)
NABU:	Naturschutzbund Deutschland e.V.
NRW:	Nordrhein-Westfalen

OECD:	Organisation für Wirtschaftliche Entwicklung und Zusammenarbeit (Organisation for Economic Co-operation and Development)
ÖFS:	Ökologische Flächenstichprobe
ORI:	Replikationsursprung (origin of replication)
PCR:	Polymerase Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction)
PMF:	Pollenmassenfilter
RAPD:	Random Amplified Polymorphic DNA
RIPs:	Ribosomeninhibierende Proteine
RKI:	Robert Koch-Institut
sIgA:	sekretorisches Immunglobulin A
SAP:	Wissenschaftliches Beratungsgremium in den USA (Scientific Advisory Panel)
SRU:	Rat der Sachverständigen für Umweltfragen
T-DNA:	Transfer-DNA
UBA:	Umweltbundesamt
UNEP:	Umweltprogramm der Vereinten Nationen (United Nations Environment Programme)
USDA:	Landwirtschaftsministerium der USA (United States Department of Agriculture)
US EPA:	Umweltbehörde der USA (United States Environmental Protection Agency)
US FDA:	Gesundheitsbehörde der USA (United States Food and Drug Administration)
UVP:	Umweltverträglichkeitsprüfung
VDI:	Verein Deutscher Ingenieure
VR-:	virusresistent
WHO:	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)
ZKBS:	Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1: Schematische Darstellung des Zulassungsverfahrens für die Freisetzung von GVO nach der Richtlinie 2001/18/EG	15
Abb. 2: Schematische Darstellung des Zulassungsverfahrens für ein Inverkehrbringen von GVO nach der Richtlinie 2001/18/EG	17
Abb. 3: Schematische Darstellung des Zulassungsverfahrens für ein Inverkehrbringen von GVO nach der Verordnung 1829/2003/EG.....	19
Abb. 4: Ausschneidens eines Markergens mittels ortsspezifischer Rekombinasen.	28
Abb. 5: Möglichkeiten zur Entfernung von Markergenen durch Transposasen.	28
Abb. 6: Schematische Übersicht der Enzyme, die in der Biosynthese von Amylopektin und Amylose involviert sind	40
Abb. 7: Mechanismen der Phytoextraktion.....	42
Abb. 8: Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte beim Genfluss zwischen Feldfrucht und Wildpflanzen	51
Abb. 9: Verbreitung von Rübsen (<i>Brassica rapa</i>) und Hederich (<i>Raphanus raphanistrum</i>) in Deutschland.....	52
Abb. 10: Minimale Isolationsdistanzen verschiedener Feldfrüchte für die Erzeugung reiner Varietäten	55
Abb. 11: Wahrscheinlichkeit der Bestäubung von Raps durch Fremdpollen in Abhängigkeit vom Abstand der Felder und der Feldgröße.....	57
Abb. 12: Entscheidungsbaum der FAO/WHO (2001)..	118

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Liste der nach der Richtlinie 1829/2003/EG über gentechnisch veränderte Lebens- und Futtermittel angemeldeten Sorten	31
Tabelle 2: Klassifizierung der Cry-Proteine	34
Tabelle 3: Virusresistente transgene Pflanzen, die in den USA zugelassen sind.....	36
Tabelle 4: Zusammenfassung der effektivsten Transgene für Toleranz (T), Akkumulation (A) und Voltalisation (V) von Spurenelementen in Pflanzen.....	43
Tabelle 5: Transgene in Pflanzen zur Degradation organischer Schadstoffe.....	45
Tabelle 6: Zuordnung von Beobachtungsgegenständen für das Monitoring zu den entsprechenden gentechnischen Manipulationen	49
Tabelle 7: Wahrscheinlichkeit für vertikalen Genfluss zwischen Kulturarten und wild vorkommenden Arten.....	53
Tabelle 8: Vorschläge zu Nutzpflanzen-spezifischen Isolationsabständen im Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen.....	57
Tabelle 9: Möglichkeiten des Genflusses zwischen Raps und Kreuzungspartnern.	61
Tabelle 10. Relativer Erfolg von Feldfrucht-Wildpflanze-Hybriden im Vergleich mit Wildpflanze-Kontrollen	67
Tabelle 11: Relative Wirkung verschiedener Transgene auf die Fitness	69
Tabelle 12: Typisierung gentechnisch veränderter Kulturpflanzen anhand des Charakters ihrer ökologischen Interaktionen	73
Tabelle 13: Glyphosatresistente Unkräuter und ihre Verbreitung.	75
Tabelle 14: Studien zur Untersuchung der Effekte einer veränderten Unkrautbekämpfung (Anbau von HR-Pflanzen) auf die Ackerbegleitflora und -fauna.....	80
Tabelle 15: Auswahl im Labor selektierter resistenter Stämme verschiedener Schädlinge ...	82
Tabelle 16: Effekte auf Nicht-Zielorganismen.....	96
Tabelle 17: Untersuchungsergebnisse bezüglich des Einflusses transgener Pflanzen auf Mikroorganismen	99
Tabelle 18: Beispiele unerwarteter Effekte in transgenen Feldfrüchten	124
Tabelle 19: Ursache-Wirkungshypothesen und Prüfpunkte des GVO-Monitoringkonzepts nach Züghart und Breckling	133

Tabelle 20: Übersicht über die Umsetzungsmodule eines GVO Monitorings	137
Tabelle 21: Transgenscreening I (Belastungssituation in Pflanzen).....	139
Tabelle 22: Belastungssituation von Vektoren: – Transgenscreening II.....	140
Tabelle 23: Kosten für eine Stichprobe und für einen vollständigen Erhebungsturnus von 5 Jahren von verschiedenen Elementen eines GVO-Monitorings..	143
Tabelle 24: Vergleich der Handlungsfelder des BBA-Konzeptes mit den Handlungsbereichen des BfN-Konzeptes.	147
Tabelle 25: Fragenkomplexe im Fragebogen für Landwirte „Monitoring zum Anbau gentechnisch veränderter (GV-)Maissorten“	151

Verzeichnis der Übersichtsboxen

Box 1: Definitionen des Schadensbegriffs	9
Box 2: Neuerungen bei der Lebensmittelzulassung laut EU-Verordnung 1829/2003	14
Box 3: Fallspezifisches und allgemeines Monitoring	20
Box 4: Vorteile und mögliche Risiken von insektizid-exprimierenden (IE)-Pflanzen	33
Box 5: Dreifach-resistenter Durchwuchs-Raps	76
Box 6: Genfluss im <i>Beta vulgaris</i> -Komplex	77
Box 7: Risikoanalyse für Schmetterlinge durch <i>Cry</i> -exprimierende Pollenkörner.....	92
Box 8: Fallbeispiel Starlink <i>Bt</i> -Mais	121
Box 9: Fallbeispiel Kartoffeln mit Schneeglöckchen-Transgen	122

1 Einleitung

Im Jahr 2004 wurden weltweit auf schätzungsweise 81 Millionen Hektar gentechnisch veränderte Pflanzen (GVP) für kommerzielle Zwecke angebaut. Dies entspricht etwa 5% der weltweit landwirtschaftlich nutzbaren Flächen. Gemessen am Anteil, den einzelne Länder zu dieser Gesamtfläche beitragen, steht die USA mit 59% nach wie vor an der Spitze der GVP-anbauenden Länder, gefolgt von Argentinien (20%), Kanada (6%) und Brasilien (6%). In absteigender Reihenfolge gliedern sich China, Paraguay, Indien und Südafrika in die Gruppe der Länder ein, die GVP auf mindestens 50000 Hektar anbauen und deren Anteil an der weltweiten Gesamtfläche mindestens 1% beträgt (James 2004).

Das ökologische Gefahrenpotential transgener Pflanzen ist in den vergangenen zwei Jahrzehnten intensiv diskutiert und spätestens seit Anfang der neunziger Jahre auch experimentell erforscht worden (siehe z.B. die frühen kontroversen Beiträge im Wissenschaftsmagazin *Science* von Brill 1985, Colwell *et al.* 1985; für erste im Freiland erhobene Daten siehe Crawley *et al.* 1993). Die mit Anbau und Verzehr von GVP verbundenen potentiellen Risiken werden jedoch weiterhin nicht nur in der Bevölkerung, sondern auch innerhalb der wissenschaftlichen Gemeinschaft sehr unterschiedlich eingeschätzt. Insbesondere in der EU herrscht teilweise große Skepsis gegenüber gentechnisch veränderten Nahrungs- und Futtermitteln.

Aufgrund der verbreiteten Sorge vor möglichen gesundheitlichen und ökologischen Schäden und der gleichzeitigen Notwendigkeit, gesetzliche Rahmenbedingungen für die Nutzung gentechnischer Verfahren in der Landwirtschaft und die Vermarktung von gentechnisch veränderten (GV-)Produkten zu schaffen, bedarf es der umfassenden wissenschaftlichen Aufklärung des Gefahrenpotentials von GVP. Reflektiert wird diese Tatsache durch eine Vielzahl von Forschungsprogrammen, sowie durch die stetig an Umfang zunehmende Literatur zu diesem Thema. Bei den verschiedenen Aspekten der GVP-Risikoabschätzung handelt es sich jeweils um äußerst komplexe Sachgebiete, zu denen inzwischen zahlreiche relevante Publikationen existieren. Aus diesem Grund wird die Thematik zunehmend unüberschaubar. In jüngster Zeit sind zwar viele zusammenfassende Darstellungen erschienen, die einen guten Überblick über die verschiedenen Gegenstände der GVP-Sicherheitsforschung geben (z.B. Kjellson & Simonsen 1994, Kjellson *et al.* 1997, Traxler *et al.* 2000, Letourneau & Burrows 2002, Ellstrand 2003a, Den Nijs *et al.* 2004, Wessler 2005, Poppy & Wilkinson 2005). In den meisten Fällen ist der Fokus jedoch auf Teil-Aspekte der Risikoabschätzung gerichtet. Häufig steht entweder ein spezifisches Risiko oder eine bestimmte transgene Kultursorte im Zentrum der Betrachtung.

Die vorliegende Studie stellt den aktuellen wissenschaftlichen Stand der Sicherheitsforschung bezüglich transgener Kulturpflanzen umfassend dar. Die Risiken der Herstellung, Nutzung oder Freisetzung transgener Mikroorganismen und transgener Tiere werden hingegen nicht behandelt. Die Arbeit erfasst Literatur, die bis Mitte 2005 zur Verfügung stand; später erschienene Studien konnten nur noch in Ausnahmefällen eingearbeitet werden (z.B. Bartz *et al.* 2005; Menzel *et al.* 2005; Natur und Landschaft 80 (7) 2005).

Es werden sowohl theoretische und technische Grundlagen berücksichtigt (Schadensbegriff, Transformationstechniken) als auch die praktische Umsetzung dargestellt und bewertet (Untersuchungsergebnisse, Konsequenzen, Monitoringprogramme). Die Studie informiert durch eine breite und interdisziplinäre Betrachtungsweise über alle wichtigen Aspekte der Sicherheitsforschung und soll dadurch die Bewertung des bevorstehenden Anbaus und Monitorings von GVP erleichtern.

Nach der Beschreibung der Vorgehensweise (Kapitel 2) und einer kritischen Diskussion des ökologischen Schadensbegriffs (Kapitel 3), wird in zwei Schritten ausführlicher in die Thematik eingeführt: In Kapitel 4 werden die gesetzlichen Bestimmungen erläutert, die eine kommerzielle Nutzung von GVP in Deutschland regeln. Da hierbei die von der EU vorgegebenen Rahmenbedingungen von großer Bedeutung sind, werden diese ebenfalls zusammenfassend dargestellt. In Kapitel 5 werden sowohl die technischen Sachverhalte der Herstellung transgener Pflanzen erläutert als auch die dadurch angestrebten Ziele. Die Darstellung der technischen Details des DNA-Transfers soll dem Verständnis des sich anschließenden Kapitels dienen, denn viele sicherheitsrelevante Aspekte sind mit einem spezifischen Verfahren der Übertragung von Fremdgenen in eine Zielpflanze verknüpft. Im Kapitel 6 folgen die Beschreibung der für ein Monitoring relevanten GVP und entsprechender Untersuchungsschwerpunkte, sowie eine Diskussion der Gefahren, die von GVP ausgehen könnten. Das Kapitel 6 stellt den Hauptteil der vorliegenden Studie dar und umfasst die detaillierte Darstellung von neun verschiedenen ‚Schäden‘. Anschließend wird auf die Konzeption und Umsetzung von Monitoringstrategien in Deutschland und auf relevante Stellungnahmen einschlägiger Institutionen eingegangen (Kapitel 7). Ein kurzes Schlusskapitel benennt die wichtigsten zukünftigen Herausforderungen bei der Risikoanalyse des Anbaus von GVP.

2 Vorgehensweise

Die vorliegende Studie wurde auf der Grundlage von wissenschaftlicher Fachliteratur erstellt. Von Experten im Vorfeld begutachtete Artikel aus Fachzeitschriften bilden den größten Anteil der ausgewerteten Quellen. Diese wurden überwiegend über Internet-Datenbanken recherchiert und bezogen. Für die Thematik „Auswirkungen des Anbaus gentechnisch veränderter Pflanzen auf Umwelt und Gesundheit“ sind insbesondere die Zeitschriften *Theoretical and Applied Genetics*, *Environmental Biosafety Research*, *Transgenic Research* und *Nature Biotechnology* relevante Quellen. Für jeden spezifischen ‚Schaden‘ existiert darüber hinaus ein weites Spektrum an zusätzlichen Publikationen. Des Weiteren wurden Gutachten und Stellungnahmen einschlägiger Institutionen berücksichtigt, sowie deren Internetseiten als Informationsquelle genutzt (z.B. <http://www.biosicherheit.de>, <http://www.transgen.de>, <http://www.rki.de>, <http://www.bba.de>, <http://europa.eu.int> etc.). Die Aktualität der recherchierten Sachverhalte wurde sichergestellt, indem vorrangig Artikel der vergangenen fünf Jahre berücksichtigt wurden. Tagesaktuelle Informationen, wie sie z.B. im Internetportal www.biosicherheit.de ständig bereitgestellt werden, konnten jedoch nicht in vergleichbarem Umfang aufgenommen werden.

TEIL I: GRUNDLAGEN

3 Der Schadensbegriff in der ökologischen Sicherheitsforschung

Ein gebräuchlicher Ansatz für die Quantifizierung eines Risikos ist dessen Berechnung als das Produkt aus der Höhe eines Schadens und der Wahrscheinlichkeit seines Eintretens (Europäische Kommission 2002, Conner *et al.* 2003). Die Möglichkeit, von GVP ausgehende gesundheitliche und ökologische Risiken mit einem befriedigenden Maß an Sicherheit und Überzeugungskraft auszuschließen, setzt daher eine Klärung und Definition des Begriffs ‚Schaden‘ voraus. Eine Bestimmung dessen, was im Zusammenhang mit dem Anbau gentechnisch veränderter Organismen als ökologischer Schaden zu bewerten sei, ist bisher allerdings nicht abschließend erfolgt. Diesen Umstand identifizierte das österreichische Umweltamt als eine von mehreren fehlenden Grundvoraussetzungen, die einer kurzfristigen Umsetzung eines ökologischen Monitorings von GVP derzeit entgegenstünden (Heissenberger *et al.* 2004).

Die Schwierigkeit, eine angemessene und umfassende Schadensdefinition für die Risikobewertung von GVP zu entwickeln, erklärt sich teilweise daraus, dass es sich hierbei nicht nur um ein naturwissenschaftliches, sondern vor allem um ein ethisches Problem handelt. Unstrittig ist, dass ein Schaden eine Veränderung von einem Ausgangszustand zu einem relativ schlechteren Folgezustand beinhaltet. Während naturwissenschaftliche Daten für die Charakterisierung des Ausgangszustands sowie für die Identifizierung einer Veränderung und ihrer potentiellen Folgen notwendig sind, erfolgt deren Einstufung als Schaden zwangsläufig nach normativen Maßstäben (vgl. Hesse 2004).

3.1 Schadensdefinitionen

Es existieren eine Vielzahl von Definitionsvorschlägen für die Begriffe ‚ökologischer Schaden‘ und/ oder ‚Umweltschaden‘ (Box 1). Der Rat von Sachverständigen für Umweltfragen (SRU) hält drei Punkte für wesentlich, um zu einer praxistauglichen Definition eines ökologischen Schadens zu gelangen (SRU 2004):

- die Identifizierung von Schutzgütern,
- die Bestimmung von Schwellenwerten und
- die Operationalisierbarkeit des Schadenskonzepts.

3.2 Identifizierung von Schutzgütern

In den bestehenden nationalen und europäischen Gesetzestexten finden sich verschiedene Bestimmungen bzw. Beschreibungen unter Schutz gestellter Naturgüter. In der **‚EU-Richtlinie über Umwelthaftung zur Vermeidung und Sanierung von Umweltschäden‘** werden geschützte Arten und natürliche Lebensräume, Wasser und Boden als Schutzgüter ausgewiesen (Europäische Kommission 2001). Dies beinhaltet, dass beobachtete (als negativ eingestufte) Effekte nur dann als Schaden zu bewerten sind, wenn sie eines der in der Richtlinie genannten Schutzgüter betreffen. Der Schutz der biologischen Vielfalt wird durch die Formulierung „geschützte Arten und geschützte Lebensräume“ weitgehend auf besondere geographische Gebiete eingeschränkt, die im Wesentlichen aus den

Natura2000-Gebieten und den Lebensräumen der in der Fauna-Flora-Habitat (FFH)-Richtlinie ausgewiesenen Arten bestehen. Agrar-Ökosysteme fallen nicht darunter, und so können Veränderungen auf diesen Flächen (z.B. Verringerung der Biodiversität) nicht als Schaden eingestuft werden. Auswirkungen des Anbaus von GVP aufgrund von Verwilderung oder Auskreuzung sind hingegen als Schaden zu bewerten, wenn sie (z.B. an Anbauflächen grenzende) Gebiete betreffen, die den Status einer geschützten Ressource besitzen (vgl. Bartsch 2004b).

Eine weiterreichende Formulierung findet sich im **Bundesnaturschutzgesetz** (BNatSchG), das als Ziel des Naturschutzes die dauerhafte Sicherung folgender Güter definiert (Bundestag 2002):

- die Leistungsfähigkeit des Naturhaushalts,
- die Regenerationsfähigkeit und nachhaltige Nutzungsfähigkeit der Naturgüter,
- die Tier- und Pflanzenwelt einschließlich ihrer Lebensstätten und Lebensräume,
- die Vielfalt, Eigenart und Schönheit sowie der Erholungswert von Natur und Landschaft.

Im Sinne des Gesetzes bedeutet Naturhaushalt „seine Bestandteile im Boden, Wasser, Luft, Klima, Tiere und Pflanzen sowie das Wirkungsgefüge zwischen ihnen“. Eine genauere Definition des Begriffes Naturgüter ist im BNatSchG nicht zu finden.

Eine ebenfalls recht allgemeine Bestimmung der Schutzgüter erfolgt in der **EU-Freisetzungsrichtlinie**. Hier werden die menschliche Gesundheit und die Umwelt erwähnt (Europäische Kommission 2001). Entsprechend heißt es im **deutschen Gesetz zur Neuordnung des Gentechnikrechts** (GenTNeuordG): „Leben und Gesundheit von Menschen, die natürliche Umwelt in ihrem Wirkungsgefüge, Tiere, Pflanzen und Sachgüter“ seien vor „schädlichen Auswirkungen gentechnischer Verfahren und Produkte“ zu schützen (Bundestag 2004). Im **deutschen Gesetz zu dem Übereinkommen über die biologische Vielfalt** wird ebenfalls keine Unterscheidung in naturnah und antropogen geprägt getroffen. Es stellt sowohl die „Variabilität unter lebenden Organismen jeglicher Herkunft“ als auch die „ökologischen Komplexe, zu denen sie gehören“, unter Schutz und weitert den schutzverdienenden Status somit prinzipiell auf alle Organismen aus, unabhängig von ihrer Herkunft, Prägung oder ihrem Nutzen (Bundestag 1997).

Entgegen der Einschätzung des SRU, über die Festlegung von Schutzgütern liege Einvernehmen vor (vgl. SRU 2004), ergeben sich aus den unterschiedlichen Formulierungen jeweils andere Bewertungsmaßstäbe hinsichtlich in der Natur beobachteter Veränderungen, insbesondere solcher, die potentiell in einem Zusammenhang mit der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen (GVO) stehen.

3.3 Bestimmung von Referenzpunkten und Schwellenwerten

Die Bestimmung von Referenzpunkten und Schwellenwerten bildet eine Voraussetzung für die Operationalisierbarkeit eines Schadenskonzepts. Veränderungen können nur festgestellt werden, wenn ausreichend Informationen über den Ausgangszustand zur Verfügung stehen. Die Beurteilung, ob eine festgestellte Abweichung von diesem Ausgangszustand einen Schaden darstellt, kann aber nur gelingen, wenn ein gewünschter oder zumindest akzeptierter Zustand definiert ist (die ‚**Baseline**‘). Darüber hinaus bedarf es der Festlegung von Grenzwerten, anhand derer Abweichungen vom gewünschten oder akzeptierten Zustand als hinnehmbar oder als Indikator für einen Schaden bewertet werden können.

Der SRU bestimmte im Jahr 1987 ein **Überschreiten der natürlichen Schwankungsbreite** als wesentliches Kriterium, nach dem eine Veränderung an einem Schutzgut als Schaden einzustufen sei (SRU 1987, zitiert nach SRU 2004). Mit dieser Bestimmung wird der großen Variabilität von ökologischen Prozessen Rechnung getragen, die in der Natur zu beobachten ist. Im Umweltgutachten 2004 greift der SRU das Kriterium der Überschreitung natürlicher Variationsbreiten erneut auf und erklärt, dass die Feststellung einer solchen Überschreitung aufgrund des Vorsorgeprinzips als Anlass für weitere Untersuchungen genommen werden sollte.

Als Referenzpunkt einer Schadensbemessung dient in der EU-Richtlinie zur Umwelthaftung der **„günstige Erhaltungszustand“** eines Lebensraums. Diesen gelte es zu bewahren oder herzustellen. Drei Kriterien werden genannt, die den Zustand eines Lebensraums als „günstig“ charakterisieren. Demnach ist die Situation als günstig zu bewerten, wenn die Größe der Fläche, die der betreffende Lebensraum umfasst, entweder über die Zeit gleich bleibt oder sich ausdehnt. Ein weiteres Merkmal eines günstigen Zustands ist das Vorhandensein von Strukturen und spezifischen Funktionen, die den langfristigen Fortbestand des Lebensraums sichern. Ebenfalls kennzeichnend ist, dass in einem betreffenden Lebensraum Bedingungen herrschen, die den typischerweise vorkommenden Arten ein langfristiges Bestehen ermöglichen (Europäische Kommission 2001).

In der EU-Freisetzungsrichtlinie werden die Mitgliedsstaaten dazu verpflichtet, Sorge zu tragen, dass durch eine absichtliche Freisetzung oder durch das Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Organismen **keine schädlichen Auswirkungen** entstehen (Europäische Kommission 2001). Eine genauere Bestimmung des Begriffs „schädliche Auswirkungen“ wird nicht vorgenommen (vgl. Bartsch 2004b). Ebenso heißt es im deutschen Gentechnikgesetz (Bundestag 2004), Ziel des Gesetzes sei es, die oben genannten Schutzgüter „vor schädlichen Auswirkungen zu schützen und Vorsorge gegen das Entstehen solcher Gefahren zu treffen“, wobei auch hier eine Definition der verwendeten Begriffe fehlt.

3.4 Operationalisierbarkeit

Das Kriterium der natürlichen Schwankungsbreite, das der SRU zur Bestimmung von schädlichen Auswirkungen nennt, ist stark in Kritik geraten. Zunächst ist das Kriterium aus umweltethischer Perspektive problematisch, wenn es nicht durch zusätzliche normative

Prämissen unterstützt und begründet wird. Für den hier beleuchteten Zusammenhang sind jedoch die folgenden Aspekte von größerer Relevanz: In der Regel wird in ökologischen Untersuchungen nur ein Ausschnitt der natürlichen Schwankungsbreite eines Phänomens erfasst. Der Nachweis, dass eine Veränderung außerhalb des natürlich vorkommenden Variationsspektrums liegt, ist daher schwer zu erbringen. Darüber hinaus wird angenommen, dass sich das relevante Spektrum je nach betrachteter Integrationsebene verschiebt. Daher müssten voraussichtlich für jede Ebene (Population, Art, Biozönose, Ökosystem) spezifische Schwankungsbreiten bestimmt werden (Breckling & Potthast 2004, Potthast 2004).

Eine Schadensdefinition ist wenig brauchbar, wenn der durch sie festgelegte Soll-Zustand wissenschaftlich nicht klar erfasst werden kann. Mit diesem Argument lehnt Bartsch (2004b) das **Konzept der evolutionären Integrität** ab, nach welchem Arten ein **Recht auf genetische Unversehrtheit** zugesprochen wird (Breckling & Züghart 2001).

Des Weiteren umfasst die Definition des SRU prinzipiell auch solche Veränderungen, die unabhängig von menschlichen Tätigkeiten sind, wie z.B. die Auswirkungen von Naturkatastrophen. Da in diesen Fällen allerdings keine Verantwortlichkeiten oder Haftungsfragen geklärt werden müssen, beschränkt sich die Diskussion um den ökologischen Schadensbegriff in der Hauptsache auf **solche messbaren Veränderungen, die ihre Ursache in menschlichen Verhaltensweisen haben**. Allerdings ist die Unterscheidung in natürliche Prozesse und antropogene Einflüsse nicht immer deutlich. Zum einen ist in antropogen geprägten Landschaften grundsätzlich schwer auszumachen, was als natürlich gelten soll (Schlee 2004). Zum anderen ist es in vielen Fällen äußerst schwierig, einen Kausalzusammenhang zwischen einer Veränderung und einer menschlichen Tätigkeit nachzuweisen. Dies trifft insbesondere für Erhebungen im Freiland zu. So erwähnen z.B. Heissenberger *et al.* (2004) den gescheiterten Versuch, in mehrjähriger Forschungstätigkeit einen statistisch signifikanten Nachweis einer negativen Beeinflussung von Nachtfalterpopulationen durch Beleuchtungsanlagen nachzuweisen, obwohl täglich mehrere tausend Individuen in den Lampen getötet werden. Ähnliches trifft auf mögliche Effekte eines GVP-Anbaus zu. Aufgrund der hohen Variabilität ökosystemarer Prozesse bedarf es in vielen Fällen sehr großer Stichproben, bzw. sehr großer Untersuchungsflächen, um überhaupt einen statistisch signifikanten Effekt festzustellen (vgl. Heissenberger *et al.* 2004; Meissle & Lang 2005). Wird tatsächlich ein Effekt gemessen, ist es fraglich, ob zwischen diesem und dem Vorhandensein eines inserierten Transgens ein ursächlicher Zusammenhang nachgewiesen werden kann.

Da in der EU-Freisetzungsrichtlinie keine Referenzpunkte definiert sind, dienen den nationalen Regelungsbehörden in Deutschland meist **Vergleiche mit der konventionellen Landwirtschaft als Maßstab** für eine Bewertung von GVP. In der Praxis wird hierfür ein als „biologisch unschädlich“ definierter Ausgangsorganismus herangezogen, dessen Eigenschaften akzeptiert sind (Bartsch 2004b). Diese Praxis scheint zunächst eine transparente und in sich schlüssige Vorgehensweise zu ermöglichen. Bartsch (2004b) führt aus, dass biologische Eigenschaften, die transgene Organismen mit konventionellen Arten gemein haben, wie z.B. Pollenflug und Auskreuzung, für sich genommen nicht als Schaden einzustufen sind. Erst dadurch, dass sie zu Ereignissen führen, die einen Schaden darstellen (z.B. Verdrängung von geschützten Arten oder Verlust genetischer Diversität), werden sie zu

Box 1: Definitionen des Schadensbegriffs

Sachverständigenrat für Umweltfragen (SRU 1987):

„Als Schäden im ökologischen Sinne werden solche Veränderungen angesehen, die über das natürliche Schwankungsmaß der betroffenen Populationen oder Ökosysteme hinausgehen und sich oft nur über größere Zeiträume manifestieren, sowie Veränderungen, die entweder überhaupt nicht oder oft erst Jahrzehnte nach der toxischen Einwirkung und mit hohem Aufwand rückgängig gemacht werden können.“

Sachverständigenrat für Umweltfragen (SRU 2004):

„Ökologischer Schaden ist jede erhebliche und nachhaltige Beeinträchtigung der Naturgüter, die nicht zugleich einen individuellen Schaden darstellt. Erfasst sind insbesondere Beeinträchtigungen von Luft, Klima, Wasser, Boden, der Tier- und Pflanzenwelt und ihrer Wechselwirkungen. Eine Beeinträchtigung ist insbesondere dann erheblich, wenn sie Bestandteile (und Funktionen) des Naturhaushaltes betrifft, die einem besonderen öffentlich-rechtlichen Schutz unterliegen. Sie ist nachhaltig, wenn sie nicht voraussichtlich innerhalb eines kurzen Zeitraums durch natürliche Entwicklungsprozesse ausgeglichen wird.“

„EU-Richtlinie über Umwelthaftung zur Vermeidung und Sanierung von Umweltschäden‘ (Europäische Kommission 2001):

Ein Umweltschaden beschreibt „eine Schädigung geschützter Arten und natürlicher Lebensräume, d.h. jeden Schaden, der erhebliche nachteilige Auswirkungen in Bezug auf die Erreichung oder Beibehaltung des günstigen Erhaltungszustands dieser Lebensräume oder Arten hat. eine Schädigung der Gewässer, d.h. jeden Schaden, der erhebliche nachteilige Auswirkungen auf den ökologischen, chemischen und/ oder mengenmäßigen Zustand, und/ oder das ökologische Potential der betreffenden Gewässer ... hat ...; eine Schädigung des Bodens, d.h. jede Bodenverunreinigung, die ein erhebliches Risiko einer Beeinträchtigung der menschlichen Gesundheit aufgrund der direkten oder indirekten Einbringung von Stoffen, Zubereitungen, Organismen oder Mikroorganismen in, auf oder unter dem Grund verursacht.“ Ein Schaden ist „eine direkt oder indirekt eintretende feststellbare nachteilige Veränderung einer natürlichen Ressource oder Beeinträchtigung der Funktion einer natürlichen Ressource.“

unerwünschten Eigenschaften. Die Grenzen dieser an sich plausiblen Einteilung in neutrale Eigenschaften und Vorgänge einerseits und potentiell schädliche Konsequenzen andererseits werden allerdings durch folgende von Bartsch (2004b) gezogene Schlussfolgerung deutlich: „... die Einbürgerung und Ausbreitung transgener Organismen ist [aber] per se kein unerwünschter Vorgang. Er wird es erst dann, wenn durch diesen Vorgang als Konsequenz ein Ereignis eintritt, welches als Schaden gewertet wird.“ Diese Einschätzung wird von Verfechtern des Konzepts der evolutionären Integrität nicht geteilt (Breckling & Züghart 2001), bzw. zumindest mit Verweis auf das Vorsorgeprinzip abgelehnt (Breckling & Menzel 2004). Dieses Beispiel illustriert, dass eine klare Trennlinie zwischen neutralem Vorgang und zu bewertender Konsequenz nicht in jedem Fall gezogen werden kann.

3.5 Spezialfall Gentechnik

Während die Definition des SRU aus den achtziger Jahren noch einen deutlichen Bezug zu einem spezifisch ökotoxikologischen Kontext aufweist (die Formulierung lautet „toxische Einwirkung“, siehe Box 1), findet sich die im SRU-Umweltgutachten aus dem Jahr 2004 vorgeschlagene Version bezeichnenderweise im Kapitel „Grüne Gentechnik“. Hieraus ist deutlich zu erkennen, dass bezüglich der Frage, welche Veränderungen in der Umwelt als Schaden zu bewerten seien, eine Verschiebung des Diskussionsschwerpunktes stattgefunden hat (Breckling & Verhoeven 2004). **Gegenwärtig nimmt die Gentechnik in dieser Frage eine zentrale Stellung ein.** Die Anwendbarkeit und Implikationen bestehender Definitionen auf die aktuelle Anbausituation von GVP müssen überprüft und mit Blick auf praktikable Monitoringprogramme und Haftungsregelungen ggf. neu ausgehandelt werden.

Ein möglicher Schaden durch die Freisetzung oder das Inverkehrbringen von GVP unterscheidet sich in einem wesentlichen Punkt von anderen ökologischen Schäden oder Umweltschäden, die z.B. durch Chemikalien verursacht werden. Aufgrund der Tatsache, dass Pflanzen die Fähigkeit haben sich zu vermehren und auszubreiten, sind Prozesse, die durch eine einmal erfolgte Freisetzung oder ein Inverkehrbringen von GVP in Gang gebracht wurden, u.U. nicht wieder zu stoppen. Für diesen Umstand wurde der Begriff der Nicht-Rückholbarkeit geprägt.

Ein Schadenskonzept, das bei der Bewertung von Auswirkungen durch den GVP-Anbau Anwendung findet, muss des Weiteren als Abbruchkriterien bezeichnete Parameter beinhalten. Diese sind nicht notwendigerweise mit den oben bereits diskutierten Grenz- und Schwellenwerten identisch. Während letztere das Eintreten eines Schadens definieren, legen die Abbruchkriterien fest, wann eine Freisetzung beendet bzw. gestoppt werden muss. Diese Unterscheidung ist notwendig, da sich aus der Klärung der Frage, welche Veränderungen in der Umwelt als Schaden zu bewerten seien, nicht unmittelbar ergibt, welche Veränderungen unter welchen Umständen toleriert, bzw. ab wann Tätigkeiten untersagt werden müssen, um bestimmte, durch diese Tätigkeiten verursachten Prozesse aufzuhalten oder zu verhindern. Eine Güterabwägung kann durchaus ergeben, dass ein als Schaden eingestuft Prozess hingenommen werden kann.

An der Technischen Universität Berlin wurde kürzlich ein Forschungsprojekt mit dem Titel „Ökologischer Schaden in der Agro-Gentechnik“ abgeschlossen. Ziel des Vorhabens war es, den Begriff "ökologischer Schaden" in der Agro-Gentechnik insbesondere in Bezug auf den Anbau von GVO inhaltlich zu definieren und auszufüllen, sowie einen Rahmen für Kriterien zu dessen Ermittlung und Bewertung der ökologischen Veränderungen (Erheblichkeitsschwellen) zu entwickeln. Ein Ergebnis dieser Arbeit ist eine Schadensdefinition (Bartz *et al.* (2005), die davon ausgeht, dass alle Effekte, die aus naturschutzfachlicher Sicht negativ zu bewerten sind, als „schädliche Auswirkungen auf die Umwelt“ oder verkürzt als „ökologischen Schaden“ anzusehen sind. Auf dieser Grundlage wurde ein Vorschlag zur Bestimmung „ökologischer Schäden“ in Hinblick auf naturschutzfachliche Schutzgüter und ein methodischer Ansatz zur Anwendung der Schadensdefinition entwickelt. Ein (durch GVO verursachter) **ökologischer Schaden liegt demnach vor, wenn**

- ein abiotisches Schutzgut (Boden, Wasser, Luft, Klima) oder

- ein biotisches Schutzgut (Tiere, Pflanzen, Pilze, Mikroorganismen) erheblich beeinträchtigt wird, und zwar hinsichtlich
- der Gesamtheit oder Teilen eines Schutzgutes oder
- des Schutzgutes als Bestandteil eines Wirkungsgefüges mit anderen Schutzgütern oder
- der nachhaltigen Nutzungsfähigkeit eines Schutzgutes oder des mit ihm verbundenen Wirkungsgefüges.

3.6 Zwischenfazit Schadensbegriff

Es gibt derzeit kein allgemeingültiges Schadenskonzept. Für die Bewertung von GVP ist ein solches jedoch eine wichtige Voraussetzung. Gegenwärtig lässt sich folgender Diskussionsstand festhalten:

Schutzgüter: Unumstritten ist, dass die menschliche Gesundheit und eine näher zu bestimmende „Umwelt“ den Status eines Schutzgutes besitzen. Unklarheiten bestehen bezüglich der konkreten Definition der unter Schutz gestellten Naturgüter. Das Spektrum der denkbaren Schutzgüterdefinitionen erstreckt sich dabei von einer Beschränkung des Schutzgut-Status auf bereits als „geschützt“ ausgewiesene Flächen, Pflanzen und Tierarten (Natura2000-Gebiete, Rote Liste-Arten, etc.) bis zu einer Ausweitung dieses Status auf die gesamte Umwelt, einschließlich Agrarflächen und anderer anthropogen geprägter Ökosysteme.

Grenz- und Schwellenwerte: Die Festlegung von Grenz- und Schwellenwerten ist notwendiger Bestandteil eines praktikablen Schadenskonzepts. Trotz der häufigen Bezugnahme auf den Vorschlag des SRU, ein Abweichen von der natürlichen Schwankungsbreite als Kriterium einer Schadensbemessung heranzuziehen, kann dieses Konzept nicht als akzeptiert gelten. Vielmehr erscheint seine Realisierbarkeit äußerst fragwürdig. Von den Grenz- und Schwellenwerten, die einen Schaden an sich definieren, sind die **Abbruchkriterien** zu unterscheiden, die festlegen, wann ein Vorhaben untersagt bzw. ein Vorgang beendet werden muss.

Operationalisierbarkeit: Ein Schadenskonzept ist nur dann zur Anwendung zu bringen, wenn es auf messbaren Parametern basiert. Da ein antizipierter oder festgestellter Schaden in der Praxis Freiheitsbeschränkungen (z.B. Einschränkung der Forschungsfreiheit), Verbote (z.B. Anbau- oder Einfuhrverbot) oder eine **Haftbarmachung** des Verursachers zur Folge haben kann, ist es zusätzlich notwendig, Kausalzusammenhänge feststellen zu können.

Ein Methodenapparat zum **eindeutigen Nachweis eines ursächlichen Zusammenhangs** steht bisher nur für einige der potentiellen Schäden zur Verfügung. Z.B. kann Genfluss eindeutig – wenn auch mit hohen Kosten – mit molekularen Methoden nachgewiesen werden. Betreffen potentielle Veränderungen komplexe Wirkungsketten (z.B. trophische Interaktionen oder indirekte Effekte aufgrund einer veränderten Bewirtschaftung), ist der Nachweis eines Kausalzusammenhangs derzeit nur schwer zu erbringen.

4 Gesetzliche Rahmenbedingungen

4.1 Hintergründe zur gegenwärtigen Situation in der EU

In der EU wurden im Zeitraum von 1998 bis 2004 keine neuen gentechnisch veränderten Pflanzensorten für den kommerziellen Anbau zugelassen. Im Juni 1999 erklärten fünf EU-Mitgliedsstaaten (Dänemark, Frankreich, Griechenland, Italien und Luxemburg), dass sie Neuzulassungen von GVP blockieren würden, bis eine europäische Regelung zur Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit von GVP und aus GVP hergestellten Produkten in Kraft sei. Das Ergebnis war ein ‚de facto Moratorium‘, d.h. es wurden vorläufig keine Neuzulassungen erteilt und GVP wurden in nur einem einzigen Mitgliedsland kommerziell angebaut (dpa 1999, SRU 2004). Hierbei handelte es sich um gentechnisch veränderten Mais, der in Spanien jährlich auf einer Fläche von ca. 20000 bis 30000 Hektar angepflanzt wurde. Im Jahr 2004 vergrößerte sich die Anbaufläche auf 58000 ha, was etwa 12% der gesamten Maiserzeugung in Spanien entspricht (James 2004).

Während der sechs Jahre, die das ‚de facto Moratorium‘ bestand, fand in der EU eine intensive Auseinandersetzung mit der ‚grünen Gentechnik‘ sowohl auf politischer Ebene als auch in der Öffentlichkeit statt. Forciert durch den technischen Fortschritt und eine zunehmende Deregulierung von GVO bzw. GVO-haltigen Produkten in anderen Ländern, resultierte die politische Debatte u.a. in der Neuordnung der betreffenden gesetzlichen Rahmenbedingungen. Durch die Verabschiedung bzw. Änderung verschiedener Regelwerke (siehe 4.2) wurden viele Aspekte des Anbaus und der Nutzung von GVO, die 1998 das ‚de facto Moratorium‘ begründet hatten, weitgehend geklärt.

Im Mai 2004 beschloss die Europäische Kommission, die gentechnisch veränderte Maissorte Bt11 der Firma Syngenta (früher Novartis) in der EU zuzulassen. Das seit 1998 bestehende ‚de facto Moratorium‘ wurde durch diese Entscheidung aufgehoben, und eine Ausweitung des Anbaus transgener Kulturpflanzen in der EU steht derzeit bevor. Ungeachtet dieser Entwicklung bestehen weiterhin Unklarheiten bezüglich der Handhabung von GVO und GVO-haltiger Produkte. Diese betreffen insbesondere die Durchführung des Nachzulassungs-Monitorings (Kapitel 7).

4.2 EU-Gesetzgebung

Auf EU-Ebene regelt die **Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG** die beabsichtigte **Freisetzung** und das **Inverkehrbringen** von GVO. Sie schreibt vor, dass ein von GVO potentiell ausgehendes Risiko für die menschliche Gesundheit und für die Umwelt vor der Freisetzung für jeden Einzelfall (case-by-case) zu überprüfen ist. Die Vorgehensweise erfolgt schrittweise (step-by-step), d.h. in verschiedenen Versuchen wird eine Annäherung an realistische Bedingungen angestrebt. Die einzelnen Teile einer solchen Risikoanalyse könnten z.B. aus Laborversuchen, Untersuchungen in Mikrokosmen, begrenzten Freisetzungen, Modellierungs-Szenarien, Evaluationen auf Landschaftsebene und schließlich einem Nachzulassungs-Monitoring bestehen (vgl. O'Callaghan *et al.* 2005). Jeder Übergang zu weniger kontrollierten Bedingungen darf nur dann vollzogen werden, wenn die in der

vorhergehenden Testphase gewonnenen Ergebnisse erkennen lassen, dass dieser Schritt ohne Gefährdung von menschlicher Gesundheit oder Umwelt möglich ist.

Wichtige inhaltliche Elemente einer derartigen Analyse sind die **Schadensidentifikation**, die Untersuchung **trophischer Interaktionen** und eine Analyse der **Exposition** (vgl. 6.4 und 6.8). Eine Risikoabschätzung, die diese verschiedenen Aspekte berücksichtigt, wird auch als gestufte Analyse („tiered analysis“) bezeichnet (vgl. EFSA GMO Panel 2004c).

Die Freisetzungsrichtlinie legt des Weiteren fest, welche Voraussetzungen erfüllt sein müssen, bevor GVO oder daraus bestehende Produkte kommerziell vermarktet werden können. Ein Inverkehrbringen wird nur gestattet, wenn die dem Antragschreiber beigefügten Ergebnisse einer Umweltverträglichkeitsprüfung (UVP) die Unbedenklichkeit des entsprechenden Organismus oder Produkts bescheinigen. Eine Überwachung möglicher Auswirkungen des in Verkehr gebrachten GVO oder GVO-haltigen Produkts ist auch nach der Marktzulassung vorgeschrieben. Ein zu diesem Zweck erstellter Monitoringplan muss ebenfalls gemeinsam mit den restlichen Antragsunterlagen eingereicht werden. Orientierung für den Monitoringplan geben die **Monitoring-Leitlinien 2002/811/EG zur Freisetzungsrichtlinie** (siehe Kapitel 7). Seit 2003 ist außerdem die EU-Verordnung 1830/2003 über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von GVO in Kraft (Europäische Kommission 2003c).

Lebens- oder Futtermittel, die aus GVO bestehen oder diese enthalten, unterliegen speziellen Vorschriften. Seit 18. April 2004 ist die Verordnung 1829/2003 anzuwenden. Sie ersetzt die bisherige Novel Food Verordnung 258/97 im Bereich der Lebensmittel und die Anwendung der Richtlinie 2001/18/EG bei Futtermitteln (Europäische Kommission 2003b). Die EU-Verordnung 1829/2003 legt für alle Mitgliedsstaaten verbindlich fest, nach welchen allgemeinen Prinzipien die Risikobewertungen für gentechnisch veränderte Lebens- oder Futtermittel in der Europäischen Union durchzuführen sind. Grundsätzlich gilt auch hier, dass gentechnisch veränderte Lebens- oder Futtermittel, die in der EU auf den Markt gebracht werden, keine schädlichen Auswirkungen auf die Umwelt, auf die menschliche Gesundheit oder auf die Gesundheit von Tieren haben dürfen. Die Nährwert-Eigenschaften eines GV-Lebensmittels dürfen des Weiteren nicht wesentlich von denen des entsprechenden herkömmlichen Lebensmittels abweichen. Eine Ernährung, in der ein GV-Lebensmittel das herkömmliche Produkt ersetzt, darf demnach – bei ansonsten unveränderten Essgewohnheiten – keine gesundheitlichen oder ernährungsphysiologischen Nachteile mit sich bringen.

Im Vergleich zur alten Novel Food-Verordnung ist die neue Regelung restriktiver. Eine Notifizierung der Produkte (Unbedenklichkeit **ausschließlich** auf Grundlage der substantiellen Äquivalenz) ist nun nicht mehr möglich. Eine Zulassung gentechnisch veränderter Lebens- und Futtermittel setzt stattdessen umfangreiche **Untersuchungen** voraus, die im Einzelfall zeigen, dass keine gesundheitlichen Risiken zu befürchten sind. Die **Bewertung** der Untersuchungsergebnisse wird auch nach der neuen Regelung entsprechend dem Prinzip der substantiellen Äquivalenz vorgenommen (siehe auch Kapitel 6.8). In Box 2 sind die wichtigen Neuerungen, die durch die EU-Verordnung 1829/2003 zur Zulassung von Lebens- und Futtermittel in Kraft traten, zusammengestellt.

Box 2: Neuerungen bei der Lebensmittelzulassung laut EU-Verordnung 1829/2003

Nach der EU-Verordnung 1829/2003 zur Zulassung von Lebens- und Futtermittel

- dürfen Produkte, die als Lebens- **und** Futtermittel verwendet werden können (z.B. Mais), nur zugelassen werden, wenn die Zulassungskriterien sowohl für Lebens- als auch für Futtermittel erfüllt sind;
- trifft die Entscheidung über eine Zulassung die **EU-Kommission**. Jede Genehmigung wird auf zehn Jahre begrenzt; eine Verlängerung ist möglich;
- werden alle zugelassenen Produkte in ein öffentlich zugängliches Register eingetragen. Dies gilt auch für bereits zugelassene und auf dem Markt befindliche GVO-Produkte.

4.3 Gesetzgebung in Deutschland

In Deutschland wird das Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Lebens- und Futtermittel durch die genannten EU-Verordnungen geregelt. Von Bedeutung sind hier insbesondere die Lebensmittelverordnung 178/2002 (Europäische Kommission 2002), die Verordnung über gentechnisch veränderte Lebens- und Futtermittel 1829/2003 (Europäische Kommission 2003b) und die Verordnung über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung 1830/2003 (Europäische Kommission 2003c). EU-Verordnungen haben in den Mitgliedsstaaten unmittelbare Geltung.

Demgegenüber bedürfen EU-Richtlinien der Umsetzung in nationale Gesetze. Die EU-Freisetzungsrichtlinie war von den Mitgliedsländern bis Oktober 2002 in nationales Recht umzusetzen. Dies ist in Deutschland bisher nur teilweise erfolgt, da die hierfür notwendige Novellierung des deutschen Gentechnikgesetzes heftige Kontroversen ausgelöst hat (vgl. SRU 2004). Mit dem Inkrafttreten des Gesetzes zur Neuordnung des Gentechnikrechts am 04. Februar 2005 (Gentechnikgesetz 2004) wurden mit der Einführung eines öffentlich einsehbares Standortregisters (§16a) und durch Regelungen zur Kennzeichnung von GVO-haltigen Produkten (§17b) einige der EU-Vorschriften umgesetzt. Das Gesetz zur Neuordnung des Gentechnikrechts enthält rechtlich verbindliche Rahmenbedingungen für das Nachzulassungsmonitoring (§ 16c) . Die Ausgestaltung des Monitorings ist jedoch noch offen. Seit mehreren Jahren wird sich allerdings in Deutschland darum bemüht, praktikable Konzepte für das Nachzulassungsmonitoring zu entwickeln und zu erproben (siehe Kapitel 7).

4.4 Antragsstellung

Die Genehmigungsverfahren für **Freisetzungen** (zeitlich und örtlich begrenztes Ausbringen von GVO) und Inverkehrbringen von GVO (Abgabe von Produkten an Dritte, Vermarktung) unterscheiden sich von dem Genehmigungsverfahren für das **Inverkehrbringen** von gentechnisch veränderten Lebens- und Futtermitteln. Die Antragsstellung verläuft jedoch in allen Fällen vorerst über die zuständige nationale Behörde,

die den Antrag prüft und die andere EU-Mitgliedsländer sowie die EU-Kommission über den eingegangenen Antrag informiert. In Deutschland ist seit dem 1.4.2004 das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) für das Bearbeiten der Anträge zuständig.

4.4.1 Freisetzung

Für das Bearbeiten der Anträge auf Freisetzung von GVO ist das BVL zuständig. Es trifft eine Entscheidung im Benehmen mit dem **Bundesamt für Naturschutz** (BfN), dem **Bundesinstitut für Risikobewertung** (BfR) und dem **Robert-Koch-Institut** (RKI). Auch die **Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit** (ZKBS), die **Biologische Bundesanstalt** für Land- und Forstwirtschaft (BBA) und die zuständige Behörde des betroffenen Bundeslandes können eine Stellungnahme abgeben.

Laut der EU-Richtlinie 2001/18/EG muss die zuständige nationale Behörde jeden Freisetzungsantrag, der bei ihr eingereicht wurde, in Kurzfassung an die EU-Kommission übermitteln (Europäische Kommission 2001, Art. 11). Diese informiert die zuständigen Behörden der anderen EU-Mitgliedsstaaten. Letztere können wiederum eine Stellungnahme zu dem Freisetzungsvorhaben abgeben, die für die zuständige Behörde jedoch unverbindlich ist.

Über den Ausgang der Bewertung ist erneut die EU-Kommission zu informieren. Wird über einen Antrag positiv entschieden, erteilt die zuständige nationale Behörde eine Genehmigung für die Freisetzung (siehe Abb. 1). Geplante und erfolgte Freisetzungen werden in das öffentlich zugängliche Standortregister eingetragen.

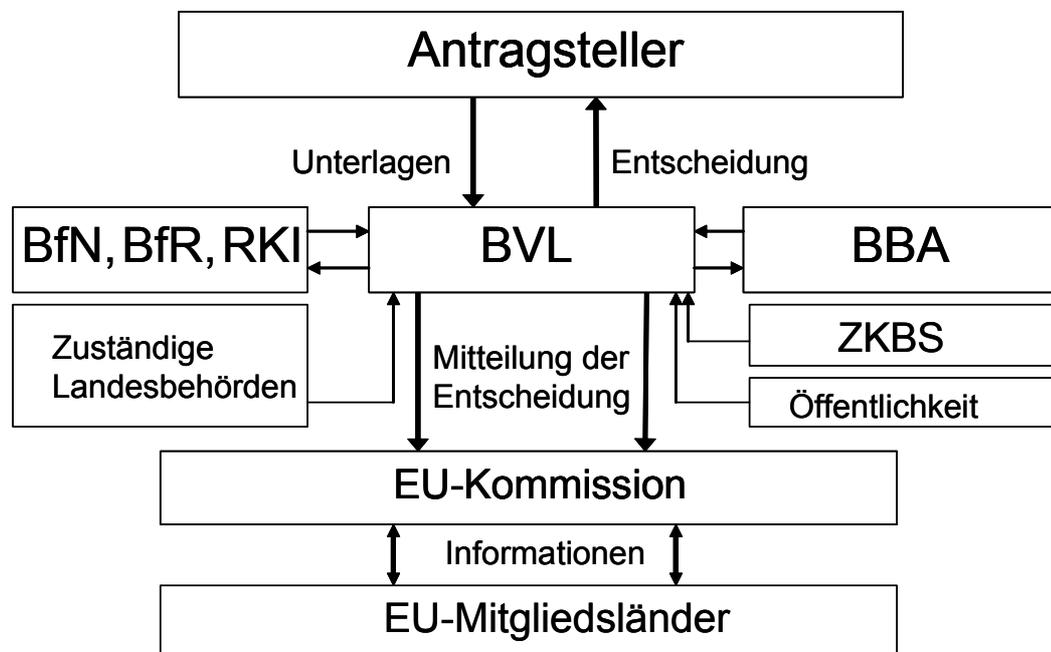


Abb. 1: Schematische Darstellung des Zulassungsverfahrens für die Freisetzung von GVO nach der Richtlinie 2001/18/EG

Ein **differenziertes Genehmigungsverfahren** ist möglich, wenn über den freizusetzenden GVO bereits genügend Erfahrungen gesammelt worden sind. Konkret müssen bestimmte Informationen über die Biologie und Ökologie des GVO, des Ausgangsorganismus und der Genquelle, ihre Wechselwirkungen mit der Umwelt und mögliche Risiken bekannt sein. Die Bedingungen für ein differenziertes Verfahren sind in Anhang V der Freisetzungsrichtlinie festgelegt. Ob ein differenziertes Verfahren angewandt wird, entscheidet die EU-Kommission. Wird über einen Freisetzungsantrag nach dem differenzierten Verfahren positiv entschieden, können an einem oder an verschiedenen Orten innerhalb eines festgelegten Zeitraums Freisetzungen eines oder verschiedener GVO erfolgen, ohne dass es hierfür jeweils einer gesonderten Genehmigung bedarf.

4.4.2 Inverkehrbringen

Verfahren nach der Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG

Das Inverkehrbringen von GVO oder Produkten, die solche enthalten, kann nur durch einen Entschluss auf EU-Ebene genehmigt werden. Der formale Ablauf eines Genehmigungsverfahrens ist zunächst mit der Antragstellung für eine Freisetzung im Wesentlichen identisch: Der Antragsteller reicht die erforderlichen Unterlagen bei der zuständigen Behörde des Landes – in Deutschland beim BVL – ein, in dem das betreffende GV-Produkt als erstes auf den Markt gebracht werden soll. Diese Behörde prüft den Antrag auf Vollständigkeit und übermittelt ihn an die EU-Kommission, welche wiederum die zuständigen Behörden der anderen EU-Mitgliedsländer über den Antrag informiert. Unter Berücksichtigung der vom Antragsteller zur Verfügung gestellten Ergebnisse durchgeführter UVP und ggf. der Stellungnahmen zusätzlicher Behörden (in Deutschland: Benehmen mit BfN, BfR und RKI sowie Stellungnahme der BBA und ZKBS), nimmt die nationale Behörde eine Einschätzung des Zulassungsgesuchs vor. In einem **Bewertungsbericht** wird diese Einschätzung sowohl dem Antragsteller als auch der Europäischen Kommission mitgeteilt. Fällt die Bewertung der zuständigen nationalen Behörde negativ aus, wird der Antrag auf Inverkehrbringen abgelehnt. Befürwortet hingegen die zuständige nationale Behörde eine Marktzulassung des Produkts, können andere Mitgliedsländer oder die EU-Kommission innerhalb von 60 Tagen gegen diese Beurteilung Einspruch erheben. Werden von der Kommission und den anderen Mitgliedsländern keine Einwände gegen die Entscheidung der nationalen Behörde erhoben, erteilt die zuständige nationale Behörde dem Antragsteller die Genehmigung, das entsprechende GV-Produkt in der gesamten EU zu vermarkten (siehe Abb. 2). Das Produkt muss die Vorschriften zur Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung erfüllen. Zusätzlich ist ein Monitoringplan erforderlich, der auf den Ergebnissen der im Vorfeld durchgeführten UVP basiert. Durch das Monitoring sollen direkte oder indirekte, unmittelbare, verzögerte oder unvorhergesehene Auswirkungen auf die Umwelt oder die menschliche Gesundheit ermittelt werden, die während oder nach der Markteinführung des GV-Produkts auftreten (siehe Kapitel 7). Die Gültigkeitsdauer der Genehmigung beträgt zehn Jahre. Eine Verlängerung der Zulassung kann erfolgen, wenn die in der Zwischenzeit gewonnenen zusätzlichen Informationen über das Produkt keine Gefährdung von Mensch oder Umwelt befürchten lassen.

Im Falle, dass von der EU-Kommission oder den Behörden anderer EU-Mitgliedsstaaten Einwände gegen ein Inverkehrbringen erhoben werden, wird eine Entscheidung im Gemeinschaftsverfahren gefällt (Art. 18). Es findet eine Anhörung eines

wissenschaftlichen Ausschusses (oder mehrerer Ausschüsse) statt (daher auch Ausschussverfahren, Art. 30). Stehen die Einwände im Zusammenhang mit möglichen Gesundheitsrisiken, kann die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) gemäß VO (EG) 178/2002 hinzugezogen werden. Erteilen die wissenschaftlichen Ausschüsse die Empfehlung, dem Antrag stattzugeben, legt die Kommission einem Entscheidungsgremium, das sich aus Vertretern der Mitgliedsstaaten zusammensetzt, einen entsprechenden Entwurf für eine Genehmigung vor. Billigt das Entscheidungsgremium diesen Vorschlag, wird die Zulassung erteilt. Lehnt das Entscheidungsgremium den Entwurf ab, wird dieser an den EU-Ministerrat zur Annahme oder Ablehnung weitergeleitet. Im Ministerrat kann eine Entscheidung nur mit einer qualifizierten Mehrheit gefällt werden. Gelingt dies während einer Frist von drei Monaten nicht, trifft die EU-Kommission eine Entscheidung.

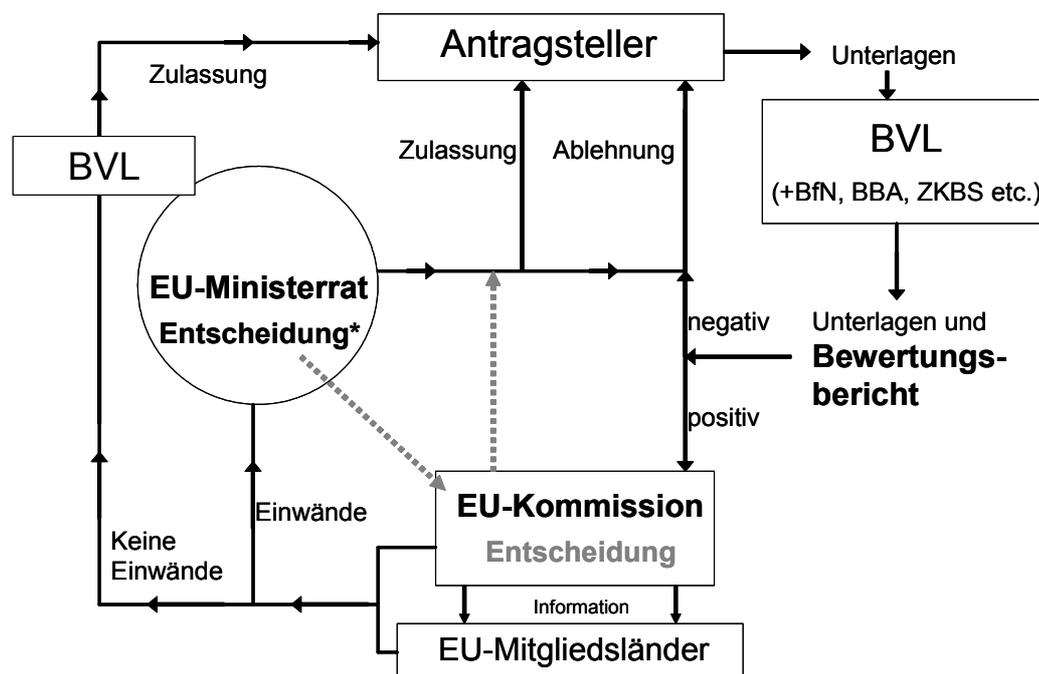


Abb. 2: Schematische Darstellung des Zulassungsverfahrens für ein Inverkehrbringen von GVO nach der Richtlinie 2001/18/EG (vereinfacht). *Entscheidung nur mit qualifizierter Mehrheit innerhalb von 3 Monaten möglich, andernfalls entscheidet die EU-Kommission (grauer Pfad).

Verfahren nach der EU-Verordnung 1829/2003

Um ein transgenes Lebens- oder Futtermittel auf den Markt zu bringen, wird prinzipiell sowohl eine Zulassung nach Richtlinie 2001/18/EG als auch eine Zulassung nach der Verordnung 1829/2003 benötigt. Ein Antragsteller kann sich entscheiden, den Antrag auf Inverkehrbringen (nach Richtlinie 2001/18) getrennt von dem Antrag auf Zulassung des Produkts als Lebens- oder Futtermittel (nach Verordnung 1829/2003) zu stellen. Alternativ ist aber auch ein **integratives Verfahren** möglich.

Die Beurteilungskriterien beider Regelwerke stimmen in hohem Maße überein, eine Gefährdung von Mensch, Tier oder Umwelt soll in jedem Fall ausgeschlossen werden. Der Schwerpunkt einer Risikobewertung nach der Freisetzungsrichtlinie liegt jedoch auf der

Umweltverträglichkeitsprüfung. Eine Prüfung entsprechend der Verordnung 1829/2003 berücksichtigt dagegen in der Hauptsache **gesundheitliche Aspekte**. Unterschiede bestehen des Weiteren bezüglich des Ablaufs des Genehmigungsverfahrens und der daran beteiligten Institutionen. Während die zuständige nationale Behörde an einer Entscheidung nach Richtlinie 2001/18 wesentlich mitwirkt (s.o.), spielt bei der Bewertung eines Antrags nach EU-Verordnung 1829/2003/EG die **EFSA** eine zentrale Rolle. Sie erhält die Antragsunterlagen von der zuständigen nationalen Behörde und führt eine wissenschaftliche Begutachtung durch. Im Zuge der Sicherheitsbewertung sollte die EFSA jedoch wiederum die zuständige nationale Behörde konsultieren, die den Fall ebenfalls prüft und innerhalb von drei Monaten eine unverbindliche Bewertung vornimmt (Europäische Kommission 2003b, Art. 6 §4).

Innerhalb von 6 Monaten erarbeitet die EFSA zu dem Antrag eine Stellungnahme, die sie sowohl dem Antragsteller als auch der EU-Kommission und den anderen EU-Mitgliedstaaten mitteilt. Auf Grundlage der von der EFSA vorgenommenen Sicherheitsbewertung empfiehlt die EU-Kommission dem mit Vertretern der Mitgliedsländer besetzten ‚Ausschuss für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit‘ die Zulassung oder die Ablehnung des Antrags. Entspricht diese Empfehlung nicht der Bewertung der EFSA, hat die EU-Kommission dies zu begründen. Der Ausschuss für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit entscheidet letztlich über den Antrag. Ein Beschluss erfordert eine qualifizierte Mehrheit unter den Vertretern der Mitgliedsländer (siehe Abb. 3).

Laut der EU-Lebensmittelverordnung 178/2002 sind die nationalen Regelungsbehörden und die EFSA bei anhaltenden Meinungsverschiedenheiten bezüglich der Sicherheitsbewertung von GVO angehalten zu kooperieren, um entweder zu einem Einvernehmen zu gelangen oder um die zu Grunde liegenden Unklarheiten der wissenschaftlichen Sachverhalte oder der zur Verfügung stehenden Daten aufzudecken und zu publizieren (Europäische Kommission 2002, Art. 30; Friends of the Earth Europe 2004).

Beim integrativen Verfahren entspricht das Vorgehen der Verordnung 1829/2003/EG, wobei gleichzeitig die Umweltverträglichkeit geprüft wird. **Der EFSA obliegt beim integrativen Verfahren die wissenschaftliche Bewertung**, sie kann aber nationale Behörden mit der Durchführung einiger Untersuchungen beauftragen.

GV-Produkte (Lebens- und Futtermittel), die vor dem 18. April 2004 bereits für den europäischen Markt zugelassen waren, dürfen unabhängig von der neuen Verordnung 1829/2003 weiter verarbeitet und vertrieben werden, wenn sie vor dem 18. Oktober 2004 bei der Europäischen Kommission gemeldet wurden. Die Erneuerung der Zulassung ist innerhalb von neun Jahren nach dem erstmaligen Inverkehrbringen, jedoch nicht eher als drei Jahre nach dem Geltungsbeginn der EU-Verordnung 1829/2003/EG, zu beantragen.

Nach der ‚**Schutzklausel**‘ (Art. 23 der EU-Richtlinie 2001/18/EG) haben Mitgliedsländer das Recht, die Vermarktung eines Produkts zu stoppen. Dies kann allerdings nur auf Grundlage von neuartigen oder zusätzlichen wissenschaftlichen Erkenntnissen geschehen, die zum Zeitpunkt der Genehmigungserteilung nicht bereits zugänglich waren. Gibt diese zusätzliche Information begründeten Anlass zu der Sorge, dass von einem zugelassenen Produkt ein Risiko für die menschliche Gesundheit oder die Umwelt ausgehen

könnte, kann ein EU-Mitgliedsstaat den weiteren Anbau oder Vertrieb dieses Produkts innerhalb seiner Landesgrenzen beschränken oder verbieten.

Österreich hat z.B. in den Jahren 1997, 1999 und 2000 unter Berufung auf die Schutzklausel das Inverkehrbringen der in der EU bereits zugelassenen Maissorten Bt176, MON 810 und T 25 verboten.

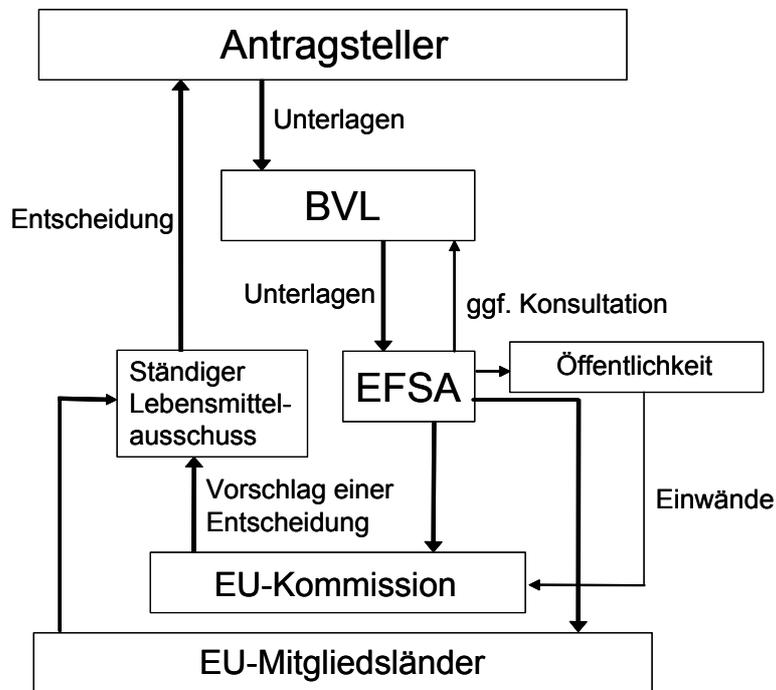


Abb. 3: Schematische Darstellung des Zulassungsverfahrens für ein Inverkehrbringen von GVO nach der Verordnung 1829/2003/EG, vereinfacht (<http://www.transgen.de>)

4.5 Monitoring laut Richtlinie 2001/18/EG

Die EU-Richtlinie 2001/18/EG schreibt vor, GVO oder GVO-haltige Produkte nach dem Inverkehrbringen zu überwachen. Die Beobachtung nach dem Inverkehrbringen hat zum einen das Ziel, die Ergebnisse und daraus abgeleiteten Annahmen der UVP zu verifizieren. Da GVO oder GVO-haltige Produkte nach der Richtlinie 2001/18/EG nur für den Markt zugelassen werden dürfen, wenn von ihnen keine schädlichen Auswirkungen auf Mensch oder Umwelt zu erwarten sind, besteht eine Aufgabe des Nachzulassungsmonitorings darin, diese Annahme der Unbedenklichkeit zu überprüfen. Zum anderen ist das Ziel des Monitorings, im Vorfeld nicht erkannte Risiken für die menschliche Gesundheit oder die Umwelt zu ermitteln und ggf. nicht erwartete schädliche Auswirkungen der GVO oder GVO-haltigen Produkte festzustellen (vgl. Züghart & Breckling 2003, Bundestag 2004).

Entsprechend werden **zwei Formen des Monitorings** unterschieden: **die fallspezifische** und die **allgemeine überwachende Beobachtung** (siehe Box 3). Die fallspezifische Beobachtung wird zur konkreten Untersuchung von Hypothesen durchgeführt, die aus den Ergebnissen der experimentellen UVP abgeleitet wurden. Sie sind von begrenzter Dauer und haben das Ziel, die Auswirkungen des Inverkehrbringens eines spezifischen GVO oder GVO-

haltigen Produkts zu untersuchen. Die allgemeine Beobachtung dient hingegen der Klärung der Frage, ob kumulative langfristige Auswirkungen auftreten, die im Vorfeld nicht vorhergesehen wurden und für die es während der UVP keine konkreten Hinweise gab. Die allgemeine Beobachtung soll sowohl auf Ursache-Wirkungshypothesen aufbauen als auch Phänomene und Prozesse untersuchen, die nicht in derartige Hypothesen einbezogen werden. Es soll sich also um ein breit angelegtes Überwachungsprogramm handeln, das möglichst viele Veränderungen in der Umwelt erfasst, um nicht vorhergesehene Auswirkungen zu identifizieren und nachträglich mit dem Inverkehrbringen von GVO oder GVO-haltigen Produkten in Zusammenhang bringen zu können (vgl. Züghart & Breckling 2003).

Box 3: Fallspezifisches und allgemeines Monitoring von gentechnisch veränderten Organismen

Fallspezifisches Monitoring

Potenziell schädliche sofortige, direkte, indirekte und kumulative Auswirkungen, die sich im Rahmen der Umweltrisikoprüfung im Zulassungsverfahren angedeutet haben, sollen durch ein fallspezifisches Monitoring abgeklärt werden.

Der Zeitraum ist ausreichend lang zu wählen, in Abhängigkeit von den Eigenschaften des GVO und den zu beobachtenden potentiellen Auswirkungen. Die Überwachung wird solange dauern, bis entschieden werden kann, ob nachteilige Wirkungen auftreten.

Allgemeines Monitoring

Das allgemeine Monitoring ist dem Vorsorgeprinzip geschuldet. Es sollen unvorhergesehene Effekte, die so nicht in der Umweltrisikoprüfung prognostiziert wurden, erfasst werden: Mögliche indirekte, spätere und/ oder kumulative (z.B. durch wiederholte Freisetzungen und Wechselwirkungen) und langfristige (z.B. langfristige Einwirkdauer) schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt. Dabei kann es sich sowohl um kulturartenspezifische als auch um kulturarten-unspezifische Effekte handeln. Sie sollen nach EU-Leitlinien zum Monitoring über einen längeren Zeitraum vorgenommen werden.

Definitionen der Bund/Länder AG (BLAG) „Konzept für das Monitoring von gentechnisch veränderten Organismen (GVO)“ (2003)

Umsetzung

Einem Antrag auf Inverkehrbringen eines GVO muss ein Überwachungsplan gemäß Anhang VII der Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG beiliegen. In diesem muss die Laufzeit des Monitorings festgelegt sein. Dieser Zeitraum muss nicht mit der Dauer der Genehmigung übereinstimmen. Der Antragsteller hat nach dem Inverkehrbringen dafür Sorge zu tragen, dass Überwachung und Berichterstattung nach den in der Genehmigung festgelegten Bedingungen erfolgen. Berichte müssen an die EU-Kommission und an die zuständigen Behörden der Mitgliedsstaaten gesandt werden. Die zuständige Behörde, bei der der ursprüngliche Antrag einging, kann nötigenfalls nach einem ersten Überwachungszeitraum den Überwachungsplan

anpassen. Sind nach der Erteilung der Genehmigung neue Informationen hinsichtlich möglicher Gefahren verfügbar geworden, müssen erforderliche Schutz-Maßnahmen vom Antragsteller getroffen werden. Die Ergebnisse der Überwachung werden der Öffentlichkeit bekannt gegeben. Im Anhang VII der Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG finden sich folgende Vorgaben für einen Überwachungsplan:

- Er sollte auf den Einzelfall ausgerichtet sein und Ergebnisse bereits durchgeführter UVP einbeziehen.
- Es ist ein allgemeines Monitoring und nötigenfalls ein fallspezifisches Monitoring vorzusehen. Für das allgemeine Monitoring könnte ggf. von etablierten Routineüberwachungsprogrammen Gebrauch gemacht werden (Überwachung landwirtschaftlicher Kulturformen, des Pflanzenschutzes, der Tier- und Humanarzneimittel). Dabei ist klarzustellen, wie die relevanten Informationen dem Inhaber der Zustimmung zugänglich gemacht werden.
- Die systematische Überwachung des GVO und die Auswertung der Daten soll durch den Überwachungsplan erleichtert werden.
- Es sollte im Überwachungsplan eine Aufgabenverteilung festgelegt sein, aus der hervorgeht, wer für die Einrichtung und ordnungsgemäße Durchführung des Überwachungsplans verantwortlich ist und wie ermittelte schädliche Auswirkungen auf Schutzziele an Behörden und den Inhaber der Zustimmung übermittelt werden.

In den Leitlinien zur Ergänzung des Anhangs VII der Richtlinie 2001/18/EG (Entscheidung des EU-Rates 2002/811/EG), kurz **EU-Leitlinien zum Monitoring**, werden die Ziele und allgemeine Grundprinzipien der EU-Freisetzungsrichtlinie zum Monitoring, sowie der Aufbau des Überwachungsplans konkretisiert.

5 Herstellung und Anwendung von GVP

Die Methoden zur Übertragung von Fremd-DNA in eine Pflanzenzelle (**Transformation**) können zwei Technologiegruppen zugeordnet werden: Den direkten, physikalischen (biolistischen) und den indirekten, vektorvermittelten Techniken. Partikelbeschuss, Elektroporation und Mikroinjektion sind Beispiele für den direkten Transfer. Für den indirekten Transfer stehen verschiedene Vektoren zur Verfügung. Am häufigsten werden modifizierte Varianten des Ti-Plasmids aus dem Bodenbakterium *Agrobacterium tumefaciens* verwendet (s.u.).

Da die indirekten DNA-Transfermethoden zur Herstellung transgener Pflanzen auf natürlich vorkommenden Mechanismen des horizontalen Gentransfers (HGT) basieren (s. Kapitel 6.5), erscheint eine Darstellung dieser Methoden im Kontext der Bewertung des Risikopotentials von GVP besonders relevant. Auf eine detaillierte Beschreibung der direkten DNA-Übertragungstechniken wird dagegen an dieser Stelle verzichtet (siehe hierzu z.B. Van den Eede *et al.* 2004).

5.1 *Agrobacterium tumefaciens*-vermittelter Gen-Transfer

A. tumefaciens, ein natürlich vorkommendes Bodenbakterium, induziert bei infizierten Pflanzen einen Tumor (Wurzelhalsgalle), in dem es einige seiner Gene in das Genom der Wirtspflanze überträgt. Diese Eigenschaft von *A. tumefaciens* wird für die gentechnische Manipulation von Pflanzen genutzt.

Die Übertragung bakterieller Gene in Zellen der Wirtspflanze erfolgt bei *A. tumefaciens* durch das **Ti-Plasmid** („tumorinduzierend“). Dieses etwa 200kb große Plasmid enthält einen DNA-Abschnitt, der nach der Infektion der Pflanze ausgeschnitten und in die Pflanzenzelle übertragen wird. Nach dem Transport in den Zellkern erfolgt eine unspezifische chromosomale Insertion dieses als **T-DNA** (Transfer DNA) bezeichneten DNA-Fragments. Die T-DNA kodiert Proteine, die für die Synthese von pflanzlichen Wachstumshormonen (Auxin, Cytokinin) und Opinen notwendig sind und wird von den repetitiven Sequenzen LB und RB (left bzw. right border) eingerahmt. Nach der Transformation werden entsprechende Opine in der Pflanzenzelle synthetisiert, die von *A. tumefaciens* wiederum als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle genutzt werden, während die zusätzliche Produktion von Auxin und Cytokinin zum Tumorphänotyp führt (Hooykaas & Schilperoort 1992, Van den Eede *et al.* 2004, Tzfira *et al.* 2004).

Für das Ausschneiden, den Transport und die Integration der T-DNA sind verschiedene Proteine erforderlich, die teilweise in der Virulenzregion des Ti-Plasmids und teilweise im Kerngenom des Bakteriums kodiert sind. Die Gene der Virulenzregion (*vir* Gene) sind außerhalb der T-Region lokalisiert und werden unabhängig von dieser exprimiert. Die 25bp großen repetitiven Sequenzen LB und RB, welche die linke und rechte Grenze der T-Region darstellen, sind dabei die einzigen *cis*-Elemente, die für den Transfer benötigt werden, d.h. jede DNA, die sich dazwischen befindet, wird übertragen. Diese Tatsache liegt der Entwicklung des **binären Vektorsystems** zu Grunde, das heute als Standardtechnik für die Transformation von Pflanzenzellen eingesetzt wird (Van den Eede *et al.* 2004).

Das binäre System setzt sich aus dem eigentlichen **Vektor-Plasmid** und einem **Helfer-Plasmid zusammen**. Ersteres wird auch als **binäres Plasmid** bezeichnet. Es besitzt eine Integrationsregion mit einer multiplen Klonierungsstelle, welche wiederum von den für die Integration ins Wirtsgenom wichtigen repetitiven Sequenzen LB und RB flankiert wird. Das DNA-Fragment, das in eine pflanzliche Zelle übertragen werden soll, wird gemeinsam mit einem starken eukaryotischen Promotor und einem Terminator in die **Integrationsregion** kloniert. Darin enthalten ist außerdem ein Marker, der es erlaubt, erfolgreich transformierte Pflanzenzellen zu selektieren. Des Weiteren sind auf dem binären Vektor ein bakterieller Replikationsursprung (ORI) und ein weiterer Selektionsmarker kodiert. Diese Elemente befinden sich außerhalb der Integrationsregion und dienen der Vermehrung des Plasmids in Bakterien bzw. der Selektion solcher Bakterienzellen, die den binären Vektor enthalten (Veluthambi *et al.* 2003, Van den Eede *et al.* 2004).

Die zweite Komponente des binären Systems wird als Helfer-Plasmid bezeichnet. Es handelt sich dabei um ein Ti-Plasmid, auf dem die für den DNA-Transfer notwendigen *vir*-Genen kodiert sind, aus dem jedoch die T-Region entfernt wurde. Stämme von *A. tumefaciens*, die diese als 'entschärft' bezeichnete Version des Ti-Plasmids tragen, sind nicht mehr in der Lage, eine Tumorbildung zu induzieren, da die T-DNA fehlt. Üblicherweise wird der binäre Vektor in *E. coli* vermehrt und anschließend in einen *A. tumefaciens*-Stamm eingeschleust, der das Helfer-Plasmid besitzt. Dies kann z.B. durch Elektroporation oder durch Konjugation der beiden Bakterienstämme erfolgen (siehe Kapitel 6.5). *Agrobacterium*-Zellen, die beide Komponenten des Vektorsystems besitzen, werden selektiert und anschließend für die Infektion der zu transformierenden Pflanzenzellen genutzt.

Der Mechanismus, nach welchem die Integration der T-DNA in das Wirtsgenom verläuft, ist nicht vollständig geklärt. Es wird angenommen, dass es sich um einen Prozess „illegitimer Rekombination“ handelt, d.h. einer Paarung nicht-homologer DNA-Stränge. Ein solcher Vorgang wird durch kurze übereinstimmende DNA-Abschnitte auf den beteiligten DNA-Strängen erleichtert, die homolog paaren und dadurch als homologe Rekombinations-Anker fungieren können (De Vries & Wackernagel 2002, Prudhomme *et al.* 2002). Es wird davon ausgegangen, dass bei einem *A. tumefaciens*-vermittelten DNA-Transfer ein einzelnes Bakterium nur ein T-DNA-Molekül in eine Pflanzenzelle überträgt. Trotzdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine mehrfache Kopienzahl des Fremdgens in einer transgenen Zelle auftritt. Ein Grund dafür könnte sein, dass eine Pflanzenzelle gleichzeitig durch mehrere Bakterien infiziert wird. Die verschiedenen Genkopien sind in einem solchen Fall entweder auf demselben oder auf unterschiedlichen Chromosomen lokalisiert (Van den Eede *et al.* 2004).

Erfolgreich transformierte Pflanzenzellen werden in der Regel mit Hilfe von gemeinsam mit dem Zielgen übertragenen Antibiotika- oder Herbizidmarkern selektiert. Dazu werden die Zellen (üblicherweise in Form von Blattscheiben) auf ein Nährmedium gelegt, welches das entsprechende Antibiotikum oder Herbizid enthält. Durch Zugabe von Phytohormonen können aus den Zellen vollständige Pflanzen regeneriert werden, deren Zellen jeweils das eingeschleuste Transgen enthalten.

Ein weiteres Bakterium der Gattung *Agrobacterium*, *A. rhizogenes* wird ebenfalls zur Transformation von Pflanzen eingesetzt. Der DNA-Transfermechanismus ist im Wesentlichen

mit der Übertragung durch das Ti-Plasmid von *A. tumefaciens* identisch. *A. rhizogenes* besitzt ein entsprechendes, als Ri-Plasmid bezeichnetes Plasmid. Kürzlich ist von erfolgreichen Transformationsversuchen mit Bakterien der Gattungen *Rhizobium*, *Sinorhizobium* und *Mesorhizobium* berichtet worden, in die zuvor ein Ti-Plasmid von *A. tumefaciens* übertragen worden war (Broothaerts *et al.* 2005). Diese alternativen Gattungen stehen der Gattung *Agrobacterium* phylogenetisch sehr nah, bzw. sind evtl. sogar mit ihr zusammenzufassen. Diese Möglichkeit wird wenigstens für *Rhizobium* diskutiert (Broothaerts *et al.* 2005, Chilton 2005). Die Frequenzen, mit denen Pflanzenzellen durch *Rhizobium*, *Sinorhizobium* oder *Mesorhizobium* transformiert wurden, waren in allen Fällen deutlich niedriger als die Vergleichswerte von *A. tumefaciens*.

Vor-/Nachteile der Agrobacterium-basierten DNA-Transfermethoden

Eine *Agrobacterium*-basierte DNA-Übertragung verläuft in der Regel zielgerichteter und kontrollierter als ein direkter, physikalischer Transfer. Die indirekte Übertragung durch *Agrobacterium* stellt sicher, dass die **Integration** der Fremd-DNA **in die chromosomale DNA** der Zelle erfolgt. Bei dem Transfer mittels physikalischer Methoden kann es hingegen auch zur Integration der DNA in die Organellen der Pflanze (Chloroplasten und Mitochondrien) kommen. Des Weiteren wird im Gegensatz zur biolistischen Methode durch einen *Agrobacterium*-basierten Transfer kein Gewebe zerstört.

Als kritisch zu bewerten ist jedoch, dass bei einer *Agrobacterium*-vermittelten Übertragung ein **Einbau zusätzlicher Vektor-DNA** ins Wirtsgenom stattfinden kann (vgl. Veluthambi *et al.* 2003). Die Integration von DNA des ‚Vektor-Rückgrats‘ in das Genom der Zielzelle wird als ‚long transfer‘ bezeichnet und ist aufgrund der dadurch entstehenden größeren Homologie zwischen der rekombinanten DNA und prokaryotischer Genome (vgl. Kapitel 6.5) und aufgrund möglicher unerwarteter Effekte (s. Kapitel 6.9) unerwünscht. Dieser ‚long transfer‘ kann jedoch unter Anwendung verschiedener Methoden vermieden werden (siehe Kapitel 5.4).

Trotz dieses Nachteils stellt die *Agrobacterium*-vermittelte, indirekte Gen-Übertragung grundsätzlich die bevorzugte Methode dar. Es handelt sich um ein gut zu handhabendes und zu einem hohen Maß aufgeklärtes System, mit dem hohe Transformationsfrequenzen erreicht werden können. Die definierten Enden des inserierten Fragments (LB und RB) und die Tatsache, dass dieses gemeinsam mit einem Selektionsmarker übertragen wird, erhöhen ebenfalls die Praktikabilität des Systems. Darüber hinaus tritt ein ‚Silencing‘ des Transgens, wie es u.a. durch eine erhöhte Kopienzahl in einer Zelle verursacht werden kann, relativ selten ein (Veluthambi *et al.* 2003).

Allerdings war die Anwendung der *Agrobacterium*-vermittelten Methodik lange Zeit durch das Wirtsspektrum von *Agrobacterium* eingeschränkt. Anfangs ließen sich mit Hilfe dieser Technik nur zweikeimblättrige Pflanzen transformieren. Inzwischen konnte das Verfahren auf ein weites Spektrum einkeimblättriger Pflanzen ausgedehnt werden und so gelang auch die *Agrobacterium*-vermittelte Transformation von so bedeutenden Kulturpflanzen wie Reis, Weizen, Mais, Hirse und Gerste (vgl. Veluthambi *et al.* 2003). Für einige Arten mit **geringem Regenerationspotential** und für die **Transformation von Organellen** (Chloroplasten, Mitochondrien) muss jedoch auf alternative Methoden zurückgegriffen werden.

5.2 Chloroplasten-Transformation

Chloroplasten können durch Partikelbeschuss transformiert werden. **Die Erzeugung transgener Chloroplasten ermöglicht eine vielfach gesteigerte Expression des inserierten Transgens in der Zielzelle.** Da ca. 10-100 Chloroplasten pro Zelle vorliegen und 10 bis 100 Plastidengenome pro Chloroplast, kann eine Zelle nach erfolgreicher Transformation dieser Organellen und nach Selektion auf Homoplasmie das Transgen in sehr hoher Kopienzahl besitzen (Daniell *et al.* 2002). Im Gegensatz dazu liegt ein chromosomales Transgen mit einer maximalen Zahl von 10 Kopien pro Zelle vor (Kay *et al.* 2002). Ein weiterer Vorteil der Chloroplasten-Transformation liegt darin, dass polycistronische mRNAs meist effizient translatiert werden. 'Polycistronisch' bezeichnet ein mRNA-Molekül, welches die kodierende Regionen mehrerer Gene enthält, aber von einem Promotor aus transkribiert wird. Sie sind typisch für prokaryotische Gene, während in Eukaryoten ein Gen in der Regel jeweils in eine einzelne mRNA übersetzt wird (in diesem Fall spricht man von monocistronischer mRNA). Darüber hinaus tritt eine Inaktivierung von inserierten Genen (Gene Silencing) bei einer Transformation des Chloroplastengenoms seltener als bei einer Manipulation des Kerngenoms ein.

Das Einschleusen von Fremd-Genen ins Chloroplastengenom bietet sich auch als **Sicherheitsmaßnahme** an, wenn eine Ausbreitung von Transgenen durch die Hybridisierung mit Kreuzungspartnern verhindert werden soll (Daniell *et al.* 1998, Daniell *et al.* 2005). **In den meisten Fällen werden Chloroplasten ausschließlich maternal vererbt**, d.h. der Pollen einer Pflanze mit manipuliertem Organellengenom ist in den meisten Fällen frei von Transgenen. Für fast alle Angiospermen ist dies die Regel, z.B. für Mais (*Zea mays*), Soja (*Glycine max*) und die Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana*), nicht jedoch für Nadelhölzer. Diese vererben Chloroplasten hauptsächlich über den Pollen. Auch die Luzerne (*Medicago sativa*) besitzt ein abweichendes Vererbungsmuster. In diesem Fall geben beide elterlichen Organismen Chloroplasten an die Nachkommen weiter. Eine derartige biparentale Vererbung der Chloroplasten ist gelegentlich auch für Reis (*Oryza sativa*) und für einige Erbsen-Sorten (*Pisum sativum*) beobachtet worden. Auch für Tabak (*Nicotiana tabacum* und *N. plumbaginifolia*) wurde die strikt maternale Vererbung in Frage gestellt (Maliga 2004, Van den Eede *et al.* 2004).

Trifft eine ausschließlich maternale Vererbung von Chloroplasten auf eine Pflanze zu, kann durch die Manipulation des Chloroplasten- statt des Kerngenoms ein vertikaler Genfluss (von der Elterngeneration zu den Nachkommen) verhindert werden. Das Potential für einen erfolgreichen horizontalen Gentransfer von der transgenen Pflanze zu assoziierten Mikroorganismen oder Darmbakterien ist in einem solchen Fall allerdings aufgrund der hohen Kopienzahl des Transgens pro Zelle und der größeren Übereinstimmungen zwischen den Genomen der Plastiden und Prokaryoten erhöht. Aufgrund der Ähnlichkeit der Genome ist zu erwarten, dass Chloroplasten auch Gene und Regulationssequenzen (Promotoren) enthalten, die von Bakterien exprimiert werden bzw. in diesen aktiv sein können (Nielsen *et al.* 1998). **Die Organellentransformation zum Zweck der Risikoeindämmung ('containment strategy') ist daher umstritten** (Nielsen *et al.* 1998, Kay *et al.* 2002, Heritage 2005).

5.3 Akkumulation von mehreren Transgenen („Gene Stacking“)

Ein ‚Gene Stacking‘ kann entweder ungewollt, z.B. durch mehrfache unkontrollierte Hybridisierung, oder gezielt geschehen. Für die beabsichtigte Akkumulation von Transgenen in einer Zielpflanze stehen verschiedene **Methoden** zur Verfügung, u.a.:

- sexuelle Kreuzung einfach-transgener Pflanzen, die unabhängig voneinander transformiert wurden (z.B. Hiatt & Bowdish 1998),
- Einschleusung der verschiedenen Gene als individuelle Transkriptionseinheiten mit Hilfe eines oder mehrerer Plasmide,
- Integration der gewünschten kodierenden Abschnitte in einer einzigen Transkriptionseinheit (polycistronische Konstrukte) (Hunt & Maiti 2001).

Die gezielte Ko-Expression verschiedener Transgene wird z.B. für die **Synthese komplexer Fremd-Moleküle** in Pflanzen angestrebt. Bereits Ende der Neunziger Jahre gelang eine solche Ko-Expression in Tabak mit dem Resultat, dass die transgenen Pflanzen korrekt zusammengesetztes sekretorisches Immunglobulin A (sIgA) produzierten (Hiatt & Bowdish 1998). Ein bekanntes Beispiel einer Pflanze mit mehreren Transgenen ist der **‚Goldene Reis‘**. Für die Produktion von Beta-Carotin (oder Provitamin A) im Endosperm des Reiskorns war das Einbringen von drei verschiedenen Genen notwendig, die an der Biosynthese des Provitamin A beteiligt sind (Ye *et al.* 2000). Kommerziell werden gegenwärtig in zunehmendem Maße Mais- und Baumwollsorten angebaut, die aufgrund des Besitzes von mindestens zwei Transgenen sowohl herbizid- als auch insektenresistent sind (James 2004). Auch für die Herstellung von rekombinanten Antikörpern, die aus nur einer Proteineinheit bestehen („single chain antibodies“), kann es notwendig oder hilfreich sein, zusätzliche Proteine in derselben Zelle zu exprimieren, die Einfluss auf die korrekte Faltung oder die Zusammensetzung des Produkts nehmen (z.B. Chaperone) (Hunt & Maiti 2001). Des Weiteren wird in insektizidresistenten Pflanzen teilweise die Expression von mehreren Toxinen angestrebt (s. Kapitel 0).

Problematisch ist eine unbeabsichtigte und unkontrollierte Akkumulation von Transgenen in Pflanzen aus mehreren Gründen. Wie u.a. das prominente Beispiel des **dreifach-herbizidresistenten Raps** (Hall *et al.* 2000) demonstriert, können Pflanzen mit mehreren Transgenen durch Genfluss entstehen (siehe auch 6.1). Das Resultat eines solchen Vorgangs sind transgene Pflanzen mit einer Neukombination von verschiedenen Fremdgenen, die im Freiland auftreten und sich möglicherweise vermehren und ausbreiten können, ohne jedoch zuvor einer Sicherheitsbewertung unterzogen worden zu sein (vgl. Middelhoff 2004). Diese Tatsache ist von großer Bedeutung, insbesondere angesichts der Vielzahl von möglichen Genkombinationen und der Ungewissheit darüber, welche unerwarteten Effekte eine Akkumulation mehrerer Gene in einer Pflanze zur Folge haben könnte (siehe auch 6.9).

5.4 Molekularbiologische Sicherheits-Techniken

Neben der Möglichkeit der Organellentransformation (s.o.) bestehen weitere molekularbiologische Techniken, die die Wahrscheinlichkeit der Ausbreitung von Transgenen oder negativer Auswirkungen der Transgen-Expression verringern können.

5.4.1 Markergen-Entfernung

Bei der Erzeugung von GVO werden Selektionsmarker eingesetzt, die eine positiv verlaufene Transformation der Pflanzenzelle erkennen lassen. Für die weitere Vermarktung und Kultivierung der Pflanzen haben diese Selektionsmarker keine Relevanz. Das **Entfernen von Selektionsmarkern** aus gentechnisch veränderten Pflanzen verhindert unbeabsichtigten Transfer dieser Fremdgene in die Umwelt und erhöht so die Sicherheit des Verbrauchers. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass nach erfolgreicher Entfernung des Selektionsmarkers dieser für eine weitere Transformation der Pflanze erneut zur Verfügung steht. Grundsätzlich können drei **Methoden** zur Entfernung von Selektionsmarkern unterschieden werden:

- Ausschneiden der transgenen DNA durch ortsspezifische Rekombinasen,
- Transposonvermittelte Neu-Integration und/ oder Ausschneiden des Transgens,
- Ko-Transformation von nicht-selektiven Genen und Markergenen mit anschließender Segregation.

Diese Systeme eignen sich je nach Anwendung mehr oder weniger für die unterschiedlichen Pflanzen.

Ausschneiden der transgenen DNA durch ortsspezifische Rekombinasen

Bei der ortsspezifischen Rekombination ('site-specific-recombination') nutzt man die Kenntnis von **einfachen Rekombinationssystemen aus Bakterien und Pilzen**. Diese beruhen auf einzelnen Enzymen (z.B. Cre, FLP, R), die spezifische Zielsequenzen (*lox*, *FRT*, *RS*) erkennen und die DNA an diesen Stellen schneiden (Abb. 4; vgl. dazu die Übersichten in Ow 2002; Puchta 2003, Miki & McHugh 2004, Goldstein *et al.* 2005). Zu den für die Anwendung in Pflanzen beschriebenen Systemen gehören:

- CRE/*lox* (aus dem Bakteriophagen P1),
- FLP/*frt*-System (aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*),
- R/*RS*-System (aus der Hefe *Zygosaccharomyces rouxii*),
- Gin Rekombinase System des Mu-Phagen (Maeser & Kahmann 1991).

Alle oben aufgeführten ortsspezifischen Rekombinationssysteme beruhen darauf, dass ein Markergen von definierten identischen Sequenzmotiven flankiert wird, die von den jeweiligen Rekombinasen erkannt werden. Das bekannteste ist das Cre/*lox*-System. Dale & Ow (Dale & Ow 1991) klonierten als Selektionsmarker das *hptII* Gen zwischen zwei *lox*-Erkennungssequenzen in eine T-DNA. In der ersten Runde der *Agrobacterium*-vermittelten Transformation wurde nur der Marker in die Pflanzenzelle gebracht. Die für das Ausschneiden notwendige Rekombinase wurde in einer zweiten Transformation eingefügt. Die in der Pflanze aktive CRE-Rekombinase zirkularisierte den von den *lox*-Erkennungssequenzen flankierten DNA-Abschnitt, was zum Ausschneiden des transgenen Selektionsmarkers führte. Nachteilig dabei ist der große Zeitaufwand durch zweimaliges Transformieren der Pflanzenzellen. Eine Verbesserung dieses Systems erfolgte durch Zuo *et al.* (Zuo *et al.* 2001). Ihre Methode beruht auf der gleichzeitigen Integration von Selektionsmarker und Rekombinase innerhalb der *lox*-Erkennungssequenzen unter der Kontrolle eines **induzierbaren Promotors**. Das Zielgen, in dieser Studie GFP ('green

fluorescent protein'), stand nicht unter der Kontrolle dieses Promotors (Zuo *et al.* 2001). Nach der Induktion des Promotors erfolgte das Ausschneiden des die CRE-Rekombinase und das Markergen kodierenden DNA-Abschnittes und die Wiederherstellung eines funktionalen DNA-Konstrukts mit dem Zielgen unter der Kontrolle des induzierbaren Promotors (Miki & McHugh 2004).

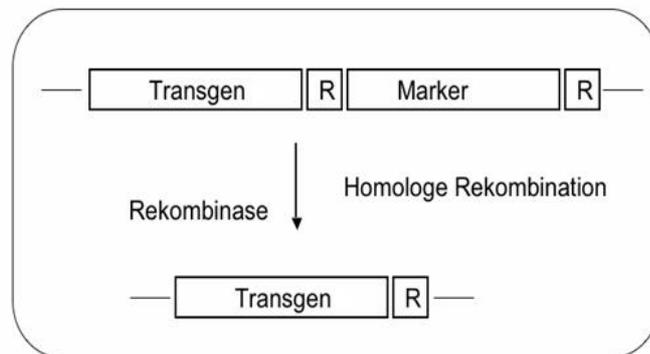


Abb. 4: Ausschneidens eines Markergens mittels ortsspezifischer Rekombinasen. Die definierten identischen Sequenzmotive (R) werden von der Rekombinase erkannt und es erfolgt das Ausschneiden des Markers (nach Puchta 2003).

Transposonvermittelte Neu-Integration und Entfernung des Selektionsmarkers

Neben der ortsspezifischen Rekombination werden auch die Eigenschaften von ‚springenden Genen‘ (**Transposons**) für das Entfernen von Markergenen genutzt. In Abb. 5 sind zwei mögliche Wege dargestellt. Zum einen kann durch diese Methode der Selektionsmarker ausgeschnitten werden, ohne erneut im Genom zu integrieren (Gorbunova & Levy 2000). Auf der anderen Seite ist es möglich, das Zielgen durch die Aktivität der Transposase an eine andere Stelle im Genom springen zu lassen (Goldsbrough *et al.* 1993, Yoder & Goldsbrough 1994). Damit werden die nebeneinander liegenden DNA-Abschnitte, welche Transgen und Marker kodieren, getrennt. Durch anschließende Kreuzung und Segregation der transformierten Pflanzen können Individuen selektiert werden, die nur noch das Transgen enthalten. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass das Transgen an verschiedenen Stellen im Genom integriert. Somit können Pflanzen regeneriert werden, die ein unterschiedliches Expressionsverhalten zeigen (Puchta 2003).

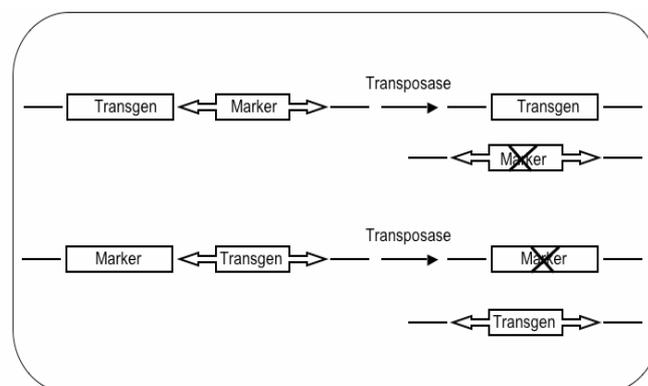


Abb. 5: Möglichkeiten zur Entfernung von Markergenen durch Transposasen (Puchta 2003).

Ko-Transformation von nicht-selektiven Genen und Markergenen mit anschließender Segregation

Die Ko-Transformation basiert auf der Übertragung von T-DNA durch *A. tumefaciens* bzw. *A. rhizogenes* (s.o.; Depicker *et al.* 1985, Mcknight *et al.* 1987, sowie die Übersicht in Miki & McHugh 2004), wobei das Zielgen und der Selektionsmarker gemeinsam in die Pflanze übertragen werden. **Im Allgemeinen erfolgt die Insertion der beiden T-DNA Fragmente an unterschiedlichen Orten im Genom**, so dass bei einer nachfolgenden Kreuzung und Segregation nur die Nachkommen (F₁-Generation), die das Zielgen ohne den Selektionsmarker tragen, weiter verwendet werden.

In der Literatur sind auch Fälle beschrieben worden, in denen die beiden T-DNA Fragmente in enger Nachbarschaft zueinander integrierten. Dies führte zu dem Schluss, dass sowohl die Wahl des *Agrobacterium*-Stammes als auch die Eigenschaft der jeweiligen Pflanzenart einen Einfluss auf die Insertion der beiden T-DNA Fragmente hat (Deblock & Debrouwer 1991). Für die Ko-Transformation sind verschiedene Methoden etabliert worden, die im Folgenden zusammengefasst sind (Miki & McHugh 2004, Goldstein *et al.* 2005).

- Verwendung von zwei verschiedenen Bakterienstämmen mit unterschiedlichen binären Vektoren, die in Mischkultur eine Pflanze infizieren.
- Es wird nur ein Bakterienstamm eingesetzt, der beide binäre Vektoren trägt.
- Die zu transformierende T-DNA befindet sich an zwei unterschiedlichen Positionen des gleichen binären Vektors.

Die Häufigkeit, mit der bei der Ko-Transformation Zielgen und Selektionsmarker im Anschluss separiert werden können, ist bei allen drei Methoden in etwa gleich (Goldstein *et al.* 2005). Die Methode der Ko-Transformation hat jedoch einen Nachteil. So war es bisher nur in einem Fall möglich (Herve *et al.* 1993), die Ko-Transformation von zwei Plasmiden durch die Anwendung von biolistischen Transformationenmethoden (Partikelbeschuss) zu erzielen (Goldstein *et al.* 2005). Diese Methode der Markergen-Entfernung kann damit nur bei Pflanzen eingesetzt werden, die durch *Agrobacterium* transformiert werden können.

5.4.2 Vermeidung von „Rückgrat-DNA“

Mittels PCR-Technik und Southern-blot Analysen können solche Pflanzen, die einen Teil des Vektors integriert haben, erkannt werden. Hanson *et al.* (1999) konstruierten einen binären Vektor, mit dem Pflanzen selektiert werden können, in die ausschließlich T-DNA übertragen wurde. Dabei nutzten sie die Tatsache, dass die T-DNA von rechts nach links aus dem Vektor ausgeschnitten wird. Sie fügten links der LB-Sequenz ein modifiziertes *barnase* Gen in den Vektor ein, das nach Expression in der Pflanze letale Folgen hat (Hanson *et al.* 1999). Somit können nur solche Pflanzen nach der Transformation heranwachsen, bei denen die Integration der T-DNA regulär erfolgte.

5.4.3 Induzierbare oder gewebespezifische Promotoren

In der Regel werden Fremd-Gene in einer transgenen Pflanze durch starke, konstitutive (d.h. in allen Geweben gleichmäßig aktive) Promotoren kontrolliert. Die gebräuchlichsten

Promotoren für eine starke Expression von Fremdgenen in Pflanzen entstammen dem pflanzenpathogenen Cauliflower Mosaic Virus (CaMV).

Gewebespezifische Promotoren könnten die Wahrscheinlichkeit von negativen Effekten auf Nicht-Zielorganismen verringern, da Gene, die durch einen entsprechenden Promotor kontrolliert werden, nur in bestimmten Pflanzenteilen exprimiert werden.

Induzierbare Promotoren sind nur unter spezifischen Bedingungen aktiv. Sie unterliegen der Kontrolle von Umwelteinflüssen und können z.B. durch Licht, Chemikalien oder Stress aktiviert werden. Damit kann beispielsweise auch eine Expression der Fremd-Proteine erst nach der Ernte erreicht werden. Diese Möglichkeit könnte als Sicherheitsmaßnahme für transgene Pflanzen der zweiten Generation (mit ‚output-traits‘ wie z.B. veränderten Inhaltsstoffen) in Frage kommen.

5.5 Transgene Pflanzen mit „Input-Eigenschaften“

Gentechnologische Veränderungen an kommerziell angebauten Pflanzen beschränken sich gegenwärtig weitestgehend auf die Merkmale Herbizid-, Insekten- und Krankheitsresistenz (siehe Tabelle 1 für in Europa angemeldete GVP). Die gentechnische Modifikation bei diesen Pflanzen betrifft also ‚Input-Eigenschaften‘. Hierunter fallen **alle Charakteristika einer Pflanze, welche die Kultivierung und den Ertrag beeinflussen**, nicht jedoch die Eigenschaften des Endprodukts (Vogel & Potthof 2003).

5.5.1 Herbizidresistente Pflanzen

Die während der vergangenen Jahrzehnte erreichten Ertragssteigerungen in der Landwirtschaft wurden u.a. durch den Einsatz von synthetischen Herbiziden ermöglicht (Duke 2003). Bevor transgene Pflanzen großflächig angebaut wurden, handelte es sich bei den eingesetzten Wirkstoffen meist um **selektive Herbizide**, die bestimmte Unkräuter vernichteten, die Feldfrucht und den entsprechenden Wirkstoff tolerierende Unkräuter jedoch weitgehend unbeschädigt ließen. Alternativ wurden **Totalherbizide** angewandt, die im Vorlauf, d.h. zu einem Zeitpunkt vor dem Erscheinen der angesäten Pflanzen, auf die Felder gebracht wurden, um Schäden an der Feldfrucht zu vermeiden.

Der Anbau herbizidresistenter (HR-) Sorten ermöglicht eine sehr **effektive Unkrautkontrolle**, da größere Mengen des entsprechenden Herbizids eingesetzt werden können, ohne dass Schädigungen an der Feldfrucht in Kauf genommen werden müssen. Eine maximale Unkrautkontrolle gelingt, wenn es sich um eine Resistenz gegen ein Breitbandherbizid handelt, das in einem solchen Fall in größeren Mengen und zu einem späteren Zeitpunkt im Jahr angewandt werden kann, als dies bei dem Anbau von Nicht-HR-Sorten der Fall ist (Nachlauf-Applikation).

Herbizidresistenz kann als **spontane Mutation** auftreten und anschließend entweder unbeabsichtigt (in Unkräutern) oder gezielt, während der **Züchtung von HR-Sorten**, selektiert werden. Herbizidresistenz verleihende Gene sind in der Vergangenheit mehrfach mittels nicht-gentechnischer Verfahren entweder von nah verwandten Arten in Kultursorten eingekreuzt oder in diesen direkt durch Mutagenese erzeugt worden. Die auf diese Weise

Tabelle 1: Liste der nach der Richtlinie 1829/2003/EG über gentechnisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel angemeldeten Sorten [GM Food Feed applications] nach EFSA: http://www.efsa.eu.int/science/gmo/gm_ff_applications/catindex_en.html

Anmeldungs-Nr.	Event/Art	Nahrungs-/ Futtermittel	Merkmal*
EFSA-GMO-UK-2004-01	NK 603 x MON 810 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR, HT
EFSA-GMO-NL-2004-02	1507 Mais	Nahrungsmittel	IR, HT
EFSA-GMO-DE-2004-03	MON 863 x MON 810 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR
EFSA-GMO-UK-2004-04	Reis LLRICE62	Nahrungs- u. Futtermittel	HT
EFSA-GMO-UK-2004-05	1507 x NK 603 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR, HT
EFSA-GMO-UK-2004-06	MON 863 x NK 603 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR, HT
EFSA-GMO-BE-2004-07	MON 863 x MON 810 x NK 603 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR, HT
EFSA-GMO-UK-2004-08	H7-1 Zuckerrübe	Nahrungs- u. Futtermittel	HT
EFSA-GMO-UK-2005-09	MON 531 x MON 1445 Baumwolle	Nahrungs- u. Futtermittel	IR, HT
EFSA-GMO-UK-2005-10	MON 15985 and MON 15985 x MON 1445 Baumwolle	Nahrungs- u. Futtermittel	IR, HT
EFSA-GMO-UK-2005-11	MIR 604 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR
EFSA-GMO-NL-2005-12	59122 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	IR
EFSA-GMO-NL-2005-13	LLCotton25 Baumwolle	Nahrungs- u. Futtermittel	HT
EFSA-GMO-UK-2005-14	Amylopectin Kartoffel event EH92-527-1	Nahrungs- u. Futtermittel	modifizierter Amylopectin gehalt
EFSA-GMO-NL-2005-15	1507 x 59122 Mais	Nahrungs- u. Futtermittel	HT

*IR: Insektenresistenz; HT: Herbizidtoleranz

gezüchteten Sorten waren in der Regel gegen ein selektives Herbizid resistent (Duke 2005). Große Bedeutung gewannen herbizidresistente Sorten in der Landwirtschaft erst mit dem Beginn der gentechnologischen Ära. **Seit 1995 die ersten transgenen HR-Sorten zugelassen** wurden, wächst deren weltweite Gesamtanbaufläche stetig. Mit dieser Entwicklung geht in den entsprechenden Ländern eine weit reichende Umstellung der Unkrautbekämpfungsmaßnahmen einher. In Argentinien haben transgene HR-Sorten inzwischen nahezu vollständig die herkömmlichen Sojasorten ersetzt (James 2004).

Der Anteil der transgenen HR-Pflanzen an den weltweit mit GVP kultivierten Agrarflächen beträgt derzeit ca. 72%. Damit stellt Herbizidtoleranz das **häufigste Merkmal** dar, das Nutzpflanzen mittels einer gentechnischen Modifikation verliehen wird. In den meisten Fällen handelt es sich um eine Resistenz gegen den Wirkstoff **Glyphosat**, seltener gegen **Glufosinat**. (James 2004). Zu der ersten Generation transgener HR-Pflanzen gehörten des weiteren bromoxynilresistente Pflanzen, deren Herstellung und Anbau inzwischen aber eingestellt wurde (Duke 2005). Glyphosat und Glufosinat sind nicht-selektive Totalherbizide, d.h. sie wirken gegen ein großes Spektrum von Unkräutern. Aufgrund der Tatsache, dass sie nach dem Aufbringen nur kurze Zeit im Boden verbleiben, gilt die Selektion von resistenten Unkräutern durch diese Herbizide im Allgemeinen als wenig wahrscheinlich ('low-risk herbicides', Schütte *et al.* 2004). Die gegenwärtige Entwicklung könnte jedoch eine Korrektur dieser Einschätzung erfordern. Als potentiellen negativen Effekte des Anbaus von HR-

Pflanzen werden in Kapitel 6 neben der möglichen Entstehung resistenter Unkräuter (6.2.1) auch Auswirkungen auf die Biodiversität und andere Effekte durch eine veränderte Bewirtschaftungsweise diskutiert.

Es gibt drei grundsätzliche Strategien, um eine Herbizid-Resistenz in Pflanzen zu erzeugen: Überproduktion des sensitiven Zielenzym, Detoxifizierung des Glyphosat-Moleküls und Expression einer insensitiven Form des Zielenzym (Devine & Shukla 2000, Devine 2005, Dill 2005).

Glyphosat und Glufosinat-Ammonium sind für Menschen und Tiere unschädlich. In Pflanzen blockieren sie dagegen wichtige Enzyme, was das Absterben der betroffenen Pflanzen zur Folge hat. Glyphosat blockiert das Enzym EPSPS (5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphatsynthase) und dadurch die Biosynthese der Aminosäuren Tryptophan und Phenylalanin. Glyphosat ist die aktive Substanz in dem kommerziellen **Herbizid Roundup®**. Durch die Übertragung verschiedener Gene ist es gelungen, Pflanzen herzustellen, die unempfindlich auf den Wirkstoff Glyphosat reagieren. Die Herbizidresistenz kann beispielsweise auf der Expression einer glyphosattoleranten Form des Enzyms EPSP-Synthase basieren. Das entsprechende Gen wurde aus *Agrobacterium tumefaciens* isoliert (Quelle: <http://www.agbios.com/dbase.php>).

Glufosinat-Ammonium (auch kurz: Glufosinat) hemmt die Glutamin-Synthetase-Aktivität, was zu einer Akkumulation von toxischem Ammonium und gleichzeitigem Mangel an Glutamin und anderen Aminosäuren in der betroffenen Pflanzenzelle führt. Glufosinat-Ammonium ist die aktive Substanz in den kommerziellen Herbiziden **Basta®** und **Liberty®**. Glufosinat-Ammoniumresistente Pflanzen tragen entweder das **BAR-Gen** (*Bialaphos resistance gene*) von *Streptomyces hygroscopicus* oder das **PAT-Gen** (kodiert das Enzym Phosphinothricin-N-Acetyltransferase) von *S. viridochromogenes*. Die Enzyme, die von diesen Genen kodiert werden, sind sehr ähnlich und inaktivieren das Glufosinat-Ammonium durch die Acetylierung seiner Aminogruppe (Wohlleben *et al.* 1988, zit. in Ruhland *et al.* 2004).

5.5.2 Insektizidexprimierende Pflanzen

Insektizidexprimierende (IE-) Pflanzen nehmen in der Reihe der weltweit am häufigsten angebauten transgenen Nutzpflanzen hinter HR-Pflanzen den zweiten Platz ein (James 2004). Unter anderem ist dies darin begründet, dass einige der Schwierigkeiten, die mit dem konventionellen Einsatz biologischer oder chemischer Insektengifte verbunden sind, durch die Expression insektenwirksamer Toxine im Gewebe transgener Pflanzen überwunden werden können. Hierunter fallen z.B. eine geringe Stabilität insbesondere biologischer Toxine im Freiland und die Notwendigkeit einer zeitlichen Abstimmung des Insektizideinsatzes mit dem Lebenszyklus der Schädlinge. Letzteres verlangt wiederum ein aufwändiges Überwachen der Anbauflächen, um den wirksamsten Zeitpunkt für die Insektizidanwendung zu bestimmen. Ein weiterer Nachteil versprühter Toxine besteht in ihrer unzureichenden Wirkung auf Schädlinge, die von Blättern bedeckt oder in Pflanzenorganen verborgen sind (Kozziel *et al.* 1993, Ferré & Van Rie 2002).

Box 4: Vorteile und mögliche Risiken von insektizid-exprimierenden (IE)-Pflanzen (modifiziert nach Hails 2000):

Insektizid-Expression

Potentielle Vorteile

- Verringerung des Einsatzes chemischer Insektizide
- Verringerung der negativen Effekte auf Nicht-Zielorganismen
- Effektivere Schädlingsbekämpfung
- Leichtere Handhabung

Potentielle Risiken

- Evolution von Insektizidresistenzen, was zu dem Verlust wichtiger alternativer Wirkstoffe und zum verstärkten Einsatz von chemischen Insektiziden führen würde
- Negative Effekte auf Nicht-Zielorganismen
- Verbreitung der Transgene durch Genfluss

Als **positive Folgerscheinung eines großflächigen Anbaus von IE-Pflanzen** wird erwartet, dass sich die Belastung von Gewässern und Böden mit chemischen Pestiziden wesentlich verringert (Höfte & Whiteley 1989, Wolfenbarger & Phifer 2000). Durch die Expression von Insektiziden im Gewebe der kultivierten Pflanzen wird zudem der Wirkungsbereich des Toxins weitgehend auf die entsprechende Anbaufläche beschränkt. Hingegen können bei dem Besprühen Verdriftungen über große Entfernungen erfolgen, insbesondere wenn Flugzeuge eingesetzt werden (Scriber 2004). Allerdings kann sich auch die Reichweite der Toxine, die von transgenen Pflanzen exprimiert werden, durch eine Verbreitung von Pollen, Samen oder anderen Pflanzenteilen räumlich über die entsprechende Agrarfläche hinaus erstrecken (vgl. 6.4). Eine derartige **Verbreitung von transgenem Pflanzenmaterial** wird zudem im Kontext einer möglichen Ausbreitung von GVP als **potentielles Risiko** eingeschätzt (siehe hierzu Kapitel 6.1).

In den meisten Fällen handelt es sich bei Insektiziden, die von transgenen Pflanzen exprimiert werden, um **Bt-Toxine**. Diese biologischen Insektizide werden ursprünglich von *Bacillus thuringiensis* produziert, einem gram-positiven Bodenbakterium. Es bildet während der Sporulation Proteine, die zu kristallinen Einschlüssen akkumulieren (Schnepf *et al.* 1998). Gelangen diese Einschlüsse in den Verdauungstrakt von bestimmten Fraßinsekten, lösen sie sich dort auf und einzelne Cry-Proteine ('crystal protein') werden freigesetzt. Diese Cry-Proteine entsprechen Protoxinen, d.h. sie entfalten ihre toxische Wirkung erst, nachdem sie durch insektenspezifische Proteasen in kürzere Polypeptide gespalten wurden. Derart aktivierte Cry-Proteine binden an bestimmte Rezeptoren des Darmepithels von Insekten, wodurch sie dieses beschädigen. Die entstehenden Poren im Darmepithel führen zum Tod des

betreffenden Individuums (Höfte & Whiteley 1989, Schnepf *et al.* 1998, Ferré & Van Rie 2002).

Aufgrund ihrer **Unschädlichkeit für den Menschen und viele Nützlinge** stellt der Einsatz von *Bt*-Toxinen eine wichtige Option für die Schädlingsbekämpfung in der Landwirtschaft dar und ist **auch im ökologischen Landbau zugelassen**. Die konventionelle Anwendung erfolgt durch ein Besprühen der Felder. Im Sonnenlicht zerfallen *Bt*-Toxine, die Dauer ihrer Wirksamkeit scheint allerdings höchst variabel und abhängig von den Umweltbedingungen und der Sensitivität der bekämpften Schädlinge zu sein. Die Zeitspanne, über die eine Persistenz von *Bt*-Toxinen beobachtet wurde, reicht von wenigen Tagen auf behandelten Pflanzen, über ein bis zwei Wochen im Boden und bis zu 60 Tagen in Wäldern (vgl. Scriber 2004).

Mit molekularbiologischen Methoden können Gene, die für *Bt*-Toxine kodieren (*Cry*), von *B. thuringiensis* auf andere Organismen übertragen werden, so dass sie im Empfängerorganismus exprimiert werden. Abhängig vom transferierten *Cry*-Gen und seiner Kontrolle durch ebenfalls inserierte Regulationssequenzen (Promotoren) exprimiert eine Pflanze *Bt*-Toxine in unterschiedlichen Mengen bzw. in verschiedenen Geweben. Die **Cry-Proteine wirken höchst spezifisch gegen bestimmte Insektengruppen**. Entsprechend wurden sie verschiedenen Unterfamilien zugeordnet (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Klassifizierung der *Cry*-Proteine (nach Höfte & Whiteley 1989)

Protein-Unterfamilie	Wirkungsspektrum
Cry1	Lepidoptera
Cry2	Lepidoptera und Diptera
Cry3	Coleoptera
Cry4	Diptera

Bereits 1987 gelang die Transformation von Tabak- und Tomatenpflanzen mit *Cry*-Genen von *B. thuringiensis* und der Nachweis, dass diese Pflanzen aufgrund der genetischen Modifikation resistent gegen Schadinsekten waren (siehe Referenzen in Koziel *et al.* 1993). Die Herstellung von *Bt*-Mais gelang als erstes Koziel *et al.* (1993) durch das Transferieren des insektizidkodierenden Gens *CryIAb* mittels Partikelbeschuss. Die transgenen Pflanzenlinien, die aus dieser Transformation hervorgingen, werden als 'Event 176' bezeichnet. Kennzeichnend für **Bt176-Maispflanzen** ist eine hohe Expression von *CryIAb* im Pollengewebe.

In Deutschland hat **Bt-Mais MON 810** als einzige transgene Kultursorte inzwischen das Stadium des Anbaus auf größeren Flächen erreicht (Erprobungsanbau, keine Zulassung nach Saatgutverkehrsgesetz; Stand: März 2005). Auch in diesem Fall handelt es sich um *CryIAb*-exprimierende Pflanzen, die mittels Partikelbeschuss transformiert wurden. Sowohl transgener Bt176-Mais als auch MON 810 exprimieren lediglich ein Fragment des nativen *CryIAb*-Gens von *B. thuringiensis*. Das Produkt des Genfragments entspricht dem aktivierten Toxin (Koziel *et al.* 1993). Ebenso wie transgener Bt176-Mais ist MON 810 resistent gegen den europäischen und mediterranen **Maiszünsler** (*Ostrinia nubilalis* bzw. *Sesamia nonagrioides*). Ersterer verursacht vor allem im Osten Deutschlands (Oderbruch)

Ernteverluste. Eine häufige Begleiterscheinung von Schädigungen durch den Maiszünsler ist der zusätzliche Befall der Wirtspflanze durch **pathogene Mikroorganismen**, welche auch für den Menschen schädlich sein können. Ein Beispiel solcher Mikroorganismen sind Pilze, die gesundheitsschädliche **Mycotoxine** produzieren. Bei transgenem Mais wurde ein relativ geringer Befall durch derartige Pathogene und geringere Mengen von Mycotoxinen festgestellt (Munkvold *et al.* 1997).

Als **Alternativen zu Bt-Toxinen** kommen u.a. folgende biologische Insektizide in Betracht: Proteaseinhibitoren, Chitinasen, Biotin-bindende Proteine, Lektine, Spinnen-Toxine und Pflanzenhormone (O'Callaghan *et al.* 2005). **Proteaseinhibitoren** wirken, indem sie im Verdauungstrakt der Schädlinge die Degradation von Proteinen blockieren, wodurch die Aufnahme von Nährstoffen gestört und der Hungertod der Schädlinge herbeigeführt wird. **Chitinasen** verleihen Pflanzen eine Resistenz gegen Pilzbefall. Sie wirken zusätzlich gegen Insekten, da sie deren Chitin-Exoskelett zerstören. Proteaseinhibitor- und Chitinasenkodierende Gene wurden aus einer Vielzahl von Pflanzen, Tieren oder Mikroorganismen isoliert. Ihre Expression wurde bereits erfolgreich in transgenen Pflanzen getestet (siehe Malone & Pham-Delègue 2001 für eine ausführlichere Darstellung).

Biotin-bindende Proteine blockieren das für viele Organismen essentielle Vitamin Biotin. Ein entsprechendes Protein (Avidin) konnte aus dem Eiklar von Hühnern isoliert werden. Es wirkt auf eine Vielzahl von Insekten toxisch. Eine erhöhte Resistenz gegen Insekten konnte für transgene, Avidin-exprimierende Pflanzen gezeigt werden (Burgess *et al.* 2002). **Lektine** schädigen u.a. Homoptera (Zikaden und Pflanzenläuse), Lepidoptera (Schmetterlinge) und Coleoptera (Käfer), wobei der genaue Mechanismus, der die negativen Effekte hervorruft, nicht vollständig aufgeklärt ist. Sowohl eine verhinderte Nahrungsaufnahme durch Bindung der Lektine an die Epithelzellen des Mitteldarms als auch eine durch Lektin hervorgerufene Störung des Eisenhaushalts wird diskutiert (Du *et al.* 2000, Romeis *et al.* 2003). Das Lektin des Schneeglöckchens (***Galanthus nivalis* Agglutinin**, GNA) wurde bereits erfolgreich in verschiedene Kulturpflanzen transformiert, u.a. in Tabak, Kartoffel, Reis und Weizen. Es wirkt sich negativ auf Wachstum, Entwicklung und Fortpflanzung z.B. von Blattläusen aus (Romeis *et al.* 2003).

Als **mögliche Risiken** eines großflächigen Anbaus von Pflanzen, die Insektizide während der gesamten Vegetationsperiode exprimieren, wird die Entstehung resistenter Schädlinge erachtet (Kapitel 6.3). Des Weiteren werden negative Auswirkungen auf Nicht-Zielorganismen diskutiert. Die Toxizität biologischer Insektizide wurde in der Vergangenheit für eine Vielzahl von Nützlingen getestet, die ihnen potentiell ausgesetzt sein könnten. Diese Untersuchungen wurden teilweise bezüglich des Einsatzes von biologischen Toxinen in der konventionellen oder ökologischen Landwirtschaft, teilweise im Zusammenhang mit GVP-Risikostudien durchgeführt. In den meisten Fällen wurden keine direkten negativen Auswirkungen auf Nicht-Zielorganismen festgestellt (siehe u.a. US EPA 2000, O'Callaghan *et al.* 2005). Eine ausführliche Darstellung einer potentiellen Gefährdung von Nicht-Zielorganismen durch den Anbau von IE-Pflanzen erfolgt in Kapitel 6.4. In Box 4 sind die verschiedenen Aspekte zusammengestellt, die in eine Bewertung der biologischen Risiken bezüglich des Anbaus von IE-Pflanzen zu berücksichtigen sind.

5.5.3 Krankheitsresistente Pflanzen

Die Verbesserung der Resistenz von Kulturpflanzen gegen Pathogene ist seit jeher ein wichtiges Ziel der Züchtungsforschung. Der **klassische Ansatz** beruht auf der Identifizierung von Resistenzgenen aus Individuen derselben oder einer nah verwandten Art, die in das Genom der Zielpflanze stabil eingekreuzt werden können. **Viele Pflanzen verfügen über Schutzmechanismen gegen Pathogene.** Sehr häufig basieren diese auf der Expression von antimikrobiellen Enzymen, z.B. β -1,3-Glucanasen, Chitinasen, Proteaseinhibitoren, α -Amylasen oder Lektine (Valueva & Mosolov 2004).

In vielen Fällen stehen jedoch für eine bestimmte Zielart keine geeigneten Resistenzgene von einem möglichen Kreuzungspartner zur Verfügung. Daher wird auch versucht, z.B. durch bestimmte Bewirtschaftungsweisen, den Befall der Feldfrüchte mit Krankheitserregern (Pilzen, Bakterien und Viren) zu verringern. Außerdem werden in der Landwirtschaft für die Bekämpfung von Pflanzenpathogenen **weltweit große Mengen chemischer Pestizide eingesetzt.**

Gentechnologische Verfahren erhöhen die Anzahl potentiell nutzbarer Resistenzgene enorm, da sie das Verwenden von Genen praktisch beliebiger Spenderorganismen ermöglichen. Die Nutzung gentechnischer Methoden zur Herstellung krankheitsresistenter Pflanzen verspricht, ähnlich wie es für IE- und HR-Pflanzen der Fall ist, sowohl ökonomische als auch ökologische Vorteile gegenüber der konventionellen Pflanzenzüchtung. Erwartet werden drastisch reduzierte Ernteverluste bei einer gleichzeitigen Verringerung der Menge an eingesetzten Pestiziden (vgl. Tepfer 2002, Snow 2003). Durch den technischen Gentransfer kann auch vermieden werden, dass unerwünschte, mit dem Resistenzgen gekoppelte Gene des Kreuzungspartners ko-transferiert werden (Melandar 2004).

Virusresistente (VR-) Pflanzen können durch das Transferieren von viralen Genen bzw. von Fragmenten dieser Gene in die Zielpflanze generiert werden. In den achtziger Jahren gelang erstmalig die Expression eines viralen Hüllproteins ('coat protein') in einer transgenen Pflanze und der Nachweis, dass diese daraufhin gegen den Donor-Virus resistent war (siehe Darstellung in Tepfer 2002). In Kanada bzw. den USA sind transgene virusresistente Papaya, Kürbis und Kartoffeln als Nahrungsmittel zugelassen (siehe), transgene VR-Kartoffeln auch in Australien und den Philippinen, in Japan nur als Futtermittel (Quelle: <http://www.agbios.com/dbase.php> (Tabelle 3)).

Verschiedene Risiken werden im Zusammenhang mit dem Anbau transgener krankheitsresistenter Pflanzen diskutiert. Ein nicht ausschließlich auf VR-Pflanzen zutreffendes Risiko betrifft **die Möglichkeit, dass Krankheitsresistenz unter natürlichen Bedingungen einen Selektionsvorteil darstellen könnte.** Ausgewilderte Kulturpflanzen, bzw. transgene Hybride zwischen einer krankheitsresistenten Feldfrucht und einer verwandten Wildart könnten daher ein **invasives Potential** besitzen. Ein vergleichbares Szenario ist ebenso für andere Kategorien transgener Pflanzen denkbar (dies gilt insbesondere für stresstolerante Pflanzen). Diese Problematik wird in Kapitel 6.1 behandelt. Ein für VR-Pflanzen spezifisches Risiko wird mit den **viralen Sequenzen** assoziiert, die in diesen Pflanzen ggf. vorhanden sind. Befürchtet wird, dass als Folge des Anbaus transgener VR-Pflanzen **neuartige Viren** entstehen könnten. Diese Thematik wird in Kapitel 6.6 dargestellt und diskutiert.

Tabelle 3: Virusresistente transgene Pflanzen, die in den USA zum uneingeschränkten Gebrauch zugelassen sind (<http://www.fda.gov/nbiap.vt.edu/cfdocs/biopetitions3.cfm>)

Art	Bezeichnung	Transgen	Ziel-Virus
Kürbis	CW20	WMV2 Hüllprotein ZYMV Hüllprotein	WMV2 ZYMV
Kürbis	CZW3	WMV2 Hüllprotein ZYMV Hüllprotein CMV Hüllprotein	WMV2 ZYMV CMV
Kartoffel*	RBMT21-129, -152, -350 RBMT22-82, -186, -238, -262	PLRV Replikase	PLRV
Kartoffel*	SEMT15-02, SEMT15-15, SEMT15-07, HLMT15-3, HLMT15-15, HLMT15-46, RBMT15-10	PVY Hüllprotein	PVY
Papaya	55-1	PRSV Hüllprotein	PRSV

*Diese Sorten exprimieren auch das *Bt*-Toxin Cry3A und sind daher zusätzlich gegen den Colorado Kartoffelkäfer resistent

WMV2: Watermelon Mosaic Virus-2, ZYMV: Zucchini Yellow Mosaic Virus, CMV: Cucumber Mosaic Virus, PLRV: Potato Leaf Roll Virus, PVY: Potato Virus Y, PRSV: Papaya ring spot virus

5.5.4 Stresstolerante Pflanzen

Abiotischer Stress entsteht für Pflanzen u.a. durch Trockenheit, Kälte oder durch hohe Schwermetall- bzw. Salzgehalte im Boden. In vielen Regionen der Erde, insbesondere im Süden, schränken entsprechend ungünstige Umweltfaktoren den Anbau von Kulturpflanzen ein. Mit Hilfe der Gentechnologie kann die Stressresistenz einer Pflanze erhöht werden.

Eine wichtige Rolle bei der Resistenz gegen abiotischen Stress spielen **Proteine**, welche die korrekte Faltung und Konformation von Makromolekülen wie Enzymen, Lipiden oder mRNAs kontrollieren (z.B. Hitzeschockproteine, Chaperone, Late Embryogenesis Abundant Proteine) (Vinocur & Altman 2005). Des Weiteren werden bei Trockenheit oder Salzstress häufig Substanzen gebildet, die im Zytoplasma einer Zelle akkumulieren. Bei diesen so genannten **Osmolyten** handelt es sich meist um Aminosäuren (z.B. Prolin), Amine (z.B. Glycin, Betain), Zucker (z.B. Trehalose) und Zuckeralkohole (z.B. Mannitol).

Die meisten der bisher unternommenen Versuche, die Mechanismen der Stresstoleranz in Pflanzen aufzuklären, wurden an der Modellpflanze *A. thaliana* durchgeführt. Nur in wenigen Fällen wurden entsprechende Untersuchungen an wichtigen Kulturpflanzen durchgeführt (Vinocur & Altman 2005). Als Beispiele wären folgende Studien zu nennen:

Die in Reispflanzen durch die Expression eines rekombinanten Enzyms erzielte Akkumulation von Trehalose führte zu einer höheren Resistenz der betreffenden GVP gegen abiotischen Stress (Garg *et al.* 2002, Jang *et al.* 2003).

Weizen, der das Mannitol-1-Phosphatase Dehydrogenase-Gen aus *E. coli* exprimierte, produzierte verstärkt den Zuckeralkohol Mannitol und verhielt sich daher toleranter gegenüber Trockenheit oder hohe Salzkonzentrationen. In diesem Fall wirkte Mannitol vermutlich nicht als Osmolyt, sondern als Antioxidant (Abebe *et al.* 2003). **Antioxidantien** sind Substanzen, die schädliche reaktive Sauerstoffverbindungen (z.B. H₂O₂) binden. In einer

Pflanze werden reaktive Sauerstoffverbindungen verstärkt gebildet, wenn sie bestimmten biotischen oder abiotischen Stressfaktoren ausgesetzt ist. Akkumulieren diese Substanzen, sind starke Zellschäden bzw. der Zelltod die Folge. In geringen Mengen führen einige dieser Sauerstoffverbindungen hingegen zu einer modifizierten Genexpression, die in einer verstärkten Stressantwort resultiert (Shou *et al.* 2004). Eine Überexpression endogener Gene, die Antioxidantien kodieren, bzw. die Übertragung entsprechender Gene aus anderen Organismen, wird daher ebenfalls als Möglichkeit betrachtet, die Resistenz gegen abiotischen Stress in der Zielpflanze zu erhöhen. Die erfolgreiche Umsetzung dieser Strategie wurde von Yoshimura *et al.* (2004) gezeigt:

Aufgrund der Expression eines Gens der Alge *Chlamydomonas*, welches das Enzym Glutathion Peroxidase kodiert, war die Resistenz von transgenen Tabakpflanzen gegen oxidativen Stress, Kälte und hohe Salzkonzentrationen erhöht.

Ebenso ist es möglich, durch Modifizierung oder Transferieren eines einzelnen Gens, das eine entscheidende **Regulationseinheit** kodiert, die Stresstoleranz in einer Zielpflanze zu erhöhen. So führte die Überexpression eines endogenen Transkriptionsfaktors, der die Expression an der Stressabwehr beteiligter Proteine kontrolliert, zur Erhöhung der Kältetoleranz von *Arabidopsis* (Jaglo-Ottosen *et al.* 1998). Auch der Transfer eines Tabakgens, dessen Produkt die Expression von Stressabwehr-Genen auslösen kann, resultierte in der erhöhten Kältetoleranz einer sonst kältesensitiven Maissorte (Shou *et al.* 2004).

Häufig liegen den schützenden Strategien gegen abiotischen Stress jedoch komplexe biochemische Abläufe zu Grunde, und eine Erhöhung der Stresstoleranz in Pflanzen ist auch mit gentechnologischen Verfahren in der Regel nicht leicht zu erzielen. Damit eine Pflanze abiotischen Stress tolerieren kann, sind komplexe Prozessabläufe nötig, die unter der Kontrolle verschiedener Gene sind, wie z.B. post-translationale Modifikationen, vollständige Stoffwechselwege oder Signaltransduktionsketten. Neben der Tatsache, dass es sich bei Stresstoleranz um ein **multigenetisches Merkmal** handelt, erschwert auch die Variabilität dieser Eigenschaft während verschiedener Lebensphasen eines Organismus die Aufklärung und v.a. die gentechnische Übertragung des Merkmals auf andere Organismen. Des Weiteren handelt es sich bei einer Stresstoleranz um ein Merkmal, das möglicherweise mit „physiologischen Kosten“ verbunden ist, da es als in vielen Pflanzen als Anpassung an entsprechende Umweltbedingungen entstanden ist. Eine Übertragung des Merkmals in Kulturpflanzen könnte folglich in unerwünschten Effekten resultieren und agronomischen Vorteile der Stresstoleranz sind daher ggf. begrenzt (Vinocur & Altman 2005).

5.6 Transgene Pflanzen mit „Output-Eigenschaften“

Während ‚Input-Eigenschaften‘ Auswirkungen auf die landwirtschaftliche Praxis haben und dem Landwirt Zeit- und Geldersparnisse ermöglichen können, sollen von „Output-Eigenschaften“ die verarbeitende Industrie und die Verbraucher profitieren. Es wird daher bei derartigen GVP beabsichtigt, statt der agronomischen Eigenschaften, die Qualität des Endprodukts zu beeinflussen. Seit Anfang der neunziger Jahre werden Pflanzen mit Output-Eigenschaften im Freiland getestet (Vogel & Potthof 2003).

5.6.1 Novel Food

Das wohl bekannteste Beispiel eines „funktionalen Lebensmittels“ ist der so genannte ‚goldene Reis‘. Es handelt sich dabei um gentechnisch veränderten Reis, der in den Teilen der Samen, die verzehrt werden (Endosperm), Beta-Karotin synthetisiert. Normalerweise produziert Reis im Endosperm lediglich Geranylgeranyldiphosphat, das in anderen Organismen ein Zwischenprodukt der Synthese von Beta-Karotin darstellt. Durch das Transferieren von Genen aus der Narzisse (*Narcissus pseudonarcissus*) und einem Bakterium (*Erwinia uredovora*) in das Reis-Genom wird der Stoffwechselweg vervollständigt. Die Expression dieser Gene im Reis führt zur Synthese von Beta-Karotin im Endosperm (Potrykus 2001). Da Beta-Karotin als Provitamin A fungiert, wurde die Herstellung und Vermarktung von „goldenem Reis“ als Strategie zur Bekämpfung der Vitamin A-Unterversorgung in Entwicklungsländern propagiert (z.B. Potrykus 2001). Besonders in Ländern, in denen Reis das Hauptnahrungsmittel großer Teile der Bevölkerung darstellt, leiden viele Menschen unter Vitamin A-Mangel.

Es befinden sich eine Vielzahl weiterer Pflanzen in der Entwicklung, die bezüglich ihres Nährstoffprofils gentechnisch modifiziert werden sollen. Im Blickpunkt stehen dabei phytochemische Stoffe wie polymere Kohlenhydrate (siehe z.B. Zusammenfassung von Heyer *et al.* 1999), Carotenoide und Vitamine (Hirschberg 1999), Fettsäuren (Murphy 1999) oder eine veränderte Aminosäurezusammensetzung zur Verbesserung der Samenqualität von Getreide und Leguminosen (Herbers & Sonnewald 1999). Interessant sind ebenso die pflanzlichen Sekundärmetabolite (Flavonoide, Anthocyan, Alkaloide, Terpenoide, Benzoessäure-Derivate etc.) z.B. für eine erhöhte Nahrungsqualität in Hinblick auf Geruch und Geschmack (z.B. bei Tomate, siehe Speirs *et al.* 1998) und die Produktion von Medikamenten, Farbstoffen, Insektiziden und Aromastoffen (Zusammenfassung Verpoorte & Memelink 2002).

5.6.2 Pflanzen zur Produktion von Pharmazeutika („Gene Pharming“)

Eine Vielzahl komplexer und biologisch aktiver Substanzen können heute in transgenen Pflanzen oder Zellkulturen hergestellt werden, u.a. Antikörper und Antikörperfragmente, Antigene, Enzyme, Hormone und (Neuro-) Peptide (Teli & Timko 2004). **In vielen Fällen handelt es sich dabei um ursprünglich nicht-pflanzliche Substanzen.** Entsprechende Gene, die diese Substanzen kodieren, wurden meist aus anderen Organismen isoliert und in Pflanzen eingebracht. Aber auch viele endogene Inhaltsstoffe von Pflanzen, insbesondere Sekundärmetabolite, sind therapeutisch wirksam. Für die Produktion von Pharmazeutika wird daher eine erhöhte Synthese solcher Stoffe in gentechnisch veränderten Pflanzen angestrebt.

Die Produktion von Medikamenten in Pflanzen bietet bedeutende **Vorteile** gegenüber der Produktion in Mikroorganismen, Tieren oder Säuger-Zelllinien. Diese umfassen u.a. das Potential einer rentablen Produktionssteigerung, die Vermeidung des Kontaminationsrisikos durch säugerspezifische Pathogene und ethischer Probleme, die mit der Produktion von Fremd-Proteinen in Tieren verknüpft sind, verbesserte Lagerungs- und Transportmöglichkeiten, eine Überlegenheit gegenüber bakteriellen Systemen bezüglich der korrekten Faltung und Modifikation von rekombinanten Proteinen und die Möglichkeit der Neukombination von Transgenen durch sexuelle Kreuzung (Boothe *et al.* 1997, Doran 2000,

Kong *et al.* 2001, Larrick *et al.* 2001, Daniell *et al.* 2005; siehe auch die Darstellungen in Giddings *et al.* 2000, Teli & Timko 2004, Gleba *et al.* 2005).

Risiken betreffen die potentielle Verbreitung Pharmazeutika-produzierender Pflanzen in der Umwelt, eine mögliche Allergenität der Produkte, Verunreinigungen durch Mycotoxine, Pestizide, Herbizide oder sekundäre Pflanzenstoffe und Schwierigkeiten bezüglich einer kontrollierten und stabilen Genregulation (vgl. Doran 2000, Larrick *et al.* 2001). Eine detaillierte Diskussion der Risiken erfolgt in Kapitel 6.9.

5.6.3 Weitere transgene Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen

Modifizierung von Stärke

Stärke ist der häufigste Speicher-Kohlenhydrat in Pflanzen und viele stärkepeichernde Organe bilden Grundnahrungsmittel des Menschen. Dieser erneuerbare Rohstoff wird ebenfalls in der Industrie verwendet (Röper 2002). Für die zahlreichen Anwendungen sind verschiedene Stärketypen erforderlich, die bisher durch chemische Prozessierungen erzielt wurden. Erfolgsversprechender ist es hingegen, bereits **in Pflanzen modifizierte Stärke mit signifikant gesteigerter Funktionalität** produzieren zu lassen. Stärke besteht normalerweise aus 70-80% Amylopektin und 20-30% Amylose. Wird dieses Verhältnis verändert, resultieren daraus neue physikalische Eigenschaften, ebenso wie durch die Variation des Phosphatgehaltes (Blennow *et al.* 2002). Es gibt bereits zahlreiche Arbeiten zu transgenen Pflanzen, die in verschiedenen Enzymen des Stärkesyntheseweges gentechnisch verändert wurden (zur Stärke-Biosynthese siehe Abb. 6).

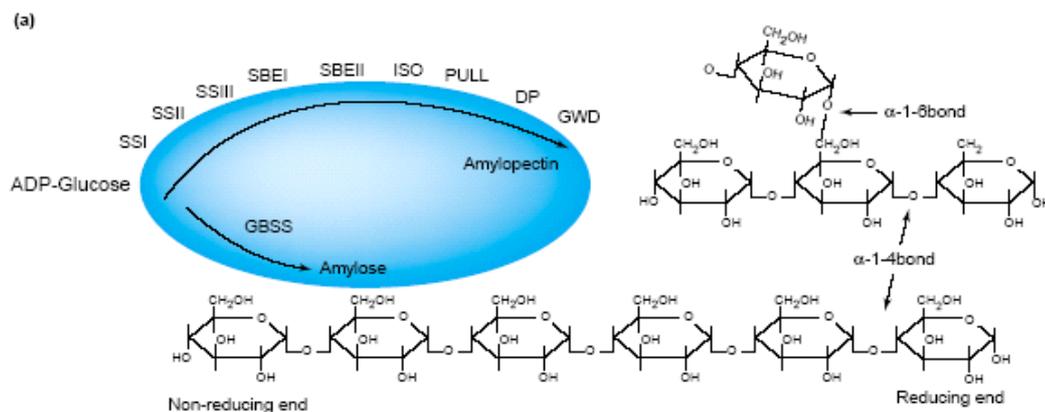


Abb. 6: Schematische Übersicht der Enzyme, die in der Biosynthese von Amylopektin und Amylose involviert sind (aus Jobling 2004); SS: Stärke-Synthase, SBE: Stärke-Verzweigungsenzym, ISO: Isoamylase, PULL: Pullulanase, DP: Disproportionierungsenzym, GWD: α -Glucan-Wasser-Dikinase, GBSS: Granulagebundene Stärke-Synthase

Meistens erfolgte eine Ausschaltung eines oder mehrerer Enzyme durch:

- Einbringung einer Insertion in das jeweilige Gen ('transposable controlling elements') und damit der komplette Funktionsverlust des Proteins,
- eine Hemmung der Genexpression durch 'antisense' Techniken oder

- durch Expression von spezifischen Antikörpern gegen die entsprechenden Enzyme (Für eine Zusammenfassung siehe Jobling 2004).

Die zwei Hauptziele sind dabei die Produktion einer amylosefreien Stärke und einer stark amylosehaltige Stärke.

Amylosefreie Stärke wird durch eine Ausschaltung von GBSS erreicht. Diese Stärke wird z.B. als Stabilisator und Verdicker in Nahrungsmitteln und als Emulgator in Salatdressings genutzt. Mutanten im 'waxy locus', der GBSS kodiert, sind in Mais, Gerste, Hirse und Amaranth schon lange bekannt (James et al. 2003), jedoch wird davon nur der Mais für kommerzielle Zwecke angebaut. Hinzu kommen Arbeiten an Kartoffeln, bei der das GBSS-Gen durch eine 'antisense' (Visser et al. 1991) und Süßkartoffeln, bei der GBSS durch 'sense suppression' runterreguliert wurde (Kimura et al. 2001, Noda et al. 2002). Hierzu gibt es in Europa bereits Feldstudien im großen Maßstab und die transgenen Pflanzen befinden sich im Zulassungsprozess (Jobling 2004). Die Stärke einer neuen transgenen Kartoffel, bei der gleichzeitig drei Stärkesynthasegene (GBSS, SSII, SSIII) durch 'antisense' gehemmt werden, besitzt eine verbesserte Gefrierungs- und Tauungsstabilität (Jobling et al. 2002).

Stark amylosehaltige Stärke wird in Getreide u.a. durch eine Runterregulierung des Gens erreicht, welches das Stärke-Verzweigungsenzym (SBE starch-branching enzyme)IIb kodiert, auch 'amylose extender' genannt. In Gerste hingegen konnte gezeigt werden, dass eine Mutation im SSIIa-Gen (sex6) nicht nur einen hohen Amylosegehalt verursacht, sondern auch die Amylopektinketten kürzer sind (Morell et al. 2003). Bisher erbringen jedoch alle transgenen Feldfrüchte mit einem hohem Amylosegehalt geringere Ernteerträge als Pflanzen, die normale Stärke produzieren. Interessant ist diese Stärke aufgrund der Gelierungs- und Film-Bildungseigenschaften, wiederum für die Nahrungsmittelindustrie.

Veränderter Lignin- und Zellulosestoffwechsel in Bäumen

Durch eine Manipulation des Lignin- und Zellulosestoffwechsels in Bäumen können günstige Verarbeitungseigenschaften und höhere Erträge erreicht werden. Z.B. kann durch die Überexpression und/ oder Herunter-Regulierung bestimmter Enzyme der Ligningehalt reduziert und die Struktur verändert werden, wodurch die Extraktion des Lignins bei der Zellstoffproduktion erleichtert wird. Mit der Reduktion der Ligninproduktion kann sich die Zelluloseproduktion erhöhen, was sich in einem stark gesteigerten Wachstum zeigt (Hu et al. 1999). Ertragssteigerungen bei Bäumen wurden durch gentechnische Veränderungen des Zellulosestoffwechsels erzielt, die z.B. den Zellulose/ Hemizellulose-Gehalt und die Vernetzung der Zellulosefasern betrafen (Boerjan 2005). Möglicherweise ließe sich auch der Ertrag von krautigen Nutzpflanzen durch eine Reduzierung ihres Ligningehalts erhöhen (Pedersen et al. 2005).

5.6.4 Pflanzen zur Phytoremediation

Der Begriff der Phytoremediation („phyto“ = griech. Pflanze, „remedium“ latein. säubern) steht für eine Sammlung verschiedener Methoden, bei der Pflanzen zur Säuberung kontaminierter Böden verwendet werden (Salt et al. 1995, Chaney et al. 1997, Raskin et al. 1997, Zusammenfassung der einzelnen Methoden siehe z.B. Prasad & Freitas 2003). Dabei werden natürlich vorkommende Prozesse von Pflanzen und Mikroorganismen genutzt, die

organische und anorganische Schadstoffe aus der Luft, flüssigen und festen Substraten degradieren bzw. sequestrieren (Überblick Pilon-Smits 2005).

Diese Technologie wird allgemein als eine **potentiell preisgünstige und umweltfreundliche Alternative** zu Bodenersetzung, Ausschachtung und Waschtechniken akzeptiert (Salt *et al.* 1998, Clemens 2001, McGrath & Zhao 2003). Während in Europa bisher keine signifikante kommerzielle Nutzung besteht, wuchs der amerikanische Phytoremediations-Markt in den letzten 5 Jahren auf das 2 bis 3fache an, mit 100-150 Mio. \$/ Jahr. Es wird davon ausgegangen, dass der Markt auch in Europa zunehmen wird, da die Forschungsarbeiten hierzu rasant ansteigen und Millionen Hektar belastet sind, insbesondere in den osteuropäischen Staaten (Pilon-Smits 2005).

Anorganische Schadstoffe – Metalle

Den größten Beitrag zur Metall-Dekontaminierung könnte die **Phytoextraktion** leisten: Metallakkumulierende Pflanzen werden auf kontaminierten Böden ausgebracht und agronomisch angebaut. Die Metallionen werden aus dem Boden über die Wurzeln aufgenommen, in die oberirdischen Organe transportiert und akkumulieren dort. Mit der Ernte der Pflanzen erfolgt eine dauerhafte Reduktion des Metallgehalts im Boden, ohne den Verlust der Ackerkrume, wie ihn traditionelle Verfahren verursachen (siehe Abb. 7).

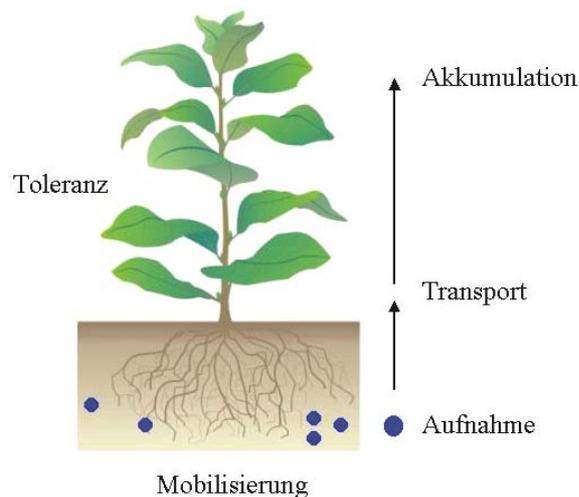


Abb. 7: Mechanismen der Phytoextraktion (aus Clemens 2001, verändert)

Die Grundlage für dieses Konzept ist die Entdeckung von **Hyperakkumulierern**, d.h. von Pflanzen, die überdurchschnittlich hohe Mengen an Schwermetallen aus dem Boden aufnehmen und in den oberirdischen Organen speichern (Baker & Brooks 1989). Für eine kommerzielle Nutzung jedoch eignen sich die bisher ca. 440 charakterisierten Arten aufgrund ihres langsamen Wachstums und der geringen Biomasse nicht (siehe Krämer & Chardonnens 2001, Eapen & D'Souza 2005). Eine Ausnahme bildet *Pteris vittata*. Dieser Farn ist der bislang einzige bekannte Arsen-Hyperakkumulierer, der sich durch ein schnelles Wachstum und einer großen Biomasse auszeichnet (Ma *et al.* 2001). Bei der Auswahl einer geeigneten

Tabelle 4: Zusammenfassung der effektivsten Transgene für Toleranz (T), Akkumulation (A) und Voltalisation (V) von Spurenelementen in Pflanzen (Übersicht aus Krämer & Chardonnens 2001, Krämer 2005)

Gen	Produkt	Quelle	Ziel	Maximaler Effekt ¹
<i>APS1</i>	ATP Sulfurylase	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Brassica juncea</i>	A 2fache Steigerung der Se-Konzentration
<i>MT-1</i>	Metallothionein	<i>Mus musculus</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	T 200 µM CdCl ₂ (20fach)
<i>CUP1</i>	Metallothionein	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>B. oleracea</i>	T 400 µM CdCl ₂ (ca. 16fach)
<i>gsh1</i>	γ-Glu-Cys Synthase	<i>Escherichia coli</i>	<i>B. juncea</i>	A Cd-Konzentration 190 %
<i>gsh2</i>	Glutathion Synthase	<i>E. coli</i>	<i>B. juncea</i>	A Cd-Konzentration 125 %
<i>NtCBP4</i>	Kationenkanal	<i>N. tabacum</i>	<i>N. tabacum</i> (Überexpression)	T 250 µM NiCl ₂ (2,5fach), Pb-sensitiv, A Pb-Konzentration 200%
<i>Zat1</i>	Zinktransporter	<i>A. thaliana</i>	<i>A. thaliana</i> (Überexpression)	T leichte Steigerung
<i>arsC</i>	Arsenat Reduktase	<i>E. coli</i>	<i>N. tabacum</i>	A 1,4fach Cd
<i>arsC + γ-ECS</i>	Arsenat Reduktase, γ- Glutamylcystein Synthetase	<i>E. coli</i>	<i>A. thaliana</i>	A 3fach As, ausgehend von AsO ₄ ³⁻
<i>SMTA</i>	Selenocystein Methyltransferase	<i>Astragalus bisulcatus</i>	<i>A. thaliana</i>	A 8fach Se, ausgehend von SeO ₄ ²⁻
<i>SMTA</i>	Selenocystein Methyltransferase	<i>A. bisulcatus</i>	<i>B. juncea</i>	V 5fach Se, ausgehend von SeO ₄ ²⁻
<i>YCF1</i>	vakuoläre Sequestrierung von Glutathion-Konjugaten	<i>S. cerevisiae</i>	<i>A. thaliana</i>	A 1,4fach Pb, 1,5fach Cd
<i>HMA4</i>	zellulärer Metallefflux	<i>A. thaliana</i>	<i>A. thaliana</i> (Überexpression)	A 2fach Zn, 1,4fach Cd
<i>merA</i>	Hg(II) Reduktase	Gram-negative Bakterien	<i>Liriodendron tulipifera</i> , <i>N. tabacum</i>	T 50 µM HgCl ₂ ; 500 mg HgCl ₂ kg ⁻¹ V 10fache Steigerung der Hg-Voltalisationsrate
<i>merA + merB</i>	Hg(II) Reduktase, Organisch-quecksilbrige Lyase	Gram-negative Bakterien	<i>A. thaliana</i>	T 10 µM CH ₃ HgCl (>40fach) V bis zu 59 pg Hg(0) ₁ mg ⁻¹ Frischbiomasse min ⁻¹

1 – Der „Maximale Effekt“ ist der maximale Konzentrationsanstieg, der in der Spross-Trockenmasse beobachtet wurde, relativ zu Kontrollpflanzen, die das Transgen nicht exprimieren.

Spezies muss auch die Verschiedenheit der belasteten Flächen in Bezug auf Belastungsgrad, Bodenbeschaffenheit, klimatische Bedingungen etc. berücksichtigt werden. Es ist daher notwendig, dass Pflanzen mit einer nennenswerten Metallextraktions- und Akkumulationsleistung auch an die übrigen Bedingungen angepasst sind.

Für eine wirtschaftliche, effiziente Technologie werden demnach Verbesserungen in mehreren Arten benötigt, entweder in der Biomasse von Hyperakkumulierern oder in der Metallakkumulation von Nicht-Hyperakkumulierern (Felix 1997, Chaney *et al.* 2000, McGrath *et al.* 2000, McGrath & Zhao 2003). Um dieses Ziel zu verwirklichen, wird die genetische Veränderung von Pflanzen favorisiert. Der Großteil der Forschungsarbeiten

beschäftigt sich mit der **Optimierung der Metallaufnahme von Nicht-Hyperakkumulierern durch gentechnische Verfahren** (Eapen & D'Souza 2005). Folgende Prozesse sind diesbezüglich von Bedeutung:

- Mobilisierung der Spurenelemente,
- Aufnahme in die Wurzel,
- Translokation in den Spross und Verteilung in der Pflanze,
- Detoxifikation,
- Erhöhung der Toleranz (Krämer & Chardonnens 2001).

Viel versprechende Transgene aus Mikroorganismen bzw. Pflanzen sind in Tabelle 4 aufgeführt. Die erste Arbeit, die ein Transgen aus einem Hyperakkumulierer verwendete, wurden von Ellis *et al.* (2004) durchgeführt. Sie integrierten das Gen für eine Selenocystein-Methyltransferase aus *Astragalus bisulcatus* in den Nicht-Hyperakkumulierer *Arabidopsis thaliana* und erzielten damit eine achtfache Steigerung der Selen-Konzentration gegenüber Wildtyp-Pflanzen. Interessant ist neben der Steigerung der Akkumulation und der Toleranz das Endprodukt des Enzyms, Selen-Methylselenocystein (MeSeCys), welches eine **antikanzero gene Wirkung** in Säugern besitzt (Ip & Ganther 1992, Medina *et al.* 2001).

Eine andere Strategie beruht auf der Erkenntnis, dass Hyperakkumulierer im Gegensatz zu Nicht-Hyperakkumulierern verschiedene Gene der Metalhomöostase konstitutiv hoch exprimieren (Assuncao *et al.* 2001, Becher *et al.* 2004, Drager *et al.* 2004, Papoyan & Kochian 2004, Weber *et al.* 2004). So wurde z.B. durch eine Überexpression des endogenen Gens *HMA4* (eine Schwermetall P-Typ ATPase) in *A. thaliana* eine Erhöhung der Toleranz und Akkumulation gegenüber Zink und Cadmium erreicht (Verret *et al.* 2004).

Ein **Nachteil von pflanzlichen Transgenen** besteht in ihrer hohen Homologie zu endogenen Genen, wodurch Ko-Suppressionen die Überexpression der eingebrachten Gene verhindern können (Jorgensen 1990). Gene von **Mikroorganismen** konnten dagegen erfolgreich in Pflanzen exprimiert werden, wobei einige davon in ihrem GC-Gehalt modifiziert wurden, um die Effizienz der Expression zu erhöhen (Rugh *et al.* 1996). Weiterhin besitzen letztere **die Fähigkeit zur Blei- und Quecksilber-Hyperakkumulation bzw. Detoxifikation**, die bei Pflanzen bisher noch nicht beobachtet wurde. So konnten Rensing *et al.* (1998) z.B. Pb(II)-Pumpen in *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli* charakterisieren. In Gram-negativen Bakterien wurde ein Quecksilber-Resistenz Operon identifiziert, das sie befähigt, organische und inorganische Quecksilberverbindungen in die flüchtige und weniger toxische Hg(0)-Form umzuwandeln, welches sich schnell aus der Zelle verflüchtigt (Ogawa *et al.* 1984, Summers 1986). Dazu sind zwei Gene notwendig, *merA* und *merB*. Die chemische Reaktion läuft nach folgendem Schema ab:

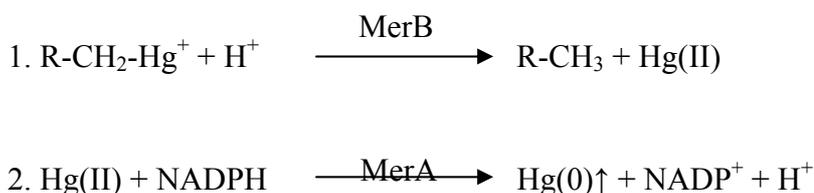


Tabelle 5: Transgene in Pflanzen zur Degradation organischer Schadstoffe

Gen	Produkt	Quelle	Ziel	Abbau folgender Schadstoffe	Referenz
<i>onr</i>	Pentaerythritol Tetranitrat Reduktase	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	Nitratester, Nitroaromatische Sprengstoffe	French <i>et al.</i> 1999
<i>P450 2E1</i>	Cytochrom P450 2E1	Mensch	<i>N. tabacum</i>	TCE, EDB	Doty <i>et al.</i> 2000
<i>nfsI</i>	Nitroreduktase	<i>E. cloacae</i>	<i>N. tabacum</i>	TNT	Hannink <i>et al.</i> 2001
<i>flac</i>	Laccase III	<i>Coriolus versicolor</i>	<i>N. tabacum</i>	Chlorphenole	Sonoki <i>et al.</i> 2004

TNT - 2,4,6-Trinitrotoluen, TCE - Trichlorethylen, EDB - Dibromethylan

Dieser Stoffwechselweg konnte erfolgreich in *A. thaliana*, Tabak und Pappel integriert werden, was zu einer enormen Erhöhung der Toleranz gegenüber organischen Quecksilberverbindungen und Hg(II) führte (Rugh *et al.* 1996, Heaton *et al.* 1998, Rugh *et al.* 1998, Bizily *et al.* 2000, Ruiz *et al.* 2003). Damit ergibt sich eine neue Variante der Phytoextraktion, die **Phytovoltalisation**: Der Schadstoff wird nicht primär in oberirdischen Sprosse akkumuliert, sondern in einen flüchtigen Stoff umgewandelt und in die Atmosphäre freigesetzt.

Organische Schadstoffe

Einige organische Schadstoffe konnten bereits durch Phytoremediation mit natürlich vorkommenden Pflanzen aus belasteten Böden zum großen Teil entfernt werden. Dazu zählen u.a. das Herbizid Atrazin (Burken & Schnoor 1997), Trichlorethylen (Gordon *et al.* 1998) und der Brennstoffzusatz Methyl Tertiär-Butyl Ether (Winnike-McMillan *et al.* 2003). Aber auch hier gilt, **dass Bakterien eine wesentlich höhere Vielfalt und Effektivität an degradierenden Stoffwechselwegen besitzen als Pflanzen** (siehe z.B. Zusammenfassungen Shaw & Burns 2003, Parales & Haddock 2004).

Die **Anwendung von Bakterien auf kontaminierten Flächen war bisher jedoch selten erfolgreich** (Van Veen *et al.* 1997). Gründe dafür können die Konkurrenz anderer Bakterien sein bzw. die fehlende Anpassung an die jeweiligen Standortbedingungen. Ein weiteres Problem besteht darin, dass die Schadstoffe häufig durch Ko-Metabolismus abgebaut werden, d.h. es müssen weitere Substrate zugegeben werden, welche die spezifischen Enzyme für den Abbau induzieren. Ebenso ist die Vorhersage des Endresultats der Biodegradation im Fall von Bakterien schwierig, aufgrund der unzähligen, die Reaktion beeinflussenden Umweltfaktoren (Wackett & Ellis 1999).

Aus diesem Grund wird versucht, **Pflanzen durch die Integration der bakteriellen Gene zu optimieren**, die wesentlich einfacher angebaut werden können und eine höhere Biomasse besitzen. Einige aktuelle Beispiele sind in Tabelle 5 aufgeführt. Sehr oft ist allerdings das Schicksal der Abbauprodukte unbekannt, bzw. ebenfalls toxisch wie der Abbau von TNT zu ADNTs (Aminodinitrotoluen Derivate) in transgenen Tabakpflanzen (French *et al.* 1999, Doty *et al.* 2000, Hannink *et al.* 2001, Sonoki *et al.* 2005).

Ein völlig anderer Ansatz wurde von Barac *et al.* entwickelt (2004). Durch einen natürlichen Gentransfer zwischen Bakterien (Konjugation, siehe 6.5) wurde das

Toluendegradations-Plasmid pTOM von *Burkholderia cepacia* G4, einem toluenabbauenden Bodenbakterium, auf den eng verwandten Stamm *B. cepacia* L.S.2.4 übertragen. Dieses **endophytische Bakterium** besiedelt das lebende Gewebe der Gelben Lupine (*Lupinus luteus*), ohne die Pflanze zu schädigen. Damit wurde neben einem Toluenabbau in der Pflanze eine Verringerung der Phytotoxizität und eine Reduktion von 50 bis 70% der Evapotranspiration durch die Blätter erreicht.

Feldexperimente

Die Charakterisierung viel versprechender transgener Pflanzen, die im Hinblick auf die Phytoremediation in den letzten 10 Jahren entwickelt wurden, erfolgte **bisher lediglich im Labor bzw. im Gewächshaus**. Um ihr Potential auch unter natürlichen Bedingungen zu testen, werden nun Freilandexperimente erforderlich (Eapen & D'Souza 2005, Krämer 2005, Pilon-Smits 2005). Der **erste Freilandversuch** erfolgte vor kurzem mit drei transgenen Linien des Ruten-Kohls (*Brassica juncea*) von Banuelos *et al.* (2005). Die jeweils überexprimierten Transgene kodieren folgende Enzyme:

- Adenosin Triphosphat Sulfurylase (APS) von *A. thaliana* mit Funktion in der Sulfat- und Selenatreduktion,
- γ -Glutamyl-Cystein Synthetase (ECS) und
- Glutathion-Synthetase (GS) von *E. coli*, die beide in der Glutathion-Synthese involviert sind.

In diesem Experiment konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die transgenen Linien auch im Feld signifikant höhere Mengen an Selen im Spross akkumulieren können, im Vergleich zum Wildtyp.

Risiken

Aufgrund der bisher fehlenden Freilandexperimente gibt es noch keine Arbeiten zur Abschätzung potentieller Risiken transgener Phytoremediationspflanzen, bzw. zum horizontalen Gentransfer. Viele der potentiellen Risiken, die für landwirtschaftlich genutzte GVP in zahlreichen Studien erarbeitet wurden, treffen auch hier zu (z.B. Davison 2005). Gleichzeitig können die entwickelten Methoden zur Verringerung des Genflusses übertragen werden, wie z.B. die Transformation von Chloroplasten, mit der die Verbreitung der Transgene über den Pollen zu einem großen Teil verhindert wird.

Ein **Monitoring** beim Anbau transgener Pflanzen im Freiland ist allgemein erforderlich, da ein horizontaler Gentransfer auf Wildpflanzen nicht ausgeschlossen werden kann. Die Klärung folgender Fragen ist auch für die Risikoabschätzung bezüglich transgener Pflanzen zur Phytoremediation hilfreich (Ellstrand 2001, Snow 2002, Ellstrand 2003b):

- Gibt es einen selektiven Vorteil für die transgenen Pflanzen, auch wenn sie auf nichtkontaminierten Flächen stehen?
- Führt eine Auswilderung oder Auskreuzung zu invasiven Unkräutern, die umwelt- und landwirtschaftliche Probleme hervorrufen können?
- Sollte eine Auskreuzung auf Kulturpflanzen erfolgen, werden die Nachkommen dann dazu befähigt, erhöhte Mengen an Schadstoffen/ Schwermetallen aufzunehmen?

Mehrere Einschränkungen können bezüglich der Risiken gemacht werden. Bei den Pflanzen, die für die Phytoremediation produziert werden sollen, **handelt es sich nicht um Nahrungs- bzw. Futterpflanzen**, womit Probleme der Nahrungssicherheit, Allergenität und Kennzeichnungspflicht von Produkten entfallen. Zur Verhinderung der physischen Verbreitung können die Pflanzen bereits **vor der Samenreife geerntet** werden (Davison 2005), möglicherweise sogar vor der Blüte. Sollen transgene Bäume wie z.B. Pappeln eingesetzt werden, können auch Mechanismen zur Pollen- und Samensterilität verwendet werden, da allein vegetatives Gewebe für den Phytoremediationsprozess notwendig ist.

Eine **Verringerung der Exposition von Schadstoffen** wird **gegenüber Wildtieren und Insekten** durch die Phytovoltalisation erreicht, d.h. wenn die Schadstoffe von Pflanzen in flüchtige Substanzen umgewandelt und in die Atmosphäre freigesetzt werden (Bsp. Hg(II) zu Hg(0)↑). Meagher *et al.* (2000) schließen für die Quecksilbervoltalisation transgener Pflanzen eine Gefährdung der Umgebung aus, da Mechanismen fehlen, die zu einer schnellen Rückkehr signifikanter Mengen von Hg(0) zur Erdoberfläche führen würden. Weiterhin stellen sie eine Hochrechnung für eine 25 ha große, mit 80 000 kg Hg kontaminierte Fläche auf, bei der die Quecksilberkonzentration in der Luft selbst bei einer 400fachen Zunahme der Hg(0)-Freisetzung durch transgene Pflanzen nur 4% der durch die meisten Regierungen vorgegebenen Grenzwerte betragen würde. Die Phytovoltalisation ist allerdings nicht für alle Stoffe möglich. Zumindest größere Wildtiere können jedoch durch **Umzäunungen** der mit Phytoremediation zu behandelnden Flächen vom Gras abgehalten, womit deren Schadstoffexposition vorgebeugt wird.

Fazit

Gegenwärtige und zukünftige genetische Veränderungen von Pflanzen für die Nutzung in der Phytoremediation umfassen (Davison 2005):

- Transgene aus Pflanzen und Mikroorganismen, genetische Änderung von endophytischen Bakterien, Integration verschiedener Transgene im Tandem, Nutzen von Gewebs-/ Zelltyp-spezifische Promotoren, Manipulation des regulatorischen Prozesses der pflanzlichen Metallhomöostase, markerbasierte Zucht, somatische Hybridisierung;
- zur Verringerung des Genflusses: Samensterilität, Transformation der Chloroplasten, Samensterilität bei Auskreuzung, konditionelle Letalität.

Es sind bisher noch keine transgenen Pflanzen für eine kommerzielle Anwendung der Phytoremediation verwendet worden. Aus diesem Grund fehlen bisher Arbeiten zur Risikoabschätzung bzw. zur Problematik des Genflusses auf Wildpflanzen. Die ersten Freilandexperimente mit viel versprechenden, gentechnisch veränderten Pflanzen stehen allerdings bevor.

TEIL II: RISIKEN, FALLSTUDIEN, ÜBERWACHUNG

6 Potentielle Schäden

Die mit dem Anbau von GVP verknüpften Sicherheitsbedenken variieren je nach Art der gentechnischen Veränderung des Pflanzengenoms. Tabelle 6 gibt einen Überblick darüber, welche gentechnischen Manipulationen für ein Monitoring, das auf das Überwachen möglicher Effekte oder Prozesse gerichtet ist, relevant sind.

Tabelle 6: Zuordnung von Beobachtungsgegenständen für das Monitoring zu den entsprechenden gentechnischen Manipulationen

Beobachtungsgegenstände („Schäden“)	Relevante gentechnische Manipulationen
Entstehung insektizidresistenter Schädlinge	Insektizid-Expression
Entstehung von herbizidresistenten Pflanzen	Herbizidresistenz
Genfluss/Hybridisierung	Die bloße Verbreitung der Transgene betreffend: Alle gentechnischen Modifikationen, ökologische Schäden werden v.a. durch höhere Stresstoleranzen erwartet
Effekte auf Nicht-Zielorganismen	Insbesondere Insektenresistenz, im Prinzip aber alle Modifikationen, die den Phänotyp der Pflanzen verändern
Indirekte Effekte durch Änderung der Bewirtschaftungspraxis	Herbizidresistenz, Insektenresistenz
Horizontaler Gentransfer	v.a. Antibiotikaresistenz (Markergene)
Gesundheitsrisiken	Alle Modifikationen, v.a. veränderte Inhaltsstoffe
Unerwartete Effekte (‘unanticipated effects’)	Alle Modifikationen
Spezielle Risiken beim ‚Gene Pharming‘	Expression von pharmazeutischen Wirkstoffen
Gene Stacking	Alle multiplen Modifikationen

6.1 Genfluss, Hybridisierung, Introgression und Verbreitung von Transgenen

6.1.1 Übersicht

Im Zusammenhang mit der Erforschung des Verbreitungspotentials von transgenen Pflanzen bzw. einzelner Gene wird häufig die Analogie der Invasion eines Areals durch gebietsfremde Arten (Neophyten) gebraucht. Eine Verbreitung von Transgenen kann entweder die Folge einer **Einwanderung transgener Kulturpflanzen in angrenzende Gebiete** oder einer Hybridisierung der transgenen Kultursorte mit verwandten Wildpflanzen sein. Im ersten Fall wäre die transgene Sorte selbst invasiv, im zweiten Fall handelte es sich um die **Introgression von Genen der Kultursorte in das Genom einer verwandten Art**, die hierdurch möglicherweise eine erhöhte Fitness erlangt (vgl. Parker 1996, Wolfenbarger & Phifer 2000). Bei den meisten Kulturpflanzen, die durch genetische Manipulation verändert werden, handelt es sich um Sorten, die durch intensive Züchtung entstanden sind und ihre Fähigkeit, in natürlichen Habitaten zu überleben, verloren haben (Raybould & Gray 1994). Aus diesem Grund wurde insbesondere das Introgressions-Szenario intensiv studiert.

Der Austausch von Genen zwischen Feldfrüchten, Wildpflanzen und Unkräutern war schon immer ein wichtiger Faktor bei der Evolution dieser Artengruppen. Einerseits entwickelten sich viele Feldfrüchte durch wiederholte Zyklen von Hybridisierung und

Differenzierung aus ihren wilden bzw. Unkraut-Vorfahren (Harlan 1992). Wildarten sind in der **Pflanzenzucht** immer noch eine wichtige Quelle von Genen, die in Feldfrüchte eingekreuzt werden können, um deren genetische Basis zu erweitern, Resistenzen zu übertragen, die Toleranz gegenüber biotischen oder abiotischen Stressoren zu erhöhen oder erwünschte agronomische Eigenschaften in die kultivierten Formen zu übertragen (Frankel et al. 1995). Andererseits hat **natürliche Hybridisierung** zwischen Feldfrüchten und Wildarten schon zum Aussterben von Feldfrucht-Verwandten geführt oder zum Entstehen von neuen, aggressiveren und besser an anthropogene Habitate angepassten Unkraut-Rassen beigetragen (Ellstrand *et al.* 1999). Erst mit der kommerziellen Freisetzung von gentechnisch veränderten Pflanzen hat der Genfluss zwischen Feldfrüchten und Unkräutern größere wissenschaftliche Aufmerksamkeit erlangt. Eine umfangreiche Literatur widmet sich nun der Ausbreitung von Transgenen durch Pollen und Samen und den möglichen ökologischen und landwirtschaftlichen Effekten (Ellstrand *et al.* 1999, Eastham & Sweet 2002, Groot *et al.* 2003, Jenczewski *et al.* 2003, Stewart *et al.* 2003, Züghart & Breckling 2003, Ellstrand 2003a, Den Nijs *et al.* 2004, Pilson & Prendeville 2004, Legere 2005, Wessler 2005).

Eine wesentliche Befürchtung ist dabei, dass der weit verbreitete Anbau mancher transgener Feldfrüchte die **Evolution von unerwünschten und invasiveren Unkräutern beschleunigen** würde und so die Biodiversität geschädigt oder Ökosystemfunktionen beeinträchtigt werden könnten (Tiedje *et al.* 1989, Snow & Moran-Palma 1997). Obwohl diese Gefahr auch von traditionell erzeugten Feldfrüchten ausgeht (Ellstrand *et al.* 1999), bestehen Unterschiede zwischen gentechnischer Erzeugung und traditioneller Pflanzenzucht in Bezug auf die Identität, Anzahl und Wirkungen der eingeführten Eigenschaften, so dass von manchen GVP ein höheres Risiko ausgeht (Regal 1994).

Der Genfluss zwischen Feldfrüchten und Wildpflanzen bedarf der Abfolge einer Reihe aufeinander aufbauender Schritte des Genaustausches (Abb. 8):

- Räumliche Nähe von Feldfrüchten und wilden Verwandten,
- Biologie und Phänologie der Pollen- und Samenausbreitung,
- Produktion lebensfähiger und fertiler F1 Hybride,
- Erzeugung fertiler Nachfolgegenerationen,
- Übertragung von Genen, Chromosomen-Rekombination und Introgression in den genetischen Hintergrund der Wildarten,
- Wirkung des/ der transferierten Gene und möglicher pleiotroper Effekte in Bezug auf die Persistenz der eingekreuzten Feldfrucht-Gene in natürlichen Pflanzengemeinschaften.

Im Folgenden werden diese Stufen eingehender dargestellt und diskutiert. Eine tabellarische Zusammenstellung wichtiger Fallstudien findet sich im Anhang I.

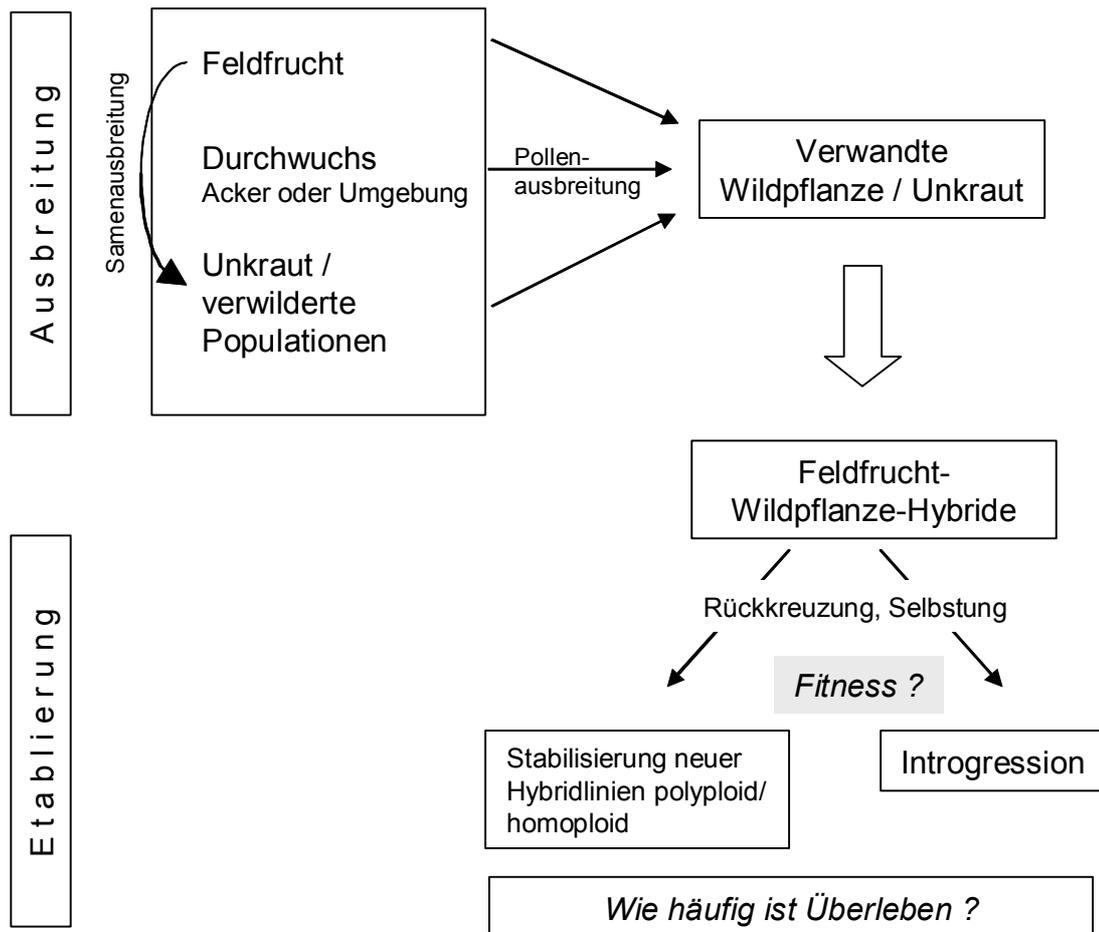


Abb. 8: Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte beim Genfluss zwischen Feldfrucht und Wildpflanzen (nach Jenczewski *et al.* 2003)

6.1.2 Ausbreitung von Genen und Transgenen

6.1.2.1 Ausbreitung von Genen via Pollen

Geographische Überlappung

Der Genfluss zwischen Feldfrüchten und Wildpflanzen wird als Pollen-limitiert betrachtet (Ellstrand & Hoffman 1990). Gen-Ausbreitung durch **Pollen** ist nur möglich, wenn sexuell kompatible Verwandte in Regionen wachsen, wo die Feldfrucht angebaut wird. Großräumig betrachtet hängt die Wahrscheinlichkeit von Genfluss von der **geographischen Verbreitung der Feldfrüchte und ihrer wilden Verwandten** ab. Solche Kontakte sind generell dort häufiger, wo die Feldfrucht ihr Herkunftsgebiet oder Diversitätszentrum hat (Simmonds 1995), z.B. Raps und Zuckerrübe in Europa und Mais in Südamerika.

Voraussetzung für Hybridisierung ist das gemeinsame Vorkommen sexuell kompatibler Paare von Kultursorten und Wildpflanzen oder Unkräutern. Länderübersichten über **potentielle Hybridisierungspartner** wurden für verschiedene europäische Länder zusammengestellt, die zum Teil auch auf Deutschland anwendbar sind: Österreich (Pascher & Gollmann 1999), Großbritannien (Raybould & Gray 1993), Niederlande (De Vries *et al.*

1992). Hier wurde aus der Kenntnis von Hybriden und der Häufigkeit der Kultur- und Wildarten und zum Teil unter Berücksichtigung von Pollen- und Samenausbreitungspotenzialen eine Bewertung der Hybridisierungswahrscheinlichkeit vorgenommen (Tabelle 7). Bezogen auf einige wichtige landwirtschaftliche Kulturarten wurden Kreuzungspartner in Deutschland zusammengestellt (Gerdemann-Knörck & Tegeger 1997, Neuroth 1997), eine umfassende Darstellung der potentiellen Hybridisierungspartner in Deutschland existiert aber bisher nicht.

Von besonderer Relevanz ist der Genfluss bei Artengruppen, aus der eine weit verbreitete Feldfrucht gentechnisch modifiziert wurde, deren Ursprungsart oder kompatible Wildarten hier vorkommen, wie z.B. bei Raps und Zuckerrübe. Darüber hinaus gibt es allerdings eine Vielzahl von Gemüse-Arten, Nutzpflanzen, Bäumen oder Futtergräsern und Futterpflanzen, die potentiell für die gentechnische Veränderung geeignet sind und die in Mitteleuropa direkte Wildverwandte haben. Weiterhin sind auch Arten von Interesse, die bei uns als **neophytische Unkräuter** vorkommen, wie z.B. die Wilde Mohrenhirse (*Sorghum halepense*) oder Gänsefuß-Arten (*Chenopodium* spp.), die aber in anderen Regionen mit Feldfrucht-Arten hybridisieren können. Auf diesem Wege könnten Sippen entstehen, die neue Unkraut-Eigenschaften aufweisen, die sie stärker invasiv machen.

Die Verbreitung von Pflanzenarten in Deutschland ist durch **floristische Kartierungen** vergleichsweise gut bekannt (Abb. 9, vgl., Haeupler & Schönfelder 1988, Benkert et al. 1996). Andererseits sind Ackerunkräuter und Ackerflächen möglicherweise floristisch weniger intensiv bearbeitet.

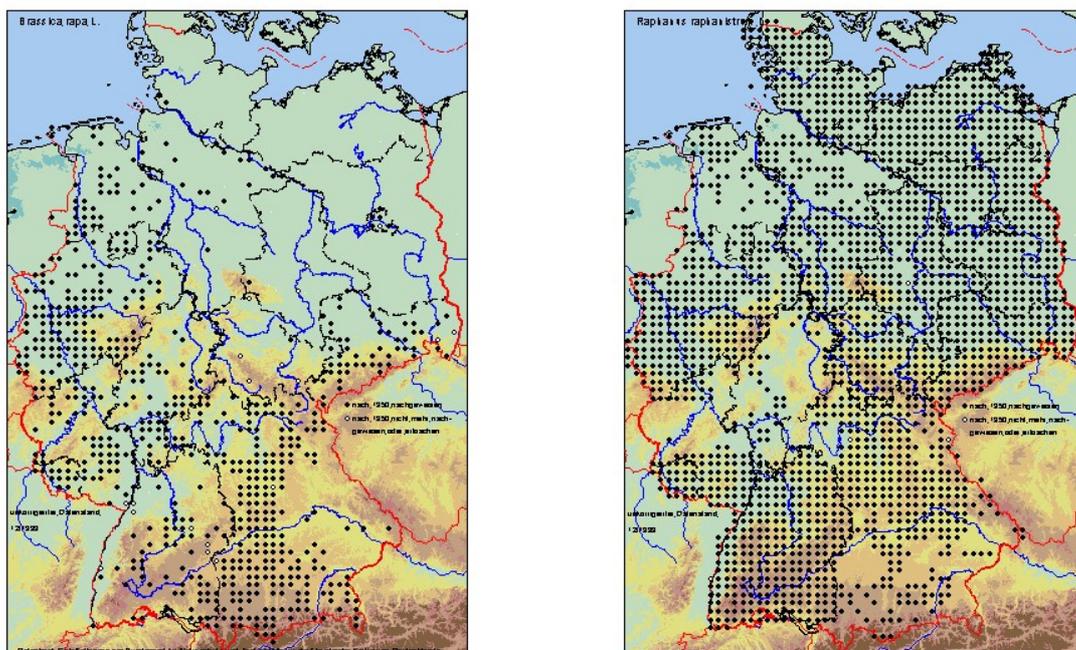


Abb. 9: Verbreitung von Rübsen (*Brassica rapa*) und Hederich (*Raphanus raphanistrum*) in Deutschland (aus www.floraweb.de)

Tabelle 7: Wahrscheinlichkeit für vertikalen Genfluss zwischen Kulturarten und in Deutschland wild vorkommenden Arten, unabhängig von gentechnischer Veränderung (nach De Vries *et al.* 1992, Raybould & Gray 1993, Pascher & Gollmann 1999)

Wahrscheinlichkeit für vertikalen Genfluss	
Kultur-Art	Wildarten
Sehr Hoch/Hoch	
Wiesen-Schwingel (<i>Festuca pratensis</i>)	Wilde Schwingel-Arten: Wiesen-Schwingel (<i>F. pratensis</i> , Wildformen), Riesen-Schwingel (<i>F. gigantea</i>), Verschiedenblättriger Schwingel (<i>F. heterophylla</i>), Rohr-Schwingel (<i>F. arundinacea</i>); Weidelgras-Arten: Ausdauerndes Weidelgras (<i>Lolium perenne</i>), Vielblütiges Weidelgras (<i>L. multiflorum</i>), Lolchschwingel (<i>Festulolium lolium</i> = Intergenerischer Hybrid <i>F. pratensis</i> x <i>L. perenne</i>)
Weidelgras-Arten: (<i>Lolium perenne</i> & <i>L. multiflorum</i>)	Wildes Weidelgras (<i>L. perenne</i> & <i>L. multiflorum</i>), Schwingel-Arten (<i>Festuca</i> spp.)
Straußgras-Arten (<i>Agrostis stolonifera</i> , <i>A. capillaris</i>)	Wilde Straußgras-Arten (<i>A. capillaris</i> , <i>A. stolonifera</i> , <i>A. castellana</i> , <i>A. gigantea</i>)
Bastard-Luzerne (<i>Medicago x varia</i>)	Sichelklee (<i>M. falcata</i>), Bastard-Luzerne (<i>M. x varia</i> und <i>M. x varia x falcata</i>)
Möhre (<i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i>)	Wilde Möhre (<i>Daucus carota</i> ssp. <i>carota</i>)
Rotklee (<i>Trifolium pratense</i> -Kultivar)	Wilder Rotklee (<i>Trifolium pratense</i>)
Weiß-Klee (<i>Trifolium repens</i> -Kultivar)	Wilder Weiß-Klee (<i>Trifolium repens</i>)
Zuckerrübe (<i>Beta vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i>)	Wilde Rübe (<i>Beta vulgaris</i> ssp. <i>maritima</i> = <i>Beta maritima</i>)
Kohl, Blumenkohl etc. (<i>Brassica oleracea</i>)	Wilder Kohl (<i>Brassica oleracea</i>)
Endivie (<i>Cichorium intybus</i> var. <i>foliosum</i>)	Wegwarte (<i>Cichorium intybus</i>)
Kultur-Apfel (<i>Malus domestica</i>)	Wild-Apfel (<i>Malus sylvestris</i>). Kultur-Apfel (<i>M. domestica</i> , verwildert)
Pflaume (<i>Prunus domestica</i>)	Schlehe (<i>P. spinosa</i>), Pflaume (<i>P. domestica</i> , verwildert)
Pappeln (<i>Populus</i> spp.)	Schwarz-Pappel (<i>P. nigra</i>), Zitter-Pappel (<i>P. tremula</i>)
Niedrig	
Grüner Salat (<i>Lactuca sativa</i>)	Kompass-Lattich (<i>Lactuca serriola</i>), Gift-Lattich (<i>L. virosa</i>) (<i>L. serriola</i> + <i>L. virosa</i> sind mögliche Eltern von <i>L. sativa</i>)
Bastard-Luzerne (<i>Medicago x varia</i>)	Hopfenklee (<i>Medicago lupulina</i>), Zwerg-Schnecken-Klee (<i>M. minima</i>), Arabischer Schneckenklee (<i>M. arabica</i>)
Rotklee (<i>Trifolium pratense</i> -Kultivar)	Mittelklee (<i>Trifolium medium</i>) und >20 weitere Klee-Arten
Wiesen-Schwingel (<i>Festuca pratensis</i>)	Flut-Schwaden (<i>Glyceria fluitans</i>), Gefalteter Schwaden (<i>G. notata</i>)
Pflaume (<i>Prunus domestica</i>)	Vogel-Kirsche (<i>Prunus avium</i>), Traubenkirsche (<i>Prunus padus</i>)
Raps (<i>Brassica napus</i> ssp. <i>oleifera</i>)	Rübsen (<i>Brassica rapa</i> = <i>B. campestris</i>), Wilder Kohl (<i>B. oleracea</i>), Schwarzer Senf (<i>B. nigra</i>), Grausenf (<i>Hirschfeldia incana</i>), Weißer Senf (<i>Sinapis alba</i>), Acker-Senf (<i>S. arvensis</i>)
Kohl, Blumenkohl etc. (<i>Brassica oleracea</i>)	Rübsen (<i>Brassica rapa</i> = <i>B. campestris</i>), Schwarzer Senf (<i>B. nigra</i>)
Gerste (<i>Hordeum vulgare</i>)	Gerste-Arten (<i>Hordeum</i> spec.)
Saat-Lein (<i>Linum usitatissimum</i>)	Ausdauernder Lein (<i>L. perenne</i>), Wiesen-Lein (<i>L. catharticum</i>)
Schwarze Johannisbeere (<i>Ribes nigrum</i>)	Ährige Johannisbeere (<i>R. spicatum</i>), Alpen-Johannisbeere (<i>R. alpinum</i>)
Himbeere (<i>Rubus idaeus</i>)	Brombeeren (<i>Rubus fruticosus</i> agg.), Kratz-Beere (<i>Rubus caesius</i>)
Minimal	
Weiß-Klee (<i>Trifolium repens</i>)	andere Klee-Arten (<i>Trifolium</i> spec.)
Kartoffel (<i>Solanum tuberosum</i>) und Tomate (<i>S. lycopersicum</i>)	Schwarzer Nachtschatten (<i>S. nigrum</i>), Bittersüßer Nachtschatten (<i>S. dulcamara</i>)
Kohl, Blumenkohl etc. (<i>Brassica oleracea</i>)	andere Kreuzblütler (<i>Eruca</i> spec., <i>Erucastrum</i> spec., <i>Diplotaxis</i> spec.)
Weizen (<i>Triticum aestivum</i>)	Gerste-Arten (<i>Hordeum</i> spec.), Quecken-Arten (<i>Elytrigia</i> spec. s.l.)
Gerste (<i>Hordeum vulgare</i>)	Quecken-Arten (<i>Elytrigia</i> spec. s.l.)
Roggen (<i>Secale cereale</i>)	Gerste-Arten (<i>Hordeum</i> spec.)
Saubohne (<i>Vicia faba</i>)	Wicken-Arten (<i>Vicia</i> spp.)
Erdbeere (<i>Fragaria x ananassa</i>)	Wilde Erdbeeren (<i>Fragaria vesca</i> , <i>F. viridis</i> , <i>F. moschata</i>)
Mais (<i>Zea mays</i>), Garten-Bohne (<i>Phaseolus vulgaris</i> & <i>Phaseolus coccineus</i>), Erbse (<i>Pisum sativum</i>), Gurke (<i>Cucumis sativus</i>), Sonnenblume (<i>Helianthus annuus</i>)	keine nahen Verwandten

Blühzeitraum, Blühphänologie

Das Potential für spontanen Genfluss zwischen Feldfrucht und Wildarten hängt dann davon ab, inwieweit die Blühperioden überlappen. Vergleichende experimentelle Daten zur Phänologie von Feldfrucht und Wildarten sind rar. Allerdings legen sie nahe, dass wilde Populationen normalerweise eine weitere Spanne der Blühzeitpunkte aufweisen als Feldfrüchte. Dieser Unterschied in der Blühdauer erhöht die Überlappungswahrscheinlichkeit, da immer einige der wilden Pflanzen zeitgleich mit der Kulturart blühen werden. Andererseits kann die Überlappung auch sehr begrenzt sein, so dass die meisten Wildpflanzen zeitlich von der Kulturart isoliert sind. Dies gilt selbst für Kultivare und Wildformen derselben Art. So war die Übertragung der Herbizid-Resistenz von einer Kultursorte des Weißen Straußgrases (*Agrostis stolonifera*) auf sortengleiche Wächterpflanzen (2,0%) 60mal höher als auf Wildpflanzen der gleichen Art (0,03%), vor allem auf Grund einer zwei bis drei Wochen späteren Blühzeit (Watrud *et al.* 2004). Selbst die Blühperiode von Kultursorte und deren Durchwuchs muss nicht identisch sein. So zeigten Gruber *et al.* (2005), dass Raps und Durchwuchs-Raps aus dem Vorjahr nicht zeitgleich blühten und deswegen Genfluss unwahrscheinlich war. Der Anbau von früh- oder spätblühenden Kultivaren kann somit große Effekte auf das Ausmaß des Genflusses haben.

Pollenausbreitung durch Wind und Insekten - Reichweiten

Was die Reichweiten der Pollenausbreitung betrifft, haben die meisten Studien stark linksschiefe Ausbreitungsfunktionen beschrieben, wobei die meisten Pollenkörner nur kurze Distanzen zurücklegen und auf größere Entfernung stark zurückgehen. Diese Beobachtung gilt sowohl für wind- wie für insektenbestäubte Arten. Typischerweise werden im Nahbereich mit zunehmender Entfernung exponentiell abfallende Pollenkonzentrationen ermittelt, allerdings geht dieser exponentielle Abfall auf weite Entfernungen in eine nur langsam abfallende Kurve über, so dass bei relativ großen Entfernungen von der Pollenquelle nur noch eine geringe Entfernungsabhängigkeit der Pollenausbreitung besteht (Ramsay 2005). So wurden z.B. bei windbestäubten Baumarten (*Populus*-Hybride) auch Pollenausbreitungsfunktionen gefunden, die relativ hohe Anteile in weiten Entfernungsklassen aufweisen (DiFazio *et al.* 2004, DiFazio 2005).

Einen Anhaltspunkt über die Reichweite des Genflusses kann man aus den Isolationsdistanzen für die Erzeugung konventionellen Saatgutes erhalten. Für die Produktion sortenreinen Saatgutes ist es essentiell, dass keine Einkreuzung durch andere Sorten mittels Polleneintrag stattfindet. Deshalb wurden für viele Kulturpflanzen Isolationsdistanzen ermittelt, bei deren Einhaltung die genetische Verunreinigung minimiert wird. Diese variieren stark zwischen wenigen Metern bei selbstbestäubten Arten wie Weizen und mehreren Kilometern bei Zuckerrüben (Raybould & Gray 1993, siehe auch Abb. 10). Regelungen zur Minimierung von ungewünschten Auskreuzungen bestehen in Deutschland bislang für die **Erzeugung von Saatgut** durch das Saatgutverkehrsgesetz. Auf EU-Ebene sind die Richtlinien 66/402/EWG, 2002/54/EG, 2002/55/EG, 2002/56/EG und 2002/57/EG maßgebend. Darin werden Mindestanforderungen für das geerntete und in Verkehr gebrachte Saatgut, insbesondere hinsichtlich der Sortenreinheit, beschrieben (Brauner *et al.* 2004).

Feldfrucht	Lat. Name	Befruchtungs-system	Bestäubungs-modus	Isolations-distanz (m)	
Saat-Lein	<i>Linum usitatissimum</i>	S	I	100-300	
Lupinen	<i>Lupinus spp.</i>	S	I	500	
Grüner Salat	<i>Lactuca sativa</i>	S	I	30-60	
Hafer	<i>Avena sativa</i>	S	W	180	
Gerste	<i>Hordeum vulgare</i>	S	W	180	
Weizen	<i>Triticum aestivum</i>	S	W	1,5-3,0	
Raps*	<i>Brassica napus</i>	SF	I	200	
Paprika	<i>Capsicum spp.</i>	SF	I	360	
Selleri	<i>Apium graveolens</i>	SF	I	1100	
Bohnen	<i>Phaseolus spp.</i>	SF	I	45	
Saubohne	<i>Vicia faba</i>	SF	I	90-180	
Pastinak	<i>Pastinaca sativa</i>	SF	I	500	
Tabak	<i>Nicotiana tabacum</i>	SF	I	400	
Futtergräser	<i>Poa, Bromus, Festuca</i>	SF	W	540-1000	
Sonnenblume	<i>Helianthus annuus</i>	F	I	800	
Rübsen	<i>Brassica campestris</i>	F	I	900	
Möhre	<i>Daucus carota</i>	F	I	900	
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	F	I	30-60	
Luzerne, Klee	<i>Medicago, Trifolium spp.</i>	F	I	720-1600	
Kohl-Sorten	<i>Brassica oleracea</i>	F	I	600-970	
Küchenzwiebel	<i>Allium cepa</i>	F	I	900	
Rettich	<i>Raphanus sativus</i>	F	I	270-300	
Kürbis etc.	<i>Cucurbita spp.</i>	F	I	400	
Mais*	<i>Zea mays</i>	F	W	200	
Roggen	<i>Secale cereale</i>	F	W	180	
Rübe*	<i>Beta vulgaris</i>	F	WI	1000	
Rübe	<i>Beta vulgaris</i>	F	WI	3200	

Abb. 10: Minimale Isolationsdistanzen verschiedener Feldfrüchte für die Erzeugung reiner Varietäten (nach Raybould & Gray 1993; *: nach EU-Richtlinien RL 2002/57/EG, RL 66/402/EWG, RL 2002/54/EG); Befruchtungssystem: S: vorwiegend selbstbefruchtet, F: Vorwiegend fremdbefruchtet; Bestäubungsmodus: I: Insektenbestäubt; W: Windbestäubt

Eine wesentliche Rolle bei der Bestäubung spielt der Pollen-Vektor, seien es Insekten, Wind oder Selbstbestäubung. **Selbstbestäubung** ist naturgemäß räumlich auf die Pflanze beschränkt, wenn auch die meisten Selbstbestäuber eine geringe Auskreuzungsrate aufrechterhalten (s.u.). Obwohl **Pollen-Fernausbreitung** insgesamt selten ist (Kareiva *et al.* 1994), wurde Hybridisierung zwischen Feldfrüchten und verwandten Unkräutern oder Wildarten durch **Insektenbestäubung** oft auch bis mehrere 100m entfernt von der Kultursorte nachgewiesen (Kirkpatrick & Wilson 1988, Klinger *et al.* 1992). Herbizid-Resistenz wurde zwischen Rapsfeldern übertragen mit Raten von 1,4% direkt am Feldrand, 0,2% in 50 m und 0,04% in 800 m (Beckie *et al.* 2003). Die in dieser Studie beobachtete stetige Abnahme der Auskreuzungsraten mit zunehmender Entfernung wurde allerdings nicht immer festgestellt. So zeigten Rieger *et al.* (2002) bis 3000 m Einkreuzungsraten zwischen 0,11 und 0,2% ohne fallende Tendenz. Im Gegensatz zu anderen Studien, die mit kleinen Pollenquellen gearbeitet haben, fanden Rieger *et al.* (2002) somit keine leptokurtische oder exponentielle Abnahme des Gentransfers von der Pollenquelle zu weiter entfernten Distanzen hin, sondern zufällig verteilte Einkreuzungsereignisse auch in weiten Abständen zur Quelle. Dies scheint vor allem daran zu liegen, dass hier erstmals landwirtschaftlich relevante Feldgrößen untersucht wurden.

Die zahlenmäßig dominierenden bestäubenden Insekten sind die Honigbiene und Hummeln, allerdings sind viele weitere Insektengruppen ebenfalls Honig- und Pollensammler und können zum Pollentransport beitragen. Die Reichweite von Bienen und Hummeln kann in Abhängigkeit vom Futterangebot mehrere km betragen (Walther-Hellwig & Frankl 2000, Darvill *et al.* 2004), womit Pollen-Fernausbreitung prinzipiell möglich ist.

Auch bei **Windbestäubung** bleiben die meisten Pollen im Nahbereich. Jedoch können vom Wind ausgebreitete Pollen theoretisch an jeden Ort der Erde gelangen, wenn sie, wie nachgewiesen, über die atmosphärische Grenzschicht gelangen und vom Wind verlagert werden können (Brunet *et al.* 2003). Bei windbestäubten Gräsern (*Agrostis stolonifera*, Weißes Straußgras) wurde Herbizid-Resistenz **bis 21 km** auf die gleiche Art und bis 14 km auf *A. gigantea* übertragen (Watrud *et al.* 2004). Die oft zitierte Studie von Quist & Chapela (2001), die DNA-Konstrukte von *Bt*-Mais und HR-Mais in ursprünglichen Mais-Sorten im Gen-Zentrum dieser Art in Mexiko weit entfernt von Anbaugebieten gefunden hatten, wurde wegen methodischer Mängel kritisiert (Kaplinsky *et al.* 2002, Metz & Futterer 2002) und kann nicht als Beweis für Windtransport von Mais-Pollen über sehr große Entfernungen gewertet werden. Hofmann *et al.* (2005) konnten jedoch bis in 2400 m Entfernung von der Feldquelle in der Hauptwindrichtung noch 247000 Maispollen pro m² messen, was ca. 25 Pollen pro cm² entspricht. In 2700 m Entfernung vom Feldrand (größte gemessene Distanz, andere Windrichtung) waren es noch drei Pollen pro cm². Bei der windbestäubten Zuckerrübe wurde eine Pollenausbreitung bis 32 km festgestellt (Raybould & Gray 1993).

Generalisierungen über zu erwartende Hybridisierung sind nicht einfach. Viele Studien haben erhebliche und oft unvorhersagbare Unterschiede des Genflusses zwischen Feldfrucht und Wildarten zwischen isolierten Pflanzengruppen gefunden (Raybould & Gray 1993, Morris *et al.* 1994, Giddings *et al.* 1997a). Die Unterschiede hatten nicht immer eine Beziehung zur Distanz (Manasse 1992) und hingen von einer Vielzahl äußerer Faktoren ab. Hierbei waren besonders die Form, die relative Größe und Dichte sowohl der Spender-Feldfrucht wie auch der Empfänger-Wildpflanzenpopulation von Bedeutung (Jørgensen & Andersen 1994, Chevre *et al.* 2000). Zum Beispiel fanden Ellstrand *et al.* (1989) so gut wie keinen Genfluss zwischen kleinen künstlichen Rettichflächen, die 20-400 m voneinander entfernt waren. Allerdings trat ein starker Genfluss von sehr großen Populationen aus 650-1000 m Entfernung auf (Klinger *et al.* 1992). Solch **asymmetrischer Genfluss** ist zu erwarten, wenn die relative Größe der Empfänger-Populationen klein oder fragmentiert ist (Ellstrand 1992, Ellstrand *et al.* 1999). So lag die Einkreuzungsrate zweier Transgene (GFP, *Bt*) von Raps in Rübsen bei einem Verhältnis von 180:1 (*Brassica napus* : *B. rapa*) bei 2%, während sie bei 600:1 auf 4 bis 22% zunahm (Halfhill *et al.* 2004). Ebenfalls an Raps wurde gezeigt, dass bei kleinen Populationen der relative Anteil von Pollen, die von außerhalb kommen, zunimmt (Cresswell & Osborne 2004). **Dies hätte zur Folge, dass bei kleinen Populationen von verwandten Unkräutern oder Unkraut-Raps in der Nähe von großen GV-Rapsfeldern mit einem relativ hohen Anteil von Fremdbestäubungen zu rechnen ist.** Das gleiche gilt auch für kleine Versuchspartzellen: Götz & Ammer (2000) fanden Einkreuzungsraten zwischen HR-Raps und konventionellem Raps von 0,4% bis 2,3% bei nur 18 m² großen direkt benachbarten Parzellen.

Eine Metaanalyse von elf empirischen Studien zum Genfluss von GV-**Raps** zeigte, dass sich der Genfluss zwischen Raps-Feldern in Abhängigkeit von der Isolationsdistanz und der

Breite der Nicht-GV-Felder modellieren lässt (Abb. 11, Damgaard & Kjellsson 2005). Je weiter entfernt und je größer das Nicht-GV-Feld war, desto geringer war die prozentuale Einkreuzung. Die Bestäubung durch GV-Raps lag für Abstände unter 50 m bei kleinen Feldgrößen am höchsten und betrug weniger als 0,1% bei Isolationsdistanzen über 100m und Feldbreiten des Nicht-GV-Feldes von mehr als 200 m. Allerdings ist hier anzumerken, dass dies vor allem ein **Verdünnungseffekt** aufgrund einer großen Ackerfläche ist.

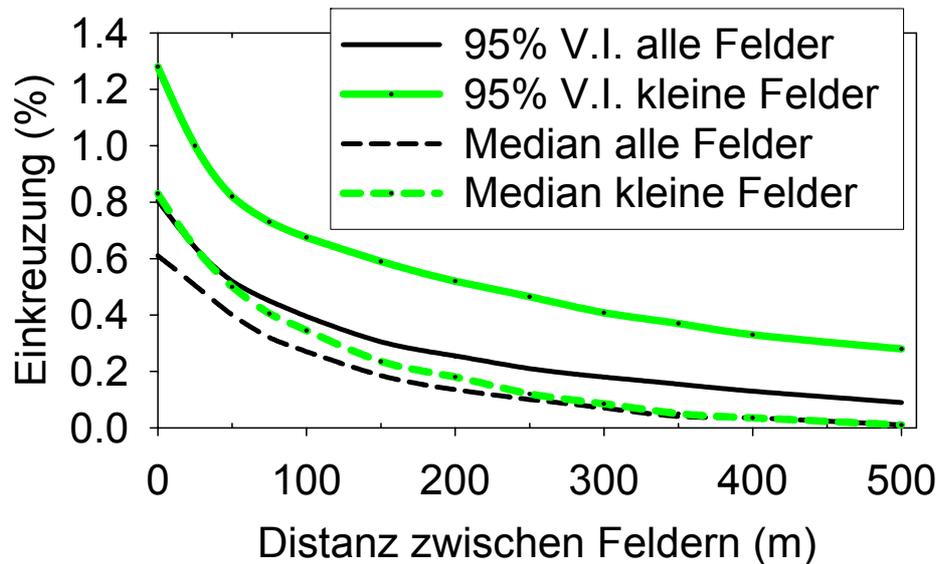


Abb. 11: Wahrscheinlichkeit der Bestäubung von Raps durch Fremdpollen in Abhängigkeit vom Abstand der Felder und der Feldgröße (nach Damgaard & Kjellsson 2005). 95% Vertrauensintervall und Median für kleine Felder (0,8-16 ha, ohne Felder in Australien) und alle Feldgrößen (0,8-100 ha).

Tabelle 8: Vorschläge zu Nutzpflanzen-spezifischen Isolationsabständen im Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen für maximale Auskreuzungsraten von 1, 0,5 und 0,1 % (Öko-Institut e.V., Brauner *et al.* 2004)

Nutzpflanze	1 %	0,5 %	0,1 %	Anmerkungen zur sonstigen Auskreuzungs-Problematik
Raps	300 m	k. A.	6000 m	Durchwuchs, rudere Populationen
Mais	500 m	1000 m	k. A.	
Kartoffeln	-	-	-	Durchwuchspflanzen
Rüben	-	-	-	Schosser, ggf. rudere Populationen

Weit höhere Werte der Isolationsabstände wurden nach Auswertung von 15 Studien von Brauner *et al.* (2004) vorgeschlagen (Tabelle 8), wobei die Autoren feststellten, dass relativ wenige Studien praxisrelevante Feldgrößen untersuchten. Während bei Raps und Mais Auskreuzungen im Jahr des Anbaus relevant sind, ist bei Kartoffeln und Rüben der Durchwuchs bzw. die Schosserbildung der wichtigste Punkt bei der Verhinderung des

Genflusses. Diese Vorschläge liegen höher als die bei der Saatguterzeugung verwendeten Isolationsabstände (vgl. Abb. 10) oder den von Damgaard & Kjellsson 2005 berechneten (Abb. 11), da die Autoren nicht einem Mittelwert folgten, sondern den in einzelnen Studien beobachteten Höchstwerten der Auskreuzung besonderes Gewicht gaben. Dass die Vorstellungen über die in der Praxis anzuwendenden Isolationsabstände weit auseinander gehen, zeigen auch die im Rahmen des Erprobungsanbaues von *Bt*-Mais in Sachsen-Anhalt verwendeten Trennstreifen von 20 m, die möglicherweise als Grundlage für eine Festlegung der „guten landwirtschaftlichen Praxis“ dienen. Nach den EU-Verordnungen 1829/2003/EG und 1830/2003/EG wird die Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit für GVO geregelt. Für unbeabsichtigt verunreinigte Produkte wurde ein **Schwellenwert von 0,9 % GVO-Anteil** festgelegt. Da Genfluss nicht generell zu unterbinden ist, befürchtet der Sachverständigenrat für Umweltfragen (2004) allerdings, „dass bei einer weit reichenden Nutzung der grünen Gentechnik diese Schwellen ... oft überschritten werden“. Unabhängig davon, wie begründet diese Befürchtung ist, zeigt sie die bestehende Unsicherheit und unterstreicht den Bedarf an entsprechender Sicherheitsforschung und Monitoring.

Modellierung

Die Modellierung der Pollenausbreitung kann Beiträge zur Lösung des Problems liefern (Lavigne *et al.* 1998). Dafür müssen (1) individuelle Pollen-Ausbreitungsfunktionen entwickelt werden (z.B. Loos *et al.* 2003, Cresswell *et al.* 2004, Richter & Seppelt 2004) und (2) die Funktionen auf verschiedene landwirtschaftliche Szenarien angewandt werden, um quantitative Vorhersagen zu erhalten. Wie Modellierungen von Genfluss an Pappeln (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*) gezeigt haben, ist die genaue Kenntnis der Pollen-Fernausbreitung von viel größerer Bedeutung als die der Nahausbreitung (DiFazio *et al.* 2004, DiFazio 2005), wobei in diesem Fall Nahausbreitung bis 1 km definiert wurde.

Abschließend muss gesagt werden, dass Genfluss nicht nur in Richtung der Wildarten stattfinden muss. Mittels cytoplasmatischer DNA-Marker konnte gezeigt werden, dass Unkraut-Rüben aufgrund zufälliger Bestäubung von Zuckerrüben durch wilde Rüben in den Samenerzeugungsregionen entstanden sind (Boudry *et al.* 1993). Zusammengefasst zeigen die Studien, dass Pollenausbreitung vor allem im Nahbereich der Felder stattfindet, allerdings auch in geringem Umfang weite Entfernungen bis mehrere km erreicht werden. **Der Genfluss lässt sich durch Feldgröße und -geometrie beeinflussen, aber nicht grundsätzlich unterbinden. Bei weit verbreitetem Anbau von GVP ist somit von Genfluss zwischen sexuell kompatiblen Sorten und Arten auszugehen.**

6.1.2.2 Räumliche und zeitliche (Trans)gen-Ausbreitung durch Samen und vegetative Diasporen

Bei der Gen-Ausbreitung über Samen oder vegetative Ausbreitungseinheiten muss eine räumliche und eine zeitliche Dimension unterschieden werden. Erstens kann räumliche Ausbreitung erfolgen durch Transport von Samen vom Feld in natürliche Pflanzengemeinschaften. Hier können sich Feldfrüchte unter Umständen als Unkraut-Populationen etablieren. Futtergräser könnten sich völlig in naturnahe Pflanzengemeinschaften integrieren. Zweitens kann Ausbreitung in der Zeit erfolgen (Boden-Samenbank), so dass später eine Hybridisierung zwischen Wildpflanzen und Feldfrüchten möglich ist, wenn diese in natürlichen Gemeinschaften oder nach der Ernte auf den Ackerflächen persistieren.

Es ist relativ wenig über das **Ausmaß der räumlichen Samenausbreitung** und die Persistenz von verwilderten Feldfruchtpopulationen bekannt. Erst in den letzten Jahren wurde die Problematik z.B. beim Durchwuchs-Raps und Unkraut-Raps untersucht, der ein zunehmendes Problem darstellt. Samen von Raps gehen vor und während der Ernte in beträchtlichem Maße verloren und können so entweder auf den Ackerflächen zum Unkraut in Folgejahren werden oder Unkrautpopulationen außerhalb der Ackerflächen aufbauen. Voraussetzung für den Aufbau einer Bodensamenbank ist die Dormanz der Samen, also die Fähigkeit, mehrere Jahre im Boden zu überdauern, ohne zu keimen, allerdings unter Erhaltung der Keimfähigkeit zu einem späteren Zeitpunkt. Obwohl Raps keine primäre Dormanz aufweist, können Raps-Samen unter landwirtschaftlich relevanten Bedingungen bis zu elf Jahren im Boden lebensfähig bleiben (Lutman *et al.* 2003). Die Entwicklung der Dormanz erfolgt bei Dunkelheit (Pekrun *et al.* 1998). Somit hängt der Anteil der Samen, der in die Boden-Samenbank gelangt, wesentlich vom Bodenbearbeitungssystem ab (Gruber *et al.* 2005). Ohne Bodenbearbeitung ist er am geringsten und bei Pflügen am höchsten. Andererseits ist ohne Bodenbearbeitung die Möglichkeit für Auskreuzung im Folgejahr am höchsten, da die Durchwuchs-Dichte dann am höchsten ist (Gruber *et al.* 2004a). Auf Rapsfeldern muss in der Regel mit einer Raps-Bodensamenbank gerechnet werden. So konnten in der Hälfte von zehn untersuchten Feldern, auf denen vor zwei bis fünf Jahren GV-Raps angebaut worden war, lebensfähige Samen von GV-Raps nachgewiesen werden (Roller *et al.* 2004).

Beim Vergleich verschiedener transgener und nichttransgener Rapssorten wurde festgestellt, dass große Unterschiede in der Fähigkeit vorhanden sind, dormante Samen zu bilden. Diese Variabilität dient als Potential für die Züchtung möglichst wenig dormanter Sorten (Gruber *et al.* 2004b, 2004c). Modellierungsstudien mit realistischen Feldparametern identifizierten die Hauptfaktoren, welche die Häufigkeit von Durchwuchs-Raps bestimmen: die Höhe der Ernteverluste, die Zeitspanne zwischen Ernte und erster Bodenbearbeitung nach der Ernte, die Effizienz der Bekämpfung von Unkrautraps in anderen Kulturen und schließlich die Fruchtfolge (Pekrun *et al.* 2005, vgl. Claessen *et al.* 2005a, 2005b). Bei Zuckerrüben konnte gezeigt werden, dass Genfluss mittels Samen von Unkraut-Rüben in die natürlichen Wild-Rübenbestände stattgefunden hat (Cuguen *et al.* 2004, Viard *et al.* 2004). Über den ebenfalls erfolgenden Pollenaustausch könnten Unkraut-Rüben als Überträger von Transgenen zwischen GV-Rüben und Wilden Rüben fungieren (vgl. Box 6). Hybride überwinternder transgener Zuckerrüben können z.B. als Pollen-Quelle im nächsten Jahr dienen (Pohl-Orf *et al.* 1999)

Auch seltene Etablierungsereignisse von ausgebreiteten Samen oder vegetativen Ausbreitungseinheiten können über längere Zeiträume hinweg die Möglichkeit der Hybridisierung und Introgression bieten (z.B. Hodges *et al.* 1996). Die Ausbreitung von Samen von Feldfrüchten kann deshalb zum späteren Genfluss zwischen Feldfrucht und Wildarten führen. Dies zeigt, dass eine bessere räumliche und zeitliche Charakterisierung der Ausbreitung und Persistenz von Feldfrucht-Samen nötig ist. **Samenverluste beim Transport** können für eine großräumige Ausbreitung transgener Pflanzen sorgen. So berichtete eine japanische Tageszeitung, dass, obwohl in Japan keine transgenen Pflanzen angebaut werden, wildwachsende Pflanzen von HR-Raps, HR-Soja und IE-Mais gefunden wurden, vorwiegend im Bereich von Hafenstädten, aber auch bis 30 km von diesen entfernt (Nishikawa 2005).

6.1.3 Hybridisierung und Introgression

6.1.3.1 Produktion von F1-Hybriden zwischen Feldfrucht und Wildarten

Der **Grad der Kreuzungs-Kompatibilität** zwischen Kulturpflanzen und ihren wilden Verwandten ist gut untersucht (vgl. auch Tabelle 7), vor allem, weil solche Kreuzungen in der Pflanzenzüchtung eingesetzt werden. Auch die Möglichkeit des entgegengesetzten Genflusses von der Feldfrucht zu Wildarten wurde für viele Arten ermittelt, z.B. *Beta* (Boudry *et al.* 1993), *Brassica* (Chevre *et al.* 1998a), *Chenopodium* (Wilson & Manhart 1993), *Cucurbita* (Wilson *et al.* 1994), *Helianthus* (Arias & Rieseberg 1994), *Medicago* (Jenczewski *et al.* 1999), *Oryza* (Langevin *et al.* 1990), *Pennisetum* (Robert *et al.* 1991), *Raphanus* (Klinger *et al.* 1992), *Setaria* (Till-Bottraud *et al.* 1992), *Sorghum* (Arriola & Ellstrand 1996), *Triticum* (Seefeldt *et al.* 1998, Zemetra *et al.* 1998), *Zea* (Doebley 1990). Diese Daten zeigen, dass Feldfrüchte in der Regel kreuzungskompatibel mit ihren direkten Vorgängerarten sind und dass die Wahrscheinlichkeit für Feldfrucht-Wildarten-Genfluss mit zunehmender genetischer und phänotypischer Distanz abnimmt. Wegen der großen Zahl wilder verwandter Arten, die als Kreuzungspartner in Frage kommen, ist die Situation beim Raps für Mitteleuropa besonders interessant und gut untersucht (Tabelle 9). In manchen Fällen ist die **sexuelle Kompatibilität** genetisch reguliert. Prä- und postzygotische Barrieren der Hybridisierung sind in vielen Arten bekannt. So wurde für GV-Raps (*Brassica napus*) und Grausenf (*Hirschfeldia incana*) gezeigt, dass zwei **präzygotische genetische Barrieren** vorhanden sind (Lefol *et al.* 1996). Die erste Barriere ist die reduzierte Pollenkeimung und reduziertes Pollenschlauchwachstum auf der Papille der Empfängerart. Die zweite spätere Barriere ist die geringe Anziehung des fremden Pollenschlauches in die Mikropyle, so dass Befruchtung und Samenbildung erschwert werden. Ein Beispiel für eine **postzygotische Barriere** wurde bei Raps und Wildem Rettich (*Raphanus raphanistrum*) gefunden. Wahrscheinlich führt eine funktionelle Inkompatibilität des Raps-Cytoplasmas und der Kerngene von Rettich zu einer verringerten Keimungsrate, erhöhter Mortalität, schlechter Entwicklung und Chlorophyllausbleichung; dies war aber nur dann der Fall, wenn Raps als Mutterpflanze diente und somit der Spender der mütterlich vererbten Chloroplasten war (Gueritane *et al.* 2002).

Die Tatsache, dass Hybridisierung bei vielen Feldfrüchten und ihren wilden Verwandten vorkommt, legt nahe, dass die meisten reproduktiven Barrieren, die im Verlaufe der **Domestizierung** aufgebaut wurden (Harlan 1992, Van Raamsdonk 1995), nicht perfekt sind. Evolutionär betrachtet ist die Domestizierung ein sehr junger Prozess. Die meisten Feldfrüchte haben sich von ihren Vorfahren vor weniger als 12000 Jahren getrennt (Simmonds 1995), zu kurz, um unüberbrückbare reproduktive Barrieren aufzubauen. So können weder Unterschiede im Befruchtungssystem noch in der Ploidiestufe, die als die effizientesten Mechanismen der reproduktiven Isolation zwischen Feldfrüchten und ihren Verwandten gelten, die reproduktive Isolation garantieren.

Tabelle 9: Möglichkeiten des Genflusses zwischen Raps und Kreuzungspartnern. Erläuterungen: m = manuelle Handbestäubung, s= spontane freie Bestäubung (nach Breckling *et al.* 2003, verändert; vgl. Gerdemann-Knörck & Tegeder 1997)

	F1- Hybride	Art der Pollen- Über- tragung	F2- Hybride	Rückkreuz- generati- onen (BC)	Reziproke Bestäubung möglich (Raps = ♂)	Art in Nord- deutschl. potenziell verbreitet	Art in Sachsen
<i>Brassica rapa</i>	fertil	s	X	X	X	X	unbeständig
<i>Brassica juncea</i>	fertil	s	X	X	X	X	?
<i>Raphanus raphanistrum</i>	fertil	s	X	X	X	X	X
<i>Hirschfeldia incana</i>	fertil	s	-	X	X	X	X
<i>Sinapis arvensis</i>	fertil	m	-	X	-	X	
<i>Diplotaxis muralis</i>	fertil	m	-	X	-	X	X
<i>Brassica carinata</i>	fertil	m	-	X	-	-	-
<i>Sinapis alba</i>	fertil	m	-	X	-	X	x
<i>Brassica nigra</i>	fertil	m	-	X	X	X	unbeständig
<i>Brassica oleracea</i>	fertil	m	X	X	X	X	-
<i>Diplotaxis erucooides</i>	fertil	m	-	-	-	-	-
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	steril	m	-	-	-	X	X
<i>Rapistrum rugosum</i>	steril	m	-	-	-	X	X
<i>Brassica maurorum</i>	steril	m	-	-	-	-	-
<i>Erucastrum gallicum</i>	steril	m	-	-	-	X	unbeständig
<i>Raphanus sativus</i>	steril	m	-	-	-	X	X
<i>Brassica tournefortii</i>	steril	m	-	-	-	-	-
<i>Diplotaxis sifolia</i>	steril	m	-	-	-	-	-
<i>Brassica fruticulosa</i>	steril	m	-	-	-	-	-
<i>Diplotaxis catholica</i>	steril	m	-	-	-	-	-
<i>Eruca sativa</i>	steril	m	-	-	-	X	?

Befruchtungssystem

Obwohl die meisten Fälle von Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybridisierung zwischen auskreuzenden Arten beobachtet wurden (Kirkpatrick & Wilson 1988, Doebley 1990, Wilson 1990, Klinger *et al.* 1992, Boudry *et al.* 1993, Arias & Rieseberg 1994, Whitton *et al.* 1997, Jenczewski *et al.* 1999), lässt sich auch bei vorwiegender **Selbstbestäubung** der Feldfrucht oder der Wildpflanzenpopulationen eine Ausbreitung von Feldfruchtgenen nicht mit Sicherheit ausschließen (Robert *et al.* 1991, Wilson & Manhart 1993, Arriola & Ellstrand 1996, Seefeldt *et al.* 1998, Zemetra *et al.* 1998). Selbstbestäubung ist selten absolut, da die meisten autogamen Arten variable Auskreuzungsraten zwischen 0,5 und 5% aufweisen. Darüber hinaus können bei Nachkommen zwischen Selbstbestäubern **Heterosis-Effekte** auftreten, welche die effektive Auskreuzungsrate erhöhen. **Pollenkonkurrenz** trägt ebenfalls zur teilweisen Überwindung der reproduktiven Isolation zwischen Feldfrüchten und Wildpflanzen bei (Robert *et al.* 1991, Rieseberg *et al.* 1995) und kann die zwischenartliche Hybridisierungsrate verändern. So zeigten Hauser *et al.* (1997), dass höhere Anteile von Hybridsamen zwischen diploidem Rübsen (*Brassica campestris*) und tetraploidem Raps (*B. napus*) erzeugt wurden, wenn eine Mischung von Pollen beider Arten aufgetragen wurde.

Ploidieschranken in Feldfrucht-Wildpflanzen-Komplexen können entstehen, wenn die Domestizierung erst nach einer **Polyplodisierung** einsetzt (z.B. *Triticum aestivum*, *Solanum tuberosum*, *Coffea arabica*, *B. napus*), und diese Feldfrüchte folglich keine wilden Verwandten mit der gleichen Ploidiestufe besitzen. In anderen Fällen haben diploide

Feldfrüchte polyploide Verwandte (z.B. *Sorghum bicolor* und *S. halepense*). In diesen Komplexen ist wegen der Ploidieunterschiede der Gameten die Produktion interspezifischer Hybride verringert. Allerdings ist **interspezifische Hybridisierung** möglich und kann hoch sein, wenn Bestäubung zwischen allopolyploiden Feldfrüchten und ihren Vorfahren auftritt (wie z.B. bei Raps und Rüben: Jørgensen & Andersen 1994, Bing *et al.* 1996). Hybridisierung ist auch zwischen weniger nah verwandten Arten möglich. Diese ist generell dann erfolgreicher, wenn die Mutterpflanze die höhere Ploidiestufe hat (Kerlan *et al.* 1992, Jørgensen & Andersen 1994). Die dabei entstehenden **triploiden Hybriden** sind weniger steril als bisher angenommen. Manche von ihnen sind in der Lage, euploide Gameten zu erzeugen, die als Brücke für einen Genfluss dienen und zur Bildung neuer polyploider Arten führen können (Ramsey & Schemske 1998). Auch die Produktion unreduzierter Gameten der diploiden Eltern kann zur Hybridisierung mit einer Art höherer Ploidiestufe führen. Die Produktion unreduzierter Gameten ist variabel und hängt ab vom Genotyp, der Umwelt und deren Interaktion (Bretagnolle & Thompson 1995). Sie kann bis zu 30% pro Generation in bestimmten Arten betragen und deshalb signifikant zum Genfluss zwischen den Ploidiestufen beitragen.

Eine große Zahl empirischer Daten zeigt, dass Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybridisierung wahrscheinlich ist, wenn Feldfrüchte kompatible Verwandte in benachbarten Ökosystemen finden, allerdings in der Regel in sehr niedriger Frequenz. Zu beachten ist, dass Bestäubungssysteme und Unterschiede in der Ploidiestufe nicht die einzigen Barrieren sind, die den Genfluss begrenzen (Arnold 1997, Rieseberg 1997, Rieseberg & Carney 1998). Wenn allerdings Genfluss stattgefunden hat und eine F1-Generation entstanden ist, besteht die Frage, ob die Gene in natürlichen Populationen der wildlebenden Arten persistieren (Ellstrand 2001, Stewart *et al.* 2003).

Etablierung von (Trans)Genen in natürlichen Populationen

Bisher wurde nur in sehr wenigen Studien versucht, die **Persistenz von Feldfruchtgenen** in Wildpflanzen nach der Hybridisierung zu verfolgen: z.B. in Brombeere (Luby & Mcnicol 1995) und Sonnenblume (Whitton *et al.* 1997, Linder *et al.* 1998). Für diese beiden Arten wurde langfristige Introgression von Feldfruchtgenen in natürlichen Populationen nachgewiesen (Stachellosigkeit in Brombeere, RAPD-Marker in Sonnenblume). Allerdings stellt sich bei solchen Untersuchungen das Problem der Unterscheidung zwischen eingekreuzten Feldfrucht-Genen und gemeinsam von Vorläuferarten ererbten Genen. Das gleiche gilt, wenn man die aktuelle genetische Populationsstruktur benutzt, um auf gegenwärtigen oder zurückliegenden Genfluss zwischen Feldfrüchten und Verwandten zu schließen (Bartsch *et al.* 1999, Jenczewski *et al.* 1999). Deswegen haben die meisten Studien versucht, einen alternativen Weg zu gehen und die einzelnen **Schritte der Etablierung von Transgenen** zu analysieren:

- die genetischen Mechanismen, die den Transfer von kultivierten Genen in wilde Populationen ermöglichen,
- die Fitness der frühen Hybriden im Vergleich zu den Elter-Arten,
- mögliche Finesseinbußen oder Fitnessvorteile, die mit bestimmten Transgenen einhergehen.

Das Schicksal interspezifischer Hybride: genetische Mechanismen der Introgression

Introgression, der permanente Einbau von Genen aus einer Gruppe von differenzierten Populationen in eine andere (Rieseberg & Wendel 1993), ist eine gängige Folge von Hybridisierung. Obwohl Introgression zwischen wilden und domestizierten Pflanzen als weit verbreitet angesehen wird (De Wet & Harlan 1975, Harlan 1992, Ellstrand *et al.* 1999), wurde sie nur selten in Wildpopulationen nachgewiesen (Luby & McNicol 1995, Whitton *et al.* 1997, Linder *et al.* 1998). Letztlich hängt das Ausmaß der Gen-Introgression von der Interaktion zwischen Rekombination und Selektion ab.

Auf **Genomebene** hängt die Wahrscheinlichkeit für den Transfer von Feldfruchtgenen vom Grad der genetischen und strukturellen Homologie der Genome von Feldfrucht und Wildpflanze ab. Ein **hoher Grad der Introgression** ist zu erwarten, wenn Feldfrucht und Wildpflanze weitgehend homologe Genome aufweisen: z.B. Zuckerrübe/Mangold – Wildrübe (*Beta vulgaris* x *B. maritima*, Boudry *et al.* 1993) oder Garten-Rettich - Hederich (*Raphanus sativus* x *R. raphanistrum*, Panetsos & Baker 1967). Ebenso hängt die Introgression von Genen einer allopolyploiden Feldfrucht in eine ihrer Verwandten davon ab, auf welchem Genom das entsprechende Gen lokalisiert ist. So ist Introgression eines Gens vom Raps (Genom: AACC) in Rübsen (AA-Genom) leichter, wenn sich das Gen auf dem A-Genom des Rapses befindet (Mikkelsen *et al.* 1996, Metz *et al.* 1997, Tomiuk *et al.* 2000). Wenn Hybride weniger nah verwandt sind, hängt die Introgression von der **Genomstruktur** ab. Obwohl viele Hybride die elterlichen Genome nur haploid enthalten, können einige ein elterliches Genom (Eber *et al.* 1998) oder beide elterliche Genome (Kerlan *et al.* 1992) aufgrund unreduzierter Gameten in diploider Form aufweisen. Die verschiedenen Genomstrukturen eröffnen verschiedene Möglichkeiten für **Chromosomenpaarung**, womit Introgression befördert oder verhindert werden kann. Die intergenomische Paarung wird auch von übergeordneten Genen beeinflusst. Solche **Regulatoren** der Chromosomenpaarung wurden in verschiedenen allopolyploiden Feldfruchtarten vermutet (Jauhar 1993) und auch in wilden Arten nachgewiesen (Riley 1963, Eber *et al.* 1994), wo sie normalerweise polymorph sind. In Abhängigkeit von den Allelen sind die wilden Pflanzen in der Lage, hohe, mittlere oder niedere Raten der Chromosomenpaarung in Feldfrucht-Wildarten-Hybriden zu erzeugen, was direkte Auswirkungen auf den Grad der Introgression hat.

Die Wahrscheinlichkeit der Introgression ist nicht nur eine Funktion der gesamten Genome, sondern auch die einzelner Gene oder Chromosomenbereiche (Harrison 1990). Zunächst sind **crossing-over** nicht zufällig über das Chromosom verteilt, sondern ereignen sich in distalen Regionen häufiger als in proximalen (Lukaszewski 1995). Außerdem besteht die Kolinearität zwischen orthologen oder homologen Chromosomen nicht über die gesamte Länge der Chromosomen, sondern ist normalerweise auf bestimmte Bereiche beschränkt (Truco *et al.* 1996, Moore *et al.* 1997). Die physikalische Anordnung dieser genetisch ähnlichen Bereiche sollte deshalb eine große Rolle für die Menge und Verteilung der eingekreuzten Allele spielen, da **Rekombination präferentiell zwischen den am stärksten homologen Bereichen stattfindet** (Delourme *et al.* 1998).

Schließlich hängt die Wahrscheinlichkeit für Introgression von der Anzahl und genomischen Verteilung von Faktoren ab, die eine reproduktive Isolation bewirken: **geringe Introgression** wird für solche Gene erwartet, die mit Genen gekoppelt sind, welche die Fitness reduzieren. Andererseits werden Chromosomenteile **häufiger integriert**, wenn sie zu

Genkombinationen führen, die positive Finesseffekte mit sich bringen (Rieseberg *et al.* 1996b, Burke *et al.* 1998). Wenn eine große Zahl gleichmäßig verteilter Faktoren zur Hybridsterilität oder Nicht-Lebensfähigkeit beiträgt, sollte der größte Teil des Genoms vor Introgression geschützt sein (Rieseberg *et al.* 1996a, 1999). Andererseits ist zu erwarten, dass der größte Teil des Genoms **für Introgression permeabel** ist, wenn Arten nur durch wenige reproduktive Barrieren getrennt sind (Kim & Rieseberg 1999).

Rekombination und Selektion können in komplexer Weise interagieren. Einerseits erhöht Rekombination die Möglichkeiten, dass sich Gene über Arten ausbreiten, weil die Introgression erhöht wird und Kopplungsgruppen zerstört werden. Andererseits werden durch Rekombinationsereignisse koadaptierte Genkomplexe zerstört, mit der Folge der Hybridsterilität, was sich negativ auf die Introgression auswirkt (Li *et al.* 1997). In Sonnenblumen wurde gezeigt, dass wiederholte Rückkreuzungen, die häufig sind, wenn Hybride in geringer Frequenz bei ihren Eltern wachsen, die elterlichen Kopplungsgruppen nicht so effektiv aufbrechen konnten, wie Kreuzungen zwischen den Hybriden oder Selbstung. Andererseits waren letztere durch hohe Hybridsterilität gekennzeichnet, im Gegensatz zu den Rückkreuzungen. Dieses Gleichgewicht wurde auch bei Hybriden zwischen transgenem Raps und Rübsen festgestellt (Chevre *et al.* 1997, Chevre *et al.* 1998b), wo in späteren Rückkreuzungsgenerationen zwar die Fruchtbarkeit wiederhergestellt wurde, jedoch ohne die gleichzeitige Introgression von Transgenen. Während F1-Hybride zwischen transgenem Raps und Rübsen ein Transgen in hoher Frequenz enthielten, ging es in unterschiedlichem Maße in den Rückkreuzungen zurück, was so interpretiert wurde, dass das Transgen in unterschiedliche Genome eingebaut wurde und nur im C-Genom stabil war (Metz *et al.* 1997). Allerdings konnte diese Vermutung durch Modellberechnungen nicht bestätigt werden (Tomiuk *et al.* 2000).

Polyplodisierung

Neben der Introgression kann Hybridisierung zu anderen Ergebnissen führen, die ebenfalls die Persistenz der Feldfrucht-Gene nach sich ziehen. Zum Beispiel kann **Allopolyploidie** die interspezifische Hybridsterilität überwinden. Fertile allopolyploide F1 Hybriden können durch **Endomitose oder unreduzierte Gameten** entstehen (Bretagnolle & Thompson 1995, Ramsey & Schemske 1998). Solche amphidiploiden Pflanzen wurden bei Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybriden festgestellt (z.B. *Brassica* –*Raphanus*, Rieger *et al.* 2001). Eines der weltweit problematischsten Unkräuter, die Wilde Mohrenhirse (*Sorghum halepense*), die auch in Deutschland als Zierpflanze und neophytisches Unkraut vorkommt, wird als allotetraploider Hybrid zwischen *S. bicolor* und *S. propinquum* betrachtet (Paterson *et al.* 1995). Hybrid-Fertilität und -Stabilität kann auch ohne Veränderung der Ploidiestufe durch Chromosomenumlagerungen in späteren Generationen wiederhergestellt werden (homoploide Stabilisierung, Rieseberg 1997). Dies kann zur Bildung neuer stabiler und fertiler Populationen führen, die homozygot für neue Genkombinationen sind, wie in verschiedenen zusammenfassenden Arbeiten gezeigt wurde (Bretagnolle & Thompson 1995, Rieseberg 1997, Ramsey & Schemske 1998). Dabei zeigt sich, dass die Ausbreitung von Genen durch Hybridspeziation abhängig ist von der Stabilität der Genome, den Kreuzungsverhältnissen zwischen Hybriden und deren Eltern, der Fitness der Pflanzen und der Verfügbarkeit neuer ökologischer Nischen, die von den Hybriden besiedelt werden können.

Fitness von Feldfrucht-Wildpflanze-Hybriden

Das Ausmaß, mit dem Feldfrucht-Gene in natürlichen Populationen persistieren können, wird in der Regel dadurch ermittelt, dass die Fitness von F1-Hybriden untersucht wird. **Fitness** kann definiert werden als die relative Fähigkeit eines Individuums, in einer bestimmten Umwelt zu überleben und sich zu reproduzieren, wobei die höchste Fitness zur größten Zahl an Nachkommen führt. Fitness beruht auf einer Vielzahl von Komponenten des gesamten Lebenszyklus: Samendormanz, Keimfähigkeit, vegetatives Wachstum, Lebensfähigkeit und männliche und weibliche Fruchtbarkeit.

Hierbei die kritischen Komponenten zu erkennen, ist schwierig und hängt von der Ökologie der Arten ab. Zum Beispiel sagen einige Modelle voraus, dass die **Samenbankdynamik** und die **Keimlingsetablierung** unter Konkurrenz den stärksten Einfluss auf die Persistenz von verunkrauteten ephemeren *Brassica*-Populationen auf gestörten Flächen haben (Linder & Schmitt 1994, 1995). Im Gegensatz dazu wird aber in der Regel nur die **vegetative oder generative Produktivität von Hybriden** untersucht (Tabelle 10), da diese Parameter direkter mit der Anzahl an Nachkommen, die ein Individuum erzeugen kann, in Verbindung zu stehen scheinen. Weiterhin wird es kompliziert, wenn Fitness-Effekte integriert werden sollen, die verschiedene Lebensstadien betreffen. Es ist z.B. unklar, ob die Gesamt-Fitness von *Brassica napus* x *B. rapa*-Hybriden stärker von ihrem Konkurrenzvorteil im Samen-Keimlingsstadium beeinflusst wird (Linder & Schmitt 1995) oder von ihrer reduzierten Pollenfruchtbarkeit (Hauser *et al.* 1998b). Zusätzliche Probleme können durch 'trade-offs' (negative Abhängigkeiten) zwischen verschiedenen Fitness-Komponenten entstehen (z.B. Investition in Überleben versus Reproduktion, männliche versus weibliche Allokation), die zu schwer interpretierbaren Resultaten führen können (Hauser *et al.* 1998b).

Trotz der Schwierigkeit, kritische Fitnesskomponenten zu identifizieren und zu kombinieren, wurde in vielen Studien von Fitness-relevanten Merkmalen gezeigt, dass **Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybride nicht generell weniger fit** sind als ihre elterlichen Formen (Tabelle 10). Manchmal zeigen solche Hybride verstärktes vegetatives Wachstum, das zu einer erhöhten Gesamtfitness beiträgt, da die Konkurrenzfähigkeit wiederum mit der Pflanzengröße steigt (Langevin *et al.* 1990, Hauser *et al.* 1998b). Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zur klassischen Ansicht, dass Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybride wegen der Last der Kultursortenmerkmale weniger fit als ihre wilden Eltern sein sollten (De Wet & Harlan 1975, Small 1984, Ellstrand & Hoffman 1990). Auch wenn im Durchschnitt die Hybride oder Rückkreuzungsgenerationen weniger fit sind als die Elternarten, zeigen einzelne Individuen gleiche Fitness, so dass die Introgression und der Genfluss letztlich erfolgreich ist (Hauser *et al.* 1998a). Das gegenwärtige Verständnis der genetischen Basis von Domestizierungsmerkmalen legt nahe, dass in der Regel lediglich wenige genomische Regionen betroffen sind (White & Doebley 1998, Poncet *et al.* 2000), die dementsprechend relativ schnell wieder verloren gehen können ohne langfristige Auswirkungen für die Hybrid-Fitness. Domestizierungs-Allele scheinen oft rezessiv zu sein und vom dominanten Wildtyp-Allel überdeckt zu werden. Somit ähneln F1-Hybride den wilden Eltern, was die Chancen für ihr Überleben erhöhen kann (Papa & Gepts 2004). Allerdings ist auch zu erwarten, dass Domestizierungsmerkmale in späteren Hybrid-Generationen zur Ausprägung kommen und zu reduzierter Fitness außerhalb der landwirtschaftlichen Flächen führen (Small 1984).

Intermediäre Merkmalsausprägungen und deren Fitness-Konsequenzen wurden an Karotten festgestellt (Hauser 2002): Hybride zwischen Kultur-Karotten (*Daucus carota* ssp. *sativa*) und der Wilden Möhre (*D. c.* ssp. *carota*) hatten die Frostempfindlichkeit von der Kultursorte geerbt und besaßen deshalb eine intermediäre Überlebensrate. Frost sollte also die Überlebensrate der Hybride verringern. Eine ähnliche Situation wurde bei Raps, Rübsen und ihrem Hybrid festgestellt (Landbo & Jørgensen 1997). Hybridsamen hatten, wie die Feldfruchtart Raps, keine Dormanz. Somit können Hybride das Risiko der Keimung unter unvorteilhaften Umweltbedingungen nicht zeitlich streuen, da sie keine Samenbank aufbauen, womit eine reduzierte Fitness der Hybride unter unvorhersehbaren natürlichen Bedingungen angenommen werden kann. Ein weiteres Samenmerkmal, das die Hybrid-Fitness beeinflussen kann, ist die Samengröße (Alexander *et al.* 2001). Hybridsamen von wilden und Kultur-Sonnenblumen waren doppelt so groß wie die wilden Samen und wurden deshalb stärker gefressen. Die Autoren schlossen daraus, dass Fraßschäden die Fitness reduzierte. Allerdings ist festzustellen, dass Samengröße normalerweise als positiver Indikator für Fitness betrachtet wird, da mit höherer Überlebensrate der Keimlinge zu rechnen ist.

Auch wenn **Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybride** im Durchschnitt weniger fit sind, als ihre Elternarten, so sind sie in der Regel so **variabel**, dass einige von ihnen dennoch eine ebenso hohe Fitness wie die elterlichen Formen aufweisen (Eber *et al.* 1994, Baranger *et al.* 1995, Mikkelsen *et al.* 1996, Hauser *et al.* 1998b). So fanden Snow *et al.* (1998) zwar im Mittel eine verringerte Fitness von Hybriden zwischen Kultur- und wilden Sonnenblumen (*H. annuus*), an bestimmten Standorten besaßen die Hybriden jedoch z.B. äquivalente Dormanz und Resistenz gegenüber einem Rostpilz. Derartige lokale Fitness-Vorteile der Hybride könnten erklären, wieso Linder *et al.* (1998) in allen von ihnen untersuchten Wild-Sonnenblumen, die in der Nähe von Sonnenblumenfeldern wuchsen, mindestens ein Kultivar-Allel nachweisen konnten. Der reine Wildtyp war an den untersuchten Standorten nicht mehr vorhanden. Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybride sind also in der Regel genetisch nicht einheitlich, da die Wildpopulationen, aber auch die Kulturformen genetisch variabel sind (Linder & Schmitt 1994). Da **ein Teil dieser Variation vererbbar** ist (Hauser *et al.* 1998b), sollten idealerweise verschiedene Donor- und Rezeptorpopulationen untersucht werden, um die Fitness von Hybriden festzustellen (Kareiva *et al.* 1994, Spencer & Snow 2001). Mit Variation in der Fitness muss aufgrund von Rekombination und Selektion auch in den nachfolgenden Hybrid-Generationen gerechnet werden. So wurde beobachtet, dass die Fitness von *Brassica napus* x *B. rapa* Hybriden in der zweiten Hybridgeneration stark zurückging, wobei die **F2-Hybride die geringste Überlebens- und Reproduktionrate** aufwiesen (Hauser *et al.* 1998a, 1998b). Unter mehreren Hybridklassen besitzt häufig diejenige die höchste Fitness, die den Eltern genotypisch am ähnlichsten ist. Dies wurde z.B. an (*B. rapa* x *B. napus*) x *B. rapa*-Hybriden gezeigt (Mikkelsen *et al.* 1996): Die höchste Pollenfruchtbarkeit zeigten Hybriden mit einer genomischen Struktur wie *B. rapa* (2n=20).

Nach Linder *et al.* (1998) sind Werte der Fitness der ersten Generationen von Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybriden möglicherweise von nur geringem Wert für die Vorhersage der Transgen-Etablierung, es sei denn, die Hybriden sind zu 100% steril. Die langfristigen Effekte von unvollständigen Kreuzungsbarrieren (d.h. einige Hybride überleben mit u.U. reduzierter Fitness) sind unklar. Z.B. hat die natürliche Hybridisierung zwischen *Helianthus annuus* und *H. petiolaris* zu mindestens drei Hybrid-Arten geführt (Rieseberg 1997), obwohl in experimentellen Hybridisierungen sehr geringe Fruchtbarkeiten in den

Tabelle 10. Relativer Erfolg von Feldfrucht-Wildpflanze-Hybriden im Vergleich mit Wildpflanze-Kontrollen (nach Jenczewski *et al.* 2003, ergänzt)

Wildpflanze x Feldfrucht		Merkmale	Relativer Erfolg	Literatur
<i>Oryza sativa</i> x <i>O. sativa</i>	F1	Biomasse	Hyb > Kon	Langevin <i>et al.</i> 1990
<i>Raphanus sativus</i> x <i>R. sativus</i>	F1	Samenproduktion	Hyb >= Kon	Klinger & Ellstrand 1994
<i>Sorghum halepense</i> x <i>S. bicolor</i>	F1	Biomasse, Samenproduktion, Pollen-Lebensfähigkeit	Hyb = Kon	Arriola & Ellstrand 1997
<i>Brassica rapa</i> x <i>B. napus</i>	F1	Keimlingsüberleben, Samenproduktion	Hyb > Kon	Hauser <i>et al.</i> 1998b
		Pollen-Lebensfähigkeit	Hyb < Kon	
<i>Raphanus raphanistrum</i> x <i>R. sativus</i>	F1	Pollenfruchtbarkeit, Samenproduktion	Hyb < Kon	Snow <i>et al.</i> 2001
<i>Helianthus annuus</i> x <i>H. annuus</i>	F1	Samendormanz, Samenproduktion	Hyb < Kon	Snow <i>et al.</i> 1998
<i>Hirschfeldia incana</i> x <i>B. napus</i>	F1	Samen-Lebensfähigkeit, Gesamt-Fekundität	Hyb < Kon	Chadoeuf <i>et al.</i> 1998
<i>Brassica rapa</i> x <i>B. napus</i>	F2 und BC2	Keimlings-Überlebensrate, Samenproduktion, Pollen-Lebensfähigkeit	Hyb << Kon	Hauser <i>et al.</i> 1998a
<i>Brassica rapa</i> x <i>B. napus</i> (Öl-modifiziert)	F1	Keimung, Biomasse	Hyb = Kon	Linder & Schmitt 1995
<i>Raphanus raphanistrum</i> x <i>Brassica napus</i> (Herbizid-Resistenz)	F1, BC1	Pollenfruchtbarkeit, Samenproduktion	Hyb < Kon	Baranger <i>et al.</i> 1995
<i>Cucurbita pepo</i> x <i>C. pepo</i> (2x Virus-Resistenz)	F1	Keimlingsüberleben	Hyb = Kon	Spencer & Snow 2001
		Samenproduktion, Gesamt-Fekundität	Hyb < Kon	
<i>Raphanus raphanistrum</i> x <i>Brassica napus</i> (Herbizid-Resistenz)	F1, F2	Samen-Lebensfähigkeit, Gesamt-Fekundität	Hyb << Kon	Darmency <i>et al.</i> 1998
<i>Raphanus raphanistrum</i> x <i>Brassica napus</i> (Glufosinat Resistenz)	BC6	Keimlingsaufkommen, Pollenfruchtbarkeit, Samenproduktion	Hyb = Kon oder Hyb << Kon ¹	Gueritane <i>et al.</i> 2002
<i>Helianthus annuus</i> x <i>H. annuus</i> (IE: cry1Ac)	BC1	Samenproduktion	Ohne Herbivore: Hyb = Kon Mit Herbivoren: Hyb>Kon	Snow <i>et al.</i> 2003
<i>Helianthus annuus</i> x <i>H. annuus</i> (<i>Sclerotinia</i> -Resistenz)	F1	Samenproduktion	Hyb=Kon	Burke & Rieseberg 2003
<i>Beta vulgaris</i> x <i>B. maritima</i> (BNYVV-Resistenz)	F1	Virusinfektion	Hyb</=Kon	Dietz-Pfeilstetter & Kirchner 1998
<i>Cucurbita texana</i> x <i>C. pepo</i> (Virus-Resistenz: CZW-3)	F1 BC1-2	Samenproduktion	HDP: Hyb > Kon ² LDP: Hyb < Kon	Fuchs <i>et al.</i> 2004b

¹Gueritane *et al.* (2002) erhielten unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit vom Cytoplasma der Hybriden und der Gegenwart von zusätzlichen Chromosomen, die ein Transgen für Herbizid-Toleranz trugen. Empfindliche Hybride mit Cytoplasma des Wilden Rettich entsprachen in der Fitness den Kontrollen, während Hybride mit Raps-Cytoplasma starke Fitness-Einbußen zeigten.

²HDP: „high disease pressure“: großer Infektionsdruck durch Viren; LDP: „low disease pressure“: geringer Infektionsdruck

führen Generationen festgestellt wurden. Es muss ebenfalls bedacht werden, dass die meisten Experimente (Tabelle 10) unter landwirtschaftlichen Bedingungen mit guter Nährstoff- und Wasserversorgung stattgefunden haben und dass die Hybridfitness außerhalb solcher Flächen anders sein könnte (Snow *et al.* 1998). Schließlich muss gesagt werden, dass die meisten Untersuchungen an Hybriden mit nicht transgenen Sorten durchgeführt wurden und nur wenige Studien die Fitness von transgenen Feldfrucht-Wildpflanze-Hybriden untersucht haben (Linder & Schmitt 1994, Linder & Schmitt 1995, Snow *et al.* 1999, Spencer & Snow 2001, Gueritain *et al.* 2002). Das Schicksal der Hybriden und die Ausbreitung des Transgens wird natürlich wesentlich auch von der Art der gentechnisch veränderten Merkmale abhängen.

Fitness-Effekte des Transgens

Um die Ausbreitung und Persistenz von Transgenen in frei lebenden Populationen zu bewerten, muss der Kosten-/ Nutzeneffekt bestimmt werden. Der Besitz eines Transgens kann bei fehlendem Selektionsdruck entweder Fitness-Einbußen („Kosten“) verursachen, einen selektiven Vorteil bieten oder selektiv neutral sein. Gene mit unterschiedlichem selektiven Wert können Artgrenzen unterschiedlich gut überwinden, auch wenn die Fitness der Hybride stark reduziert ist (Harrison 1990). Allgemeingültige Voraussagen lassen sich bezüglich potentieller Fitness-Effekte von Transgenen nicht treffen..

Zunächst sind Kosten und Nutzen des Transgens **abhängig vom phänotypischen Merkmal**, das auf Wildpflanzen übertragen wird. Manche Merkmale, wie die Produktion pharmazeutischer Chemikalien, sind mit geringerer Wahrscheinlichkeit vorteilhaft für Wildarten, wohingegen Herbizidtoleranz, Krankheitsresistenz oder abiotische Stresstoleranz eher zu Fitnessvorteilen führen (Stewart *et al.* 1997, Snow *et al.* 1998). Weiterhin wird das Verhältnis von Kosten und Nutzen wesentlich von der Art und Dauer der Selektionsdrücke abhängen, die auf die Transgene wirken. So sollte eine spezifische Herbizidtoleranz für Wildpflanzen nur dort vorteilhaft sein, wo dieses Herbizid oft angewandt wird. Da abiotische und biotische Stressoren großräumiger und gleichmäßiger wirken als der Herbizideinsatz, sollte gentechnisch vermittelte Krankheitsresistenz oder Stresstoleranz die Fitness von Wildpflanzen in einem größerem Habitatbereich Vorteile verschaffen (Tabelle 11). Schließlich hängt die Persistenz eines Transgens in natürlichen Populationen auch von der Stärke und Frequenz des Genflusses ab. Die populationsgenetische Theorie sagt voraus, dass starker und wiederkehrender Genfluss dazu führt, dass sich auch solche Gene etablieren können, die nur zu einem sehr geringen Fitnessvorteil beitragen (Haldane 1930). Es ist somit zu erwarten, dass Feldfrucht-Gene in natürlichen Populationen zunehmen werden, wenn der Genfluss stark genug ist, unabhängig davon, ob Hybride erhöhte Fitness zeigen oder nicht (Gliddon 1994).

Den **Einfluss von *Bt*-Transgenen** auf die Fitness von Hybriden zwischen Raps und Rübsen untersuchten Vacher *et al.* (2004). Dazu untersuchten sie die Fitness der transgenen F1-Hybriden in Abhängigkeit von der Pflanzendichte und von Schadinsekten. Die Fitness war ohne herbivore Insekten um den Faktor 6,2 erniedrigt, aber unter starkem Herbivorendruck um den Faktor 1,4 erhöht. Die Autoren schlossen daraus, dass dichte Bestände von stark unter Schadinsekten leidenden Wildpflanzen ein hohes Risiko für *Bt*-Transgen-Einkreuzung haben. Die Autoren weisen allerdings darauf hin, dass die Ergebnisse aus Gewächshausversuchen stammen und nicht ohne Weiteres auf Freilandbedingungen übertragen werden können.

Tabelle 11: Relative Wirkung verschiedener Transgene auf die Fitness (aus Hancock 2003)

Kategorie	Wirkung auf Fitness	Beispiele für Transgene
A	Neutral in natürlicher Umwelt	Markergene
B	Nachteilig in natürlicher Umwelt	Männliche Sterilität, veränderte Faserqualität, Fruchtreife
C	Variabel, abhängig von Invasivität der Feldfrucht oder Wildart	Herbizidresistenz
D	Variabel, abhängig von Schädlingsbekämpfung	Krankheitsresistenz gegen Viren, Pilze, Fressfeinde
E	Potentiell von Vorteil in natürlicher Umwelt	Kälte-, Trockenheits-, Salztoleranz; veränderte Nährstoffaufnahme, veränderte Entwicklung

Die **Fitness-Effekte von Virus-Resistenz** gegen drei verschiedene Mosaik-Virusarten bei F1-Hybriden und Rückkreuzungen von Kultur- und Wilden Kürbissen (*Cucurbita pepo* und *C. texana*) untersuchten Fuchs *et al.* (2004b). Sie konnten zeigen, dass die Virus-Resistenz den Hybriden einen großen Fitness-Vorteil verschaffte (höhere Frucht- und Samenproduktion), wenn hoher Infektionsdruck herrschte, jedoch zu verringerter Fitness unter geringem Infektionsdruck führte. Darüber hinaus wurden schon in der ersten Rückkreuzungsgeneration Individuen gefunden, die den Phänotyp der Wildart hatten, aber die Virus-Resistenz trugen. In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass die Übertragung und Einkreuzung der Virus-Resistenz auch unter geringem Infektionsdruck erfolgte (Fuchs *et al.* 2004a). Ob sich aus der Einkreuzung der Resistenz ein erhöhtes Invasions- oder Unkrautpotential für die transgenen Hybride und Wildarten ergibt, hängt davon ab, ob sie durch Viren limitiert sind. Die Autoren kommen hier zu der Einschätzung, dass Viren nur einen geringen Effekt auf die Populationen der wilden Kürbis-Arten haben und deshalb kein großer Selektionsvorteil zu erwarten ist (Fuchs *et al.* 2004b). Die Autoren weisen auch darauf hin, dass von konventionell eingekreuzter und gentechnisch eingebrachter Virus-Resistenz das gleiche Risiko ausgehe. Über die **Häufigkeit von Viren** für andere potentielle Kreuzungspartner von Feldfrüchten ist nur wenig bekannt. Beim Wilden Kohl (*Brassica oleracea*) wurden mehrere Viren in hoher Rate gefunden (Raybould *et al.* 1999). Auch in *Brassica nigra* und *B. rapa ssp. sylvestris* wurden mehrere Viren nachgewiesen (Thurston *et al.* 2001, Pallett *et al.* 2002). Im Gegensatz dazu konnte in Populationen der Wilde Rübe in Italien der BNYV-Virus nicht nachgewiesen werden (Bartsch *et al.* 1996).

Bis heute haben die meisten Studien die Ausbreitung von Transgenen lediglich über einen kurzen Zeitraum untersucht, und nur wenige haben dies unter normalen landwirtschaftlichen Bedingungen getan (Wilson & Manhart 1993, Chevre *et al.* 2000, Wilkinson *et al.* 2000, Rieger *et al.* 2001). In Anbetracht der theoretischen und empirischen Daten scheint es unmöglich, die Ausbreitung von Genen komplett zu unterbinden. Die besten Prädiktoren für die Verbreitung von Transgenen (Bestäubungssystem, relative Ploidieunterschiede) sind nicht ausreichend, um das Risiko abzuschätzen. **Genfluss zwischen Feldfrüchten und Wildarten stellt sich als hochgradig idiosynkratisch dar, ist artspezifisch, z.T. sortenspezifisch, ortsspezifisch und sogar jahreszeitenspezifisch** (Raybould & Gray 1993). **Die Fitness der frühen Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybride und die Kosten und Nutzen der Transgene sind wichtige Parameter, die bei der Abschätzung der Transgen-Ausbreitung in Betracht gezogen werden müssen** (Abb. 8), sie sind aber

nicht ausreichend, um stichhaltige Schlussfolgerungen über die damit verbundenen Risiken zu ziehen.

Die **natürliche Selektion** wird auch auf transgene Organismen wirken. Haben sich Transgene in Wildarten ausgekreuzt, wird der natürliche Selektionsdruck eher zu einer Erhöhung der Fitness führen, als zu deren Verringerung, d.h. Kosten, die direkt oder indirekt mit dem neuen Merkmal verbunden sind, werden gesenkt (Tiedje *et al.* 1989). Es ist somit nötig festzustellen, ob Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybride überleben und sich reproduzieren, und die natürliche Selektion somit auf sie wirken kann.

6.1.4 Ökologische und evolutionäre Folgen von Introgression in Wildarten

Die unerwünschten Effekte von Introgression umfassen eine Verstärkung der Unkrauteigenschaften bestehender Unkräuter, eine *de novo* Entwicklung von Unkrautmerkmalen in bisher harmlosen Taxa, Veränderungen der ökologischen Verhältnisse in Artengemeinschaften und schließlich der Verlust der genetischen Identität von Taxa, die eine „genetische Erosion“ oder eine „genetische Überschwemmung“ erleiden (s.u.).

Evolution von Unkrauteigenschaften

Ein Beispiel für die Evolution von erhöhten Unkrauteigenschaften ist *Sorghum halepense*, das durch Introgression von Genen aus einer nicht transgenen Kulturart entstand (Arriola & Ellstrand 1996, Ellstrand *et al.* 1999). Transgene könnten solche Veränderungen verstärken, je nach Art der veränderten Eigenschaften.

Genetische Variabilität und genetische Identität

Die Persistenz und nachfolgende Konkurrenz von Feldfrucht-Wildpflanzen-Hybriden könnte potentiell zum Verlust bestimmter genetischer Varianten in wilden Arten führen (Ellstrand *et al.* 1999).

Modelle der Introgression zwischen Nutzpflanzen und wilde Verwandten zeigen, dass auch die genetische Assimilierung von sich nachteilig auswirkenden Nutzpflanzen-Genen in Wildarten sehr wahrscheinlich ist, wenn Genfluss über einige Generationen stattfindet, der stärker als der Selektionskoeffizient ist, was zu einer starken Reduktion der Populationsgröße führen kann (Haygood *et al.* 2003). Vor allem kleine Populationen können von Feldfruchtgenen überschwemmt werden, insbesondere bei windbestäubten Arten (Giddings 2000). Dies ist besonders bei vielen Futtergräsern relevant (z.B. *Lolium* spp., *Agrostis* spp.), da hier zahlreiche nahverwandte einheimische Arten existieren, die als Hybridisierungspartner in Frage kommen (z.B. Jauhar 1993, Wipff 2002, vgl. Tabelle 7). Mögliche Folgen umfassen die Verunreinigung genetischer Ressourcen in Diversitätszentren der wilden Ursprungsarten (Quist & Chapela 2001, Celis *et al.* 2004) bis hin zur Gefährdung bzw. Ausrottung seltener Arten (Ellstrand *et al.* 1999) durch Hybridisierung (Rhymer & Simberloff 1996). So gilt die natürliche Hybridisierung von kultiviertem Reis mit dem in Taiwan endemischen Reis (*Oryza rufipogon* ssp. *formosana*) als Ursache für die beinahe Extinktion dieses Taxons (Ellstrand *et al.* 1999). Auch die wilden Baumwoll-Arten *Gossypium darwinii* und *G. tomentosum* haben durch Hybridisierung mit der Kulturbaumwolle weitgehend ihre Identität verloren (Ellstrand *et al.* 1999). In der Schweiz wurde vergleichbares beim wilden Sichelklee (*Medicago falcata*) festgestellt, der stark durch die Luzerne (*M. sativa*) und den gemeinsamen Hybriden (*M. x varia*) beeinflusst wird (Rufener Al Mazyad & Ammann 1999), so dass in einigen

ehemaligen Sichelklee-Populationen nur noch introgressive Formen zu finden waren. Dies gilt allerdings nur für die tetraploide Form, wohingegen die diploide Form frei von introgressierten Genen der Luzerne war.

Der Verlust von Wildform-Allelen wird in Nordamerika auch für wilde Erdbeeren befürchtet, die in der Nähe von Erdbeerefeldern wachsen und genetische Marker von alten, heute nicht mehr angebauten Erdbeersorten aufweisen (Westman *et al.* 2004). Im Gegensatz dazu wurde bei der Wildrübe (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) eine leichte Erhöhung der genetischen Diversität durch Genfluss von Zuckerrüben- und Rote Beete festgestellt (Bartsch *et al.* 1999). Allerdings kann die Rübe als Sonderfall gelten, da die Kultursorten eine ähnlich hohe genetische Variabilität aufweisen, wie die wilden Vorfahren, was untypisch ist.

Ökosystemeffekte

Die bisherigen Untersuchungen zum **Invasionspotential von HR-resistenten Feldfrüchten** haben **keine erhöhte Invasivität gegenüber den konventionellen Sorten in natürlichen Habitaten** feststellen können (Crawley *et al.* 1993, Raybould & Gray 1993, Raybould & Gray 1994). Werden aufgrund der Introgression die Populationsstrukturen der Pflanzen verändert, können jedoch Effekte im Nahrungsnetz auftreten. Wilde Populationen von *Bt*-Sonnenblumen mit höherer Samenproduktion aufgrund verringerten Schadfraßes konnten ihre Populationsgröße erhöhen (Pilson *et al.* 2004). Dies könnte die Abundanz bestimmter Herbivore verändern und weitere Effekte in der Herbivorengemeinschaft nach sich ziehen. Über die **potentiellen Folgen der Introgression** von Transgenen in Wildarten mit verändertem Nährstoffaufnahmevermögen, oder einer erhöhten Salz- oder Trockentoleranz kann nur spekuliert werden. Mit diesen neuen Eigenschaften sind Verschiebungen im Konkurrenzverhalten verbunden, so dass mit drastischen Veränderungen in der Artenzusammensetzung aller trophischen Ebenen betroffener Ökosysteme zu rechnen ist.

6.1.5 Zwischenfazit Genfluss/Hybridisierung

Die Transgen-Übertragung von einer Kultursorte auf einen wilden Kreuzungspartner könnte zwei befürchtete Folgen haben: einerseits die **Evolution von Unkräutern** und andererseits die **Veränderung bis hin zum Aussterben von Wildarten**. Die bisher kommerziell angebauten transgenen Kulturpflanzen wurden fast ausschließlich in Bezug auf Herbizid- und Insektenresistenz gentechnisch modifiziert. Bei anderen denkbaren oder bereits in der Entwicklung befindlichen Manipulationen, wie z.B. Toleranz gegenüber Temperatur-, Wasser- oder Salzstress, Virus- oder Parasitenresistenz, Veränderung von Lebenszyklusphasen (z.B. Samendormanz oder Fertilität) ist die Wahrscheinlichkeit weitaus höher, Pflanzen mit einem verstärkt invasiven Potential auszustatten (Dale *et al.* 2002).

Vier hauptsächliche **Faktoren** bestimmen die Wahrscheinlichkeit und die Konsequenzen einer Hybridisierung von Kultur- und Wildpflanzen: (1) überlappende Blühperioden (2), ausreichender Pollentransfer über die Distanz der (möglicherweise verschiedenen) Areale (3), sexuelle Kompatibilität und (4) natürliche Selektion der Hybriden (Dale *et al.* 2002). Die **Stärke des Genflusses** zwischen natürlichen Pflanzenpopulationen ist **idiosynkratisch** und damit nicht gut vorhersagbar, aufgrund der starken Variabilität zwischen Arten, Populationen, Individuen und Jahren. Dies stellt eine grundsätzliche Schwierigkeit beim Management und Monitoring des Genflusses von GVO dar (Ellstrand 2003b).

Es besteht ein hohes Risiko, dass sich Transgenen über die geplanten Einsatzbereiche hinaus ausbreiten. Sollten sich Transgene stabil in die Genome anderer Individuen integrieren und diese intakte Populationen bzw. fertile Nachkommen bilden, wird es schwierig sein, eine weitere Ausbreitung ungewollt transgener Individuen zu verhindern. Risikoanalysen unterschätzen dabei häufig menschliche Fehler, die dazu beitragen, dass Genfluss stattfindet: „wenn es möglich ist, wird es auch passieren“ (Marvier & Van Acker 2005). Auch unter Einbeziehung verschiedener 'containment' Strategien verbleibt ein **erhebliches Risiko für die Verbreitung von Transgenen**, wie Modellrechnungen zeigen (Haygood *et al.* 2004). Die Wahrscheinlichkeit für Genfluss ist besonders hoch bei Arten, die mehrjährig und fremd bestäubt sind und sich gleichzeitig auch vegetativ vermehren, wie z.B. Erdbeeren (Westman *et al.* 2001). Die hohe Lebensdauer von Bäumen erhöht ebenfalls das Potential für Genfluss, macht aber auch die Vorhersage und Modellierung schwierig und ungenau (Slavov *et al.* 2004).

Eine Typisierung der gentechnisch veränderten Pflanzen in Bezug auf die räumliche Reichweite ihrer Umweltinteraktionen und deren zeitlichen Horizont nahmen Menzel *et al.* (2005) vor (Tabelle 12). Während der Invarianztyp und Persistenztyp auf die Anbauflächen beschränkt bleiben und maximal mittelfristig persistieren, erreicht der Emissionstyp größere räumliche Wirkung und der Dispersionstyp hat sowohl räumlich wie zeitlich die größte Reichweite und wird deshalb als besonders problematisch betrachtet. Die Verbreitung von Transgenen außerhalb der Anbauflächen von GVP wird in der Regel negativ bewertet, wenn auch der verbundene ‚Schaden‘ nicht in jedem Fall eindeutig ist (siehe Kapitel 3 „ökologische Schadensbegriffe“).

Forschungsbedarf

Die hier dargestellten Studien zur Hybridisierung und Introgression zwischen Wildpflanzen und transgenen oder nicht transgenen Kulturpflanzen zeigten, dass Verallgemeinerungen kaum möglich sind. Dies ist einerseits in der großen Vielfalt der Kulturarten und Wildpflanzen und deren unterschiedlicher Biologie begründet, andererseits spiegelt sich darin die Tatsache wider, dass Hybridisierung und Introgression nach dem „Versuch und Irrtum“-Prinzip ablaufen, also grundsätzlich selten auftreten, im erfolgreichen Fall aber große Konsequenzen haben können. Forschungsbedarf besteht auf den Gebieten:

- Ökologie und Populationsdynamik von Unkräutern und Unkraut-Feldfrüchten,
- Bedeutung der Herbivore, die durch Insektizidexpmierende Transgene geschädigt werden, und der Pflanzen-Viren, gegen die Virus-Resistenzgene vorliegen, für potentielle Hybridisierungspartner,
- Effizienz und Konsequenzen der verschiedenen Strategien, um Genfluss zu verringern,
- Faktoren die die Introgression beeinflussen,
- Genetische Studien auf Populationsebene, um das Schicksal der Transgene zu verfolgen.

Tabelle 12: Typisierung gentechnisch veränderter Kulturpflanzen anhand des Charakters ihrer ökologischen Interaktionen (aus Menzel *et al.* 2005)

Charakteristika	Räumliche Reichweite der Interaktionen	Zeitlicher Horizont der Interaktionen	Überwachungsinstrumente	Reversibilität	Beispiele
Invarianztyp	Auf aktuelle Anbauflächen beschränkt	Auf die aktuelle Vegetationsperiode beschränkt	Gute fachliche Praxis ausreichend	reversibel	--
Persistenztyp	Auf Anbauflächen beschränkt	Mittelfristig, einige Jahre persistierend	Gute fachliche Praxis ausreichend	Langfristig reversibel	Amylosefreie Kartoffel
Emissionstyp	Reichweite bestimmbar	Mittelfristig, konzentrationsabhängige Wirkungen, die mit der Zeit nachlassen	Klassisches Methodenrepertoire der Risikoforschung	Potenziell reversibel	<i>Bt</i> -Mais
Dispersions- typ	Reichweite nicht bestimmbar, Ausbreitung und Auskreuzung nicht kontrollierbar, Ausbreitung erfolgt eigendynamisch, auch außerhalb der Anbauflächen	Potenziell langfristig, Verstärkung der Effekte mit der Zeit möglich	Klassische Konzepte sind nicht ausreichend	Nicht rückholbar	HR-Raps

6.2 Schäden durch den Anbau von herbizidresistenten Pflanzen

Der große Erfolg der HR-Pflanzen erklärt sich zum einen aus den geringen Kosten für die entsprechenden Unkrautvernichtungsmittel und ihrer einfachen Handhabung. Zum anderen ermöglicht der Einsatz nicht-selektiver Totalherbizide eine effektivere Kontrolle von Unkräutern und die Verschiebung der Herbizidanwendung auf einen Zeitpunkt nach der Keimung (Nachlauf-Applikation) (vgl. Freudling 2004).

Die stetige Zunahme der Agrarflächen, auf denen HR-Pflanzen angebaut werden, wird allerdings von der Sorge begleitet, dass der massenhafte Einsatz der entsprechenden Herbizide

- die Evolution und Verbreitung herbizidresistenter Unkräuter begünstigen und
- mit dem Anbau von HR-Pflanzen einhergehende Veränderungen der Bewirtschaftungsweise die biologische Vielfalt gefährden könnten.

6.2.1 Evolution und Verbreitung herbizidresistenter Unkräuter

Drei verschiedene Mechanismen können zur Entstehung von HR-Unkräutern beitragen: genetische Variabilität, Verlust von Diasporen und Genfluss.

Genetische Variabilität

Da Unkrautpopulationen genetisch häufig sehr variabel sind, muss angenommen werden, dass resistente Genotypen mit einer geringen Häufigkeit in vielen Populationen vorhanden sind, bzw. durch spontane Mutationen neu entstehen können. Ein weit verbreiteter Einsatz von Herbiziden wirkt als enormer Selektionsdruck, der die Fortpflanzung der herbizidresistenten Genotypen begünstigt. Die Evolution von herbizidresistenten Unkräutern wird dadurch möglicherweise beschleunigt.

Verlust von Diasporen

Das Inserieren von HR-Genen in das Genom von Feldfrüchten ist insbesondere auch im Hinblick auf den häufigen Verlust von Diasporen während der Ernte und daraus resultierendem **Durchwuchs** problematisch. **Als Durchwuchs werden Pflanzenindividuen einer vorjährigen Kultur bezeichnet, die in den Folgejahren zwischen den Pflanzen der neu eingesäten Kultur wachsen.** Durchwachsende Kulturpflanzen verursachen Ertragseinbußen und werden mit denselben Maßnahmen wie andere Unkräuter bekämpft.

Nahezu **alle Kultursorten** sind bekannt dafür, dass sie als Durchwuchs in anderen Feldfrüchten auftreten können (Schlink 1994, zitiert nach Ammann *et al.* 2000, siehe auch 6.1.2.2). Gulden *et al.* (2003) kamen nach einer zweijährigen Untersuchung an 35 Rapsfeldern zu dem Ergebnis, dass 107 kg/ha an Rapssamen nach der Ernte auf den Feldern verbleiben. Dies entspricht 3000 keimfähigen Samen/m², die pro Rapsernte zur Samenbank des Ackers hinzukommen. Dieser Befund und die Tatsache, dass Rapssamen im Boden bis zu elf Jahre lang keimfähig bleiben (siehe 6.1), veranschaulicht, dass auf Ackerflächen, die mit HR-Sorten bestellt werden, u.U. für **mehrere Folgejahre mit HR-Durchwuchs zu rechnen** ist (vgl. auch Middelhoff 2004). Verluste während des Transports von Saatgut oder während der Ernte sind eine weitere mögliche Ursache für eine räumliche und zeitliche Ausbreitung von Kulturpflanzen jenseits ihrer Anbauflächen bzw. Anbauperioden (vgl. z.B. Crawley & Brown 1995).

Genfluss

Durch **Hybridisierungsereignisse** zwischen HR-Feldfrüchten und wilden oder kultivierten Kreuzungspartnern können die Herbizidresistenz-Gene in den Genpool von Unkrautpopulationen gelangen und sich dort bei einem entsprechenden Selektionsdruck stabil integrieren. Die Mechanismen des Genflusses und der Introgression werden in Kapitel 6.1 im Detail behandelt.

Werden herbizidresistente Unkräuter oder durchwachsende Kultursorten beobachtet, kann in der Praxis nicht in jedem Fall eindeutig geklärt werden, welcher Mechanismus der Entstehung dieser Pflanzen zu Grunde liegt. Handelt es sich um ein herbizidresistentes Unkraut, d.h. um eine Art, die nicht Bestandteil der angebauten Fruchtfolge ist, war der entsprechende Genotyp entweder bereits mit niedriger Frequenz im Genpool des Unkrauts vorhanden (genetische Variabilität) oder das Herbizidresistenz-verleihende Gen ist durch Genfluss in diesen übertragen worden. In beiden Fällen ist der entscheidende Faktor, der zur Vermehrung des Gens in der Unkrautpopulation führt, der starke Selektionsdruck, der durch die regelmäßige Anwendung von entsprechenden Herbiziden auf die Unkrautpopulation ausgeübt wird.

Tabelle 13: Glyphosatresistente Unkräuter und ihre Verbreitung (Heap 2005).

Spezies	Land	Jahr
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> (Beifuß-Ambrosie)	USA	2004
<i>Conyza bonariensis</i>	Südafrika Spanien	2003 2004
<i>Conyza canadensis</i> (Kanadisches Berufskraut)	USA USA ³	2000 2003 ³
<i>Eleusine indica</i>	Malaysia ²	1997 ²
<i>Lolium multiflorum</i> (Vielblütiges Weidelgras)	Chile Brasilien	2001 2003
<i>Lolium rigidum</i> (Steifes Weidelgras)	Australien USA Südafrika Südafrika ¹	1996 1998 2001 2003 ¹
<i>Plantago lanceolata</i> (Spitz-Wegerich)	Südafrika	2003

¹multiple Resistenz (Glyphosat & Paraquat); ²multiple Resistenz (Glyphosat & ACCase Inhibitoren); ³multiple Resistenz (Glyphosat & ALS Inhibitoren)

Tritt hingegen herbizidresistenter Durchwuchs auf, kann es sich entweder um direkte Nachkommen von HR-Feldfrüchten oder um Hybride zwischen einer kultivierten HR-Sorte und einem entsprechendem Kreuzungspartner handeln. In ersterem Fall muss als Ursache der Verlust von Samen oder anderen Diasporen bei der Ernte angenommen werden, im zweiten Fall handelte es sich dagegen um Genfluss zwischen einer kultivierten Art und einer nah verwandten Wildart oder einem anderen Kultivar der selben Feldfrucht (siehe auch 6.1).

Wenn auch alle geschilderten Vorgänge in herbizidresistentem Unkraut oder Durchwuchs resultieren, kann eine Unterscheidung der Fälle entsprechend ihrer Ursache für die Frage der Vermeidung des Schadens „HR-Unkraut/Durchwuchs“ von Bedeutung sein. Existieren keine potentiellen Kreuzungspartner (Wildarten oder verwandte Kultivare der entsprechenden Feldfrucht) in der Umgebung der Ackerfläche, wird eine Vermeidung des Schadens durch die **Verhinderung von Samen- oder Diasporenverlusten bei der Ernte** und/oder durch eine Rotation der Unkrautbekämpfungsmaßnahmen erzielt. Ist jedoch die Möglichkeit der Hybridisierung für die Entstehung von Durchwuchs oder anderen Unkräutern nicht auszuschließen, so erfordert dies insbesondere **Maßnahmen, die den Genfluss einschränken** (Abstandsregelungen, Ernte vor der Blühperiode, Pollensterilität etc.).

Beispiele für Herbizid-Resistenz

Die unbeabsichtigte Selektion herbizidresistenter Unkräuter als Begleiterscheinung der Herbizidapplikation ist keine spezifische Problematik des Anbaus transgener HR-Sorten. Vielmehr ist eine große Anzahl von Unkräutern bekannt, in denen eine Herbizidresistenz durch den konventionellen Einsatz von Herbiziden selektiert wurde (vgl. u.a. Ammann *et al.* 2000, Heap 2005).

Eine Resistenz gegen Glyphosat konnte zum ersten Mal im Jahre 1996 in Australien bei dem Unkraut *Lolium rigidum* (Steifes Weidelgras) festgestellt werden. In den 15 Jahren vor diesem Ereignis war das Herbizid insgesamt zehn Mal auf den Acker ausgebracht worden (Heap 1997).

Box 5: Dreifach-resistenter Durchwuchs-Raps (Hall *et al.* 2000)

Im Jahr 1997 waren in Kanada auf drei benachbarten Flächen **drei verschiedene herbizidresistente Rapsorten** (*Brassica napus*) angebaut worden. Es handelte sich um die transgenen Kultivare *B. napus* Innovator (resistent gegen Glufosinat) und *B. napus* Quest (resistent gegen Glyphosat) und die nicht-transgene Sorte *B. napus* 45A71 (imidazolinonresistent). **Im darauf folgenden Jahr wuchs auf der vormals mit glufusinatresistentem Raps bestellten Fläche Durchwuchsraps, der nicht mit Glyphosat kontrolliert werden konnte.**

Es handelte sich bei dem Durchwuchs sowohl um **zweifach-** als auch um **dreifachresistente** Pflanzen. Drei verschiedene Pänotypen wurden beobachtet:

- Resistenz gegen Glyphosat und Glufosinat
- Resistenz gegen Glyphosat und Imazethapyr (ein Imidazolinon)
- Resistenz gegen Glyphosat, Glufosinat und Imazethapyr

Sowohl das Segregationsmuster der F1-Generation des herbizidresistenten Durchwuchses als auch molekularbiologische Untersuchungen zeigten, dass **Genfluss** zwischen den verschiedenen Feldern für das Entstehen der Mehrfachresistenzen verantwortlich war. Als Ursache für die Entstehung der 3-fach resistenten Individuen werden mehrere aufeinander folgende Hybridisierungsereignisse angenommen. Der Verlust von Diasporen konnte als Ursache für das Auftreten des herbizidresistenten Durchwuchses ausgeschlossen werden.

Glyphosatresistentes Vielblütiges Weidelgras (*Lolium multiflorum*) wurde im Jahr 2001 in Chile nachgewiesen, nachdem Obstbauern eine geringe Sensitivität dieses Unkrauts gegenüber Glyphosat festgestellt hatten. Das Herbizid war vor dem Auftreten der Resistenz seit mindestens acht bis zehn Jahren regelmäßig in den Obstplantagen versprüht worden (Perez & Kogan 2003).

Die Befürchtung, dass der Anbau von **transgenen** HR-Pflanzen die Evolution von herbizidresistenten Unkräutern beschleunigen könnte, wird von folgenden Beispielen unterstützt. Nach nur drei Jahren des Anbaus von glyphosatresistentem Soja entwickelte das Kanadische Berufskraut (*Conyza canadensis*) in Delaware, USA, eine um das **acht bis 13-fache erhöhte Toleranz gegenüber Glyphosat** (VanGessel 2001). Seitdem wurde in neun weiteren Bundesstaaten der USA eine Glyphosatresistenz dieses Unkrauts nachgewiesen. Seit 2003 tritt im US-Bundesstaat Ohio bei *C. canadensis* neben der Glyphosatresistenz auch eine Resistenz gegen Herbizide auf, die das Enzym Acetohydroxyacid Synthase hemmen (ALS-Inhibitoren). Letztere steht nicht im Zusammenhang mit dem Anbau transgener Pflanzen (Heap 2005). Tabelle 13 gibt einen Überblick über die weltweit bekannten Beispiele glyphosatresistenter Unkräuter. Abgesehen von *Lolium rigidum* kommen alle in Tabelle 13 genannten Arten entweder natürlich oder als Neophyten auch in Deutschland vor.

Box 6: Genfluss im *Beta vulgaris*-Komplex

Die Art ***Beta vulgaris*** ist morphologisch und genetisch sehr variabel. Zu ihr gehören die Zuchtformen **Mangold, Zuckerrübe, Futterrübe** und **Rote Bete** sowie die **Wildrübe**:

Gattung	Spezies	Subspezies	Variation	Dt. Bezeichnung
<i>Beta</i>	<i>vulgaris</i> L.	<i>maritima</i>		Wildrübe
		<i>vulgaris</i>	<i>vulgaris</i>	Mangold
		<i>vulgaris</i>	<i>altissima</i>	Zuckerrübe
		<i>vulgaris</i>	<i>crassa</i>	Futterrübe
		<i>vulgaris</i>	<i>conditiva</i>	Rote Bete

(Quelle: <http://www.biosicherheit.de>, verändert)

Genfluss ist zwischen allen Kultivaren und der Wildart möglich, wenn sich die entsprechenden Verbreitungsgebiete überschneiden. Die Nachkommen sind stets fertil (Vigouroux *et al.* 1999). Es bestehen **keine effektiven genetischen Barrieren** für einen Gentransfer zwischen den Subspezies (Bartsch & Pohl-Orf 1996). Alle kultivierten Formen von *Beta vulgaris* (**Kulturrüben**) haben in der Regel einen **zweijährigen Lebenszyklus**. Da sie ihre Wurzelknollen bzw. Blätter im ersten Jahr ausbilden, werden sie meist bereits gegen Ende der Vegetationsperiode im ersten Jahr geerntet. Die generative Phase wird also in der Regel nicht durchlaufen, und ein Pollentransfer kann nicht stattfinden.

Das Sprießen und Blühen der Kulturrüben wird in der Regel durch Kälteinduktion (Vernalisation) ausgelöst. Diese Tatsache ist vor allem für die **Saatproduktion** relevant: Für diesen Zweck werden die Pflanzen im Spätsommer gesät. Sie keimen im Herbst und erfahren während des Winters Frost. Dadurch werden sie vernalisiert und im darauf folgenden Frühling bilden sie Samen aus (Bartsch *et al.* 2003). **Wildrüben** (*B. vulgaris* ssp. *maritima*) **blühen** dagegen häufig schon **im ersten Jahr**. Diese Einjährigkeit kann durch Hybridisierung auf kultivierte Zuckerrüben übertragen werden.

Auf Rübenfeldern und in ihrer Umgebung sind allerdings häufig auch einige vorzeitig sprießende Pflanzen (Schosser) zu beobachten, die im Phänotyp den Kulturrüben ähneln (siehe z.B. Darstellung in Bartsch & Ellstrand 1999). Diese **Unkrautrüben** mindern den Ertrag, indem sie mit der Feldfrucht konkurrieren (Viard *et al.* 2004). Aufgrund ihrer frühzeitigen Blüte können sie eine Samenbank im Boden etablieren, aus der sich über viele Jahre wiederholt Unkrautrüben rekrutieren.

Unkrautrüben entstehen durch Hybridisierung von Kultivaren mit Wildrüben (Viard *et al.* 2002, Bartsch *et al.* 2003), z.B. in Saatproduktionsgebieten. **Alternativ** kann der Unkrautcharakter in Rüben jedoch auch **durch Vernalisation** während eines kalten Frühlings hervorgerufen werden (s.u., vgl. Ammann *et al.* 2000, Bartsch *et al.* 2003). Unkrautrüben können Genfluss zwischen Kultur- und Wildart in Regionen ermöglichen, in denen die Kulturart normalerweise bereits vor der Blüte geerntet wird.

Genfluss zwischen Kultur- und Wildrüben ist unter folgenden Umständen am wahrscheinlichsten (Bartsch *et al.* 2003):

- In den Saatproduktionsgebieten: Bei Überlappung der Blühperioden von Kultur- und Wildrüben
- Vernalisation von vegetativen Pflanzenteilen, die nach der Ernte auf den Feldern verblieben sind
- Vernalisation von Keimlingen während ungewöhnlich tiefer Temperaturen nach der Aussaat

Aus dem mittleren Westen der USA werden zunehmende Schwierigkeiten bei der Bekämpfung von Durchwuchsmais in Sojafeldern berichtet, welche mit der Ausweitung des Anbaus von glyphosatresistenten Maishybriden in Zusammenhang gebracht werden (Owen & Zelaya 2005).

Ein Beispiel von herbizidresistentem Durchwuchs, bei dem der zu Grunde liegende Mechanismus eindeutig geklärt werden konnte, ist aus Kanada bekannt. In diesem Fall wurde Genfluss zwischen drei benachbarten HR-Rapsfeldern als Ursache für die Entstehung dreifachresistenter Rapspflanzen identifiziert (siehe Box 5).

Die Abschätzung der Wahrscheinlichkeit, mit der ein Transgen einer gentechnisch veränderten Kultursorte in Populationen nah verwandter Arten bzw. Unkrautvarietäten einkreuzen kann, ist seit einigen Jahren Gegenstand einer Vielzahl von Forschungsarbeiten. Diese Thematik wird sowohl experimentell als auch mit Hilfe von mathematischen Modellen intensiv untersucht (siehe 6.1). An dieser Stelle soll nur auf das gut erforschte Beispiel der Hybridisierungen innerhalb des *Beta vulgaris*-Komplexes verwiesen werden, welches illustriert, dass unterschiedliche Mechanismen und Eigenschaften der beteiligten Pflanzen zur Entstehung von schwer zu bekämpfenden Unkräutern beitragen können. (siehe Box 6).

6.2.2 Schäden durch eine veränderte Bewirtschaftungsweise

Es ist denkbar, dass die gute Handhabung und große Effektivität der Totalherbizide Glyphosat und Glufosinat dazu führt, dass viele Landwirte alternative Methoden zur Unkrautvernichtung vernachlässigen und sich stattdessen zunehmend auf den Einsatz von chemischen Herbiziden verlassen. Dies würde wiederum die Evolution resistenter Unkräuter beschleunigen und sich möglicherweise negativ auf die Biodiversität auswirken. **Es ist allerdings umstritten, welcher Effekt auf die Biodiversität von einem großflächigen Anbau von HR-Pflanzen tatsächlich zu erwarten ist.** Auf Feldern, auf denen keine HR-Pflanzen angebaut werden, bringen Landwirte in der Regel verschiedene Herbizide in Folge oder als Mischung auf. Häufig wird vorsorglich gehandelt, d.h. bevor zu erkennen ist, ob tatsächlich ein hoher Unkrautwuchs auftritt. Diese Praxis wird dadurch verstärkt, dass viele Herbizide nur vor dem Austreiben der Pflanzen angewendet werden können (Vorlauf-Applikation). HR-Feldfrüchte ermöglichen hingegen das Aufbringen der Herbizide zu einem späteren Zeitpunkt, so dass **nicht präventiv** gehandelt werden muss. Auch ist eine spezifische Behandlungen einzelner Unkräuter mit selektiven Herbiziden überflüssig. Der Anbau von HR-Pflanzen könnte daher zu einer **Reduktion des Gesamtverbrauchs an Herbiziden** führen. Tatsächlich hat der Herbizideinsatz auf Anbauflächen herbizidtoleranter GV-Kulturen, z.B. HR-Raps in den USA und Kanada, zu einer Reduktion des Herbizideinsatzes geführt (Brimner *et al.* 2005, Gianessi 2005). Bei den Wirkstoffen Glyphosat und Glufosinat handelt es sich zudem um **gut abbaubare Substanzen**. Der verstärkte Einsatz dieser nicht-persistierenden Wirkstoffe könnte in einer Verringerung der Belastung von Böden und Gewässern resultieren. Ein positiver Effekt auf die Biodiversität in Agrarökosystemen wäre daher theoretisch denkbar.

Andererseits ist bekannt, dass negative Auswirkungen durch Herbizide **vor allem indirekt durch die Vernichtung der Ackerbegleitflora** verursacht werden, statt durch direkte toxische Effekte der herbiziden Substanz (Schütte *et al.* 2004). Veränderungen der mikroklimatischen Bedingungen, der Größe des verfügbaren Habitats und des

Nahrungsangebots sind für viele Arten potentielle Folgen eines veränderten Unkrautmanagements (vgl. Volkmar *et al.* 2004a). Untersuchungen auf Landschaftsebene haben gezeigt, dass der intensive Einsatz von Totalherbiziden häufig zu einer größeren Schädigung der Ackerbegleitflora führt, als dies bei einer konventionellen Bewirtschaftungsweise der Fall ist. Großflächige Vergleichsstudien in England, die den Effekt von HR-Pflanzen auf Landschaftsebene untersuchten (,farm scale evaluations', FSE), zeigten eine Abnahme der Unkraut-Biomasse auf Rüben- und Sommer-Rapsfeldern. **Die Abundanz von Herbivoren, Bestäubern und natürlichen Feinden von Feldfrucht-Schädlingen war entsprechend der relativen Verringerung ihres Habitats ebenfalls niedriger auf Feldern, auf denen HR-Pflanzen wuchsen, als auf den konventionell bewirtschafteten Flächen.** Ein ähnliches Muster war auch auf Feldern zu beobachten, die mit transgenem HR-Winterraps bewirtschaftet wurden. Hier war die Diversität der dicotylen Unkräuter und mit diesen assoziierten Schmetterlingen und Bienen im Vergleich zu den konventionell bewirtschafteten Feldern signifikant reduziert (Burke 2003, Bohan *et al.* 2005). Springschwänze (Collembola) waren hingegen auf den Feldern aller HR-Sorten im Spätsommer zahlreicher als auf den konventionell bewirtschafteten Flächen. Da sich Springschwänze von zerfallendem Pflanzenmaterial ernähren, erklärt sich ihre höhere Abundanz vermutlich daraus, dass nach dem Einsatz des Totalherbizids größere Mengen an abgetöteter Unkraut-Biomasse zur Verfügung stand (Firbank *et al.* 2003b). Ein weiteres Beispiel für einen positiven Effekt des GVP-Anbaus lieferten die untersuchten Maisfelder. Hier war die Biomasse der Unkräuter im Vergleich zu den konventionell bewirtschafteten Flächen erhöht. Diese Beobachtung lässt sich auf den häufigen Einsatz von schwer abbaubaren Herbiziden (z.B. Athrazine) in konventionell bewirtschafteten Maisfeldern zurückführen, da diese einen starken und lang anhaltenden negativen Effekt auf die Ackerbegleitflora ausüben (Hawes *et al.* 2003).

Volkmar *et al.* (2001, 2003, 2004a) untersuchten auf Mais-, Raps- und Zuckerrüben-Feldern in Deutschland die Auswirkungen des Anbaus von HR-Pflanzen auf die Biodiversität. Während 3-jähriger Feldstudien fanden sie keine negativen Auswirkungen des Anbaus von HR-Feldfrüchten auf Käfer- oder Spinnenzönosen. Einen Überblick über die Ergebnisse der genannten Studien gibt Tabelle 14.

Ebenfalls umstritten ist, welche weiteren indirekten Effekte durch eine Änderung der Bewirtschaftungspraxis hervorgerufen werden könnten. Häufig ist mit dem Anbau von HR-Pflanzen auch eine Reduktion oder vollständige Unterlassung des Pflügens verbunden. Dies reflektiert einerseits die Vernachlässigung der mechanischen Unkrautkontrolle und der verstärkten Bekämpfung durch chemische Wirkstoffe, könnte aber gleichzeitig eine **Verringerung der Bodenerosion** zur Folge haben (Van Acker *et al.* 2004).

Tabelle 14: Studien zur Untersuchung der Effekte einer veränderten Unkrautbekämpfung (Anbau von HR-Pflanzen) auf die Ackerbegleitflora und -fauna (jeweils im Vergleich zu konventionell bewirtschafteten Feldern der entsprechenden Art)

HR-Feldfrucht	Untersuchte Pflanzen- oder Tiergruppe	Dauer	Ergebnis	Referenz
HR-Winter-Raps	Spinnen (Araneae), Laufkäfer (Carabidae), Kurzflügelkäfer (Staphylinidae)	3 Jahre	Aktivität der Carabidae und Staphylinidae war in transgenem Raps höher als in der konventionellen Sorte, ebenso die Spinnendiversität	Volkmar <i>et al.</i> 2001
HR-Zuckerrübe	Spinnen, Lauf- und Kurzflügelkäfer	3 Jahre	kein Effekt	Volkmar <i>et al.</i> 2003
HR-Mais	Spinnen, Lauf- und Kurzflügelkäfer	3 Jahre	kein Effekt	Volkmar <i>et al.</i> 2004a
HR-Raps	FSE-Studie: sowohl eine große Anzahl Kräuter als auch Insekten	4 Jahre	negativer Effekt auf Flora und Insekten, positiver Effekt auf Springschwänze (Collembola)	Zusammenfassung in Burke 2003, Firbank <i>et al.</i> 2003b
HR-Rüben	FSE-Studie: sowohl eine große Anzahl Kräuter als auch Insekten	4 Jahre	negativer Effekt auf Flora und Insekten, positiver Effekt auf Springschwänze (Collembola)	Zusammenfassung in Burke 2003, Firbank <i>et al.</i> 2003b
HR-Mais	FSE-Studie: sowohl eine große Anzahl Kräuter als auch Insekten	4 Jahre	positiver Effekt, z.B. auf Anzahl der Kräuter, Samen und Insekten	Zusammenfassung in Burke 2003, Firbank <i>et al.</i> 2003b

Unterschiede zwischen der konventionellen Bewirtschaftung und dem Anbau von transgenen HR-Pflanzen ergeben sich auch bezüglich der Auswirkungen auf angrenzende Felder. Beim Anbau von HR-Pflanzen können nicht-HR-Pflanzen auf benachbarten Feldern durch ein Verdriften der eingesetzten Totalherbizide verstärkt geschädigt werden (Kwon & Kim 2001). Die Resistenz der Feldfrucht führt häufig dazu, dass große Mengen des Herbizids gespritzt werden, was die Wahrscheinlichkeit einer Verdriftung von wesentlichen Mengen des Gifts erhöht.

6.2.3 Zwischenfazit herbizidresistente Pflanzen

Im Allgemeinen wird von dem großflächigen Anbau von HR-Pflanzen eine Reduzierung des weltweiten Herbizideinsatzes erwartet. Gleichzeitig wird allerdings häufig empfohlen, auch nach einer Umstellung auf HR-Sorten verschiedene Herbizide gleichzeitig anzuwenden, um die Entstehung von Resistenzen zu verhindern. Treten **resistente Unkräuter** auf, führt dies unter Beibehaltung einer vornehmlich chemischen Unkrautbekämpfung zwangsläufig zu einer Erhöhung des Herbizid-Verbrauchs.

Um der Entstehung und Verbreitung resistenter Unkräuter vorzubeugen, sollten folgende Maßnahmen praktiziert werden (vgl. Hall *et al.* 2000, Hommel & Pallutt 2004):

- Rotation verschiedener Herbizide mit unterschiedlicher Wirkungsweise,
- Gleichzeitiger Einsatz verschiedener Herbizide,
- Reduktion des Gesamt-Herbizid-Verbrauchs,

- Verhindern der Reproduktion von resistenten Unkräutern durch Beobachtung der Felder, Zerstörung von resistenten Individuen, etc.,
- Einsatz von Herbiziden mit einer kurzen Halbwertszeit,
- Integriertes Unkraut-Management (kulturell, mechanisch & chemisch),
- Fruchtfolge variieren,
- Es sollte vermieden werden, innerhalb einer Fruchtfolge Sorten anzubauen, die gegen das selbe Herbizid resistent sind.

Für eine Risikobewertung sollte außer der Problematik herbizidresistenter Unkräuter die Tatsache berücksichtigt werden, dass eine **Veränderung des Unkrautmanagements** eine Vielzahl indirekter Auswirkungen auf die Flora und Fauna in Agrarökosystemen nach sich zieht. Die bisherigen Erkenntnisse zu den Auswirkungen des großflächigen Anbaus von HR-Sorten auf die Biodiversität lassen jedoch **keine eindeutigen Aussagen über die Richtung der zu erwartenden Effekte** zu. Die oben genannten Beispiele reflektieren in ihrer Widersprüchlichkeit die Tatsache, dass indirekte Auswirkungen des Anbaus von HR-Pflanzen auf die Biodiversität stark von der insgesamt praktizierten Bewirtschaftungsweise abhängen. Werden bei der konventionellen Bewirtschaftungsweise wenig umweltbelastende Maßnahmen zur Unkrautbekämpfung eingesetzt, ist das **Entwerfen und Umsetzen eines präzisen Bewirtschaftungsplans** einschließlich ökonomischer Rentabilitätsanalysen erforderlich, um durch den Anbau von HR-Pflanzen einen positiven Effekt auf die Biodiversität im Agrarökosystem zu erzielen (vgl. Schütte *et al.* 2004).

6.3 *Bt*-Resistenzen bei Zielorganismen

Für die Bekämpfung von Insektenschädlingen gilt ähnliches wie für die Unkrautvernichtung: es überleben einzelne Individuen, die sich durch eine gewisse Resistenz gegen die zum Einsatz kommende Maßnahme auszeichnen. Vermehren sich diese Individuen, entstehen Populationen, die an den entsprechenden Selektionsdruck angepasst und durch die bisher praktizierte Bekämpfungsstrategie nicht mehr zu kontrollieren sind.

6.3.1 Entstehung von von *Bt*-resistenten Schädlingen

Die Entstehung und Verbreitung von *Bt*-resistenten Schädlingen würde für die Landwirtschaft den Verlust eines wichtigen und relativ umweltverträglichen Insektengifts bedeuten. Eine Folge wäre voraussichtlich der Einsatz größerer Mengen von stärker umweltbelastenden Insektiziden (McGaughey *et al.* 1998, Glaser & Matten 2003).

Bisher ist aus dem Freiland **nur ein einziger *Bt*-resistenter Schädling bekannt**. *Plutella xylostella*, ein global verbreiteter Schädling auf Kreuzblütlern (z.B. Raps), entwickelte eine Resistenz gegen den *Bt*-Wirkstoff als Reaktion auf das Besprühen von Agrarflächen mit dem entsprechenden Gift. Diese Entwicklung stand nicht im Zusammenhang mit dem Anbau transgener Pflanzen (siehe z.B. Tabashnik *et al.* 1991). Dass die konventionelle Anwendung von *Bt*-Giften nicht zu weiteren Fällen resistenter Schädlinge geführt hat, wird mit dem relativ seltenen Einsatz von *Bt*-Sprühgiften (<1% der

herkömmlichen Insektizide, Roush & Shelton 1997), einem in der Regel rasch erfolgenden Zerfall des Gifts im Sonnenlicht und einem möglichen Abwaschen des Wirkstoffs von besprühten Pflanzen durch Regenwasser erklärt (Höfte & Whiteley 1989).

Tabelle 15: Auswahl im Labor selektierter resistenter Stämme verschiedener Schädlinge (ergänzte Zusammenstellung nach Tabashnik *et al.* 2003 und Ferré & Van Rie 2002)

Schädling	Bt-Toxin	RR ^a	Übrl. auf Bt-Pfl. ^b	Referenz
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Cry1Ab/Cry1Ac	70	0%	Huang <i>et al.</i> 1999
<i>Helicoverpa armigera</i>	Cry1Ac	106	Ø ^c	Wu & Guo 2004
<i>H. armigera</i>	Cry1Ac	57	58%	Akhurst <i>et al.</i> 2003
<i>H. armigera</i>	Cry1Ac	13	25%	Fan <i>et al.</i> 2000
<i>Heliothis virescens</i>	Cry1Ac	10100	0%	Gould <i>et al.</i> 1995
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Cry1Ac/Cry2Ab	3100	45 ^d	Tabashnik <i>et al.</i> 2000a, Liu <i>et al.</i> 2001a, 2002a, Tabashnik <i>et al.</i> 2002b, Morin <i>et al.</i> 2003
<i>P. gossypiella</i>	Cry1Ac	>100	37	Liu <i>et al.</i> 1999, 2001b
<i>Plutella xylostella</i>	Cry1C	12400	91%	Zhao <i>et al.</i> 2000
<i>P. xylostella</i>	Cry1Ac	>6800	100%	Tabashnik <i>et al.</i> 1993, Ramachandran <i>et al.</i> 1998
<i>P. xylostella</i>	Dipel	1	Ø	Ferré <i>et al.</i> 1991
<i>P. xylostella</i>	Cry1Ab	>200	Ø	Ferré <i>et al.</i> 1991
<i>P. xylostella</i>	Cry1A(b)	>750	Ø	Tabashnik <i>et al.</i> 1994
<i>P. xylostella</i>	Cry1B	5	Ø	Tabashnik <i>et al.</i> 1994
<i>P. xylostella</i>	Cry1F	>240	Ø	Tabashnik <i>et al.</i> 1994
<i>P. xylostella</i>	Dipel ^e	330	Ø	Wright <i>et al.</i> 1997
<i>P. xylostella</i>	Florbac ^f	160	Ø	Wright <i>et al.</i> 1997
<i>Plodia interpunctella</i> Kol. 1	Cry1Ab	25	Ø	Herrero <i>et al.</i> 2001
<i>P. interpunctella</i> Kol. 2	Cry1Ab	290	Ø	Herrero <i>et al.</i> 2001

^a: RR = Resistance ratio: mittlere lethale Konzentration (LC₅₀) des resistenten Stammes/LC₅₀ des sensitiven Stammes

^b: Übrl. auf Bt-Pfl. = (Überlebensrate auf Bt-Pflanze/ Übrl.-rate auf nicht-transgener Vergleichspflanze)*100%

^c: Ø = keine Daten verfügbar

^d: Durchschnittlicher Wert von vier Experimenten, die Überlebensraten lagen zwischen 39-100%

^e: Dipel ist der Handelsname für ein kommerzielles *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* Insektizid

^f: Florbac ist der Handelsname für ein kommerzielles *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* Insektizid

Es überrascht jedoch die Tatsache, dass bisher keine weiteren resistenten Schädlinge entstanden sind, angesichts des großflächigen und inzwischen über viele Jahre erfolgenden Anbaus von transgenen *Bt*-Pflanzen, die das Toxin teilweise in hohen Dosen und während der gesamten Vegetationsperiode exprimieren. Auch der Umstand, dass trotz der großen Vielfalt an *Cry*-Genen, die von verschiedenen *B. thuringiensis*-Stämmen bekannt sind, in erster Linie lediglich *Cry1Ab* und *Cry1Ac* in großflächig angebauten und kommerziell vermarkteten Pflanzen exprimiert werden, ließe eine beschleunigte Evolution von *Bt*-Resistenzen erwarten (Gould 2003). Die Gründe dafür, dass keine *Bt*-resistenten Schädlinge als Reaktion auf *Bt*-Pflanzen auftreten, stehen möglicherweise mit einem geringen Fortpflanzungserfolg

resistenter Individuen („fitness costs“) und der praktizierten Strategie zur Vorbeugung von *Bt*-Resistenzen (s.u.) in Zusammenhang (Tabashnik *et al.* 2003, Bates *et al.* 2005).

Die Bekämpfung von Agrar-Schädlingen durch *Cry*-exprimierende Pflanzen verläuft bisher überaus erfolgreich, und entgegen den Erwartungen sind bisher keine *Bt*-resistenten Schädlingspopulationen bekannt, die eine *Bt*-Resistenz als Reaktion auf den GVP-Anbau entwickelt haben. In einer zweijährigen Feldstudie konnte trotz des Anbaus von *Bt*-Baumwolle und einer Anfangsfrequenz der Resistenzallele, die den theoretischen Schwellenwert um das 100-fache überstieg, keine Zunahme der Resistenzallele in einer *Pectinophora gossypiella*-Population nachgewiesen werden. Im Gegensatz nahm die Allelfrequenz während der Versuchsdauer unerwarteterweise ab (Tabashnik *et al.* 2000a).

Trotzdem wird angenommen, dass die Evolution *Bt*-resistenter Schädlinge letztlich nicht verhindert werden kann (Bates *et al.* 2005). Insbesondere der gegenwärtig auf globaler Ebene zu verzeichnende enorme Zuwachs an Agrarflächen, die mit *Cry*-exprimierenden Sorten bewirtschaftet werden und die unzureichende Einführung bzw. Umsetzung von verbindlichen Strategien zur Prävention der Entstehung von *Bt*-Resistenzen erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer Evolution von *Bt*-resistenten Schädlingen.

Laborstudien unterstützen die Annahme, dass *Bt*-Resistenzallele mit einer niedrigen Frequenz in vielen Schädlingspopulationen vorkommen (Ferré and Van Rie, 2002). Innerhalb weniger Generationen können Stämme resistenter Schädlinge im Labor selektiert werden (siehe Tabelle 15). Die Mechanismen, die zu einer Abnahme der Sensitivität gegen *Bt*-Toxine führen, sind nicht vollständig aufgeklärt. In einigen Fällen handelt es sich um eine verringerte Bindungsfähigkeit des *Bt*-Toxins an das Darmepithel des betreffenden Insekts. Als weitere Möglichkeiten werden u.a. eine fehlende Aktivierung der *Cry*-Proteine, ein beschleunigter Abbau der toxischen Proteine oder eine erhöhte Regenerationsfähigkeit des Darmepithels diskutiert (Gould 1998, Ferré & Van Rie 2002, Jurat-Fuentes *et al.* 2003).

Aus den Ergebnissen der Labor-Selektionsversuche lässt sich jedoch nicht direkt die Wahrscheinlichkeit einer Entstehung resistenter Schädlinge im Freiland ableiten. Ferré & Van Rie (2002) weisen darauf hin, dass wiederholt von gescheiterten Versuchen berichtet wurde, im Labor resistente Linien von *P. xylostella* zu selektieren. Angesichts der Tatsache, dass es sich bei *P. xylostella* um die einzige Art handelt, die bisher eine Resistenz gegen *Bt*-Toxine im Feld entwickelt hat, illustrieren diese Versuche die Tatsache, dass ein Laborstamm nicht in jedem Fall die im Freiland vorkommende genetische Diversität repräsentiert. Gleichzeitig können im Labor selektierte Individuen auf *Bt*-Pflanzen im Feld häufig nicht überleben (Tabashnik *et al.* 2003, Farinos *et al.* 2004, siehe Tabelle 15).

6.3.2 Präventionsstrategien

Zur Prävention der Entstehung insektizidresistenter Schädlinge werden gegenwärtig zwei Strategien favorisiert (Bates *et al.*, 2005):

- Kombination aus hoher Toxin-Dosis und dem Bereitstellen von toxinfreien Refugien (HDR-Strategie) und
- Expression von mehreren Toxin-Genen in einer transgenen Pflanze.

„Hohe-Dosis/Refugium“- (HDR-)Strategie

Die Hohe-Dosis/Refugium (HDR) -Strategie kombiniert eine hohe Expression des Insektizids mit der Bereitstellung kleinerer Bestände nicht-insektizidexpmierender Wirtspflanzen („Refugien“). Sie repräsentiert die am häufigsten angewendete Maßnahme zur Verhinderung oder Verzögerung einer Evolution insektizidresistenter Schädlinge (Bates *et al.* 2005). Durch die hohe Expression des Toxins soll erreicht werden, dass alle sensitiven und zu einem geringen Maße toleranten Individuen vernichtet werden. Individuen, die trotz der hohen *Bt*-Dosis überleben, tragen möglicherweise ein Resistenzallel, sind also bezüglich der *Bt*-Resistenz heterozygot. Das Refugium soll sicherstellen, dass für die wenigen überlebenden heterozygoten Schädlinge ausreichend homozygote (d.h. vollständig sensitive) Paarungspartner zur Verfügung stehen. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei überlebende Individuen der *Bt*-Anbaufläche (d.h. mit erhöhter Toleranz) paaren und dadurch homozygot resistente Nachkommen erzeugen könnten, wird auf diese Weise minimiert (Gould 1998).

Die Erwartung, dass durch diese Maßnahmen die Evolution von resistenten Schädlingen wenn nicht verhindert, so zumindest deutlich verzögert werden kann, basiert auf folgenden **Annahmen** (Bourguet 2004):

- die Frequenz der Resistenzallele ist bei Beginn des Insektizid-Einsatzes niedrig,
- die Insektizidresistenz wird rezessiv vererbt,
- resistente und sensitive Individuen paaren sich zufällig, bzw. auf *Bt*-Pflanzen überlebende Individuen paaren sich bevorzugt mit sensitiven Individuen des Refugiums.

Es wird angenommen, dass die HDR-Strategie in der Vergangenheit wesentlich zur erfolgreichen Prävention der Entstehung resistenter Schädlinge beigetragen hat. Von verschiedenen Autoren wird allerdings kritisch angemerkt, dass es einerseits sowohl an rechtlichen Vorschriften als auch an der Durchsetzung mangelt, andererseits das Zutreffen der theoretischen Annahmen, auf der die HDR-Strategie basiert, nicht in jedem Fall gewährleistet ist (Bourguet 2004, Bates *et al.* 2005). Letzteres ist teilweise darin begründet, dass die zur Verfügung stehenden Daten bezüglich Paarungs- und Verbreitungsverhalten der Schädlinge häufig unzureichend sind. Zusätzlich wurden in verschiedenen Studien Abweichungen von den theoretischen Bedingungen für den Erfolg der HDR-Strategie gemessen:

Eine Laborstudie mit dem Baumwollschädling *Pectinophora gossypiella* kam zu dem Schluss, dass **Unterschiede zwischen den Entwicklungszeiten** von resistenten und sensitiven Individuen bestehen und diese zu einer **nicht-zufälligen Paarung** führen könnten (Liu *et al.* 1999). Eizaguirre *et al.* (2004) stellten bei Freilanduntersuchungen am mediterranen Maiszünsler (*Sesamia nonagrioides*) eine **geringe Mobilität** männlicher Individuen fest. Aus ihren Ergebnissen folgerten die Autoren ebenfalls, dass sich die Schädlinge unter Umständen nicht zufällig, sondern vorzugsweise innerhalb des Refugiums oder innerhalb des Feldes paaren. Kritische Parameter könnten in diesem Fall die Größe des Refugiums und der Abstand zum *Bt*-Feld sein.

Weitere Hinweise darauf, dass die theoretischen Annahmen der HDR-Strategie nicht generell zutreffen, lieferten Studien zum Vererbungsmuster und zum Fortpflanzungserfolg

des resistenten Genotyps. Huang *et al.* (1999) beobachteten bei einem Laborstamm des Europäischen Maiszünslers (*O. nubilalis*) eine **nicht vollständig dominante Vererbung der Resistenz** gegen das kommerzielle *Bt*-Toxin Dipel ES.

Dingha *et al.* (2004) konnten bei dem Schädling *Spodoptera exigua* zwischen sensitiven und resistenten Individuen **keine Unterschiede bezüglich der Stoffwechselrate** feststellen und interpretieren diese Ergebnisse als Hinweis darauf, dass bei den resistenten Individuen **keine verminderte Fitness** zu erwarten wäre. Die beiden letztgenannten Studien wurden allerdings im Labor durchgeführt und lassen keine direkten Rückschlüsse auf den tatsächlichen Fortpflanzungserfolg resistenter Individuen im Freiland zu (Tabashnik *et al.* 2000b).

Neben der Möglichkeit, dass die theoretischen Annahmen, auf denen die HDR-Strategie basiert, nicht in jedem Fall zutreffen, können auch praktische Probleme dem Erfolg der HDR-Strategie im Wege stehen. So ist die effektive Toxin-Dosis möglicherweise unterschiedlich für verschiedene Schädlinge und eine **genaue Bestimmung der optimalen Dosis bereitet Schwierigkeiten**. Während eine zu niedrige Toxin-Konzentration die beschleunigte Evolution von resistenten Schädlingen erlauben könnte, lässt eine präventiv hohe Konzentration des Toxins **Schäden bei Nicht-Zielorganismen** befürchten (siehe Kapitel 6.4.) Verunreinigungen des Saatguts oder das gelegentliche Vorkommen von transgenen Pflanzen mit geringerer oder unterdrückter *Cry*-Expression („off-types“) können zu höherem Schädlingsbefall der Agrarfläche und zu einer beschleunigten Evolution von Resistenzen führen (Bates *et al.* 2005). Des Weiteren konnten **Toxin-exprimierende Hybriden in Refugia-Flächen** nachgewiesen werden (Chilcutt & Tabashnik 2004).

In vielen Ländern fehlen darüber hinaus rechtliche Bestimmungen, die zur Umsetzung einer effektiven Resistenzmanagement-Strategie verpflichten. Als besonders besorgniserregend erscheint in diesem Kontext die rasche Ausweitung der Anbaufläche für *Bt*-Baumwolle in Indien und China, die sich ohne die Einführung entsprechender Regelungen vollzieht (Jayaraman 2005). Auch in den USA ist ein hoher Prozentsatz an Landwirten ermittelt worden, der die Auflagen des Resistenzmanagements nicht erfüllt. Im Jahr 2002 waren dies etwa 21% der *Bt*-Mais anbauenden Landwirte in 10 Bundesstaaten (siehe Bates *et al.* 2005). Es sollte auch nicht außer Acht gelassen werden, dass die gegenwärtig favorisierte HDR-Strategie möglicherweise zu **lokalen Extinktionen der Schädlinge und in der Folge ihrer natürlichen Feinde** führen kann (Hilbeck 2001).

Expression mehrerer Cry-Gene in einer IE- Pflanze (Pyramiden-Strategie)

Das Kombinieren mehrerer insektizidkodierender Gene in einer transgenen Kultursorte wird als Alternative zur verbreiteten HDR-Strategie diskutiert bzw. in wenigstens einem Fall bereits praktiziert. Seit 2002 ist der Anbau von transgener Baumwolle, die neben *Cry1Ac* auch *Cry2Ab* exprimiert, in den USA, Kanada und in Australien zugelassen (www.agbios.com/dbase.php). In einen Feldversuch demonstrierten He *et al.* (2004) kürzlich eine effektivere Kontrolle des asiatischen Maiszünslers (*Ostrinia furnacalis*) durch Baumwollpflanzen, die zwei unterschiedliche Toxine exprimierten, als durch einfach transgene Pflanzen.

Bei der **Pyramiden-Strategie** handelt es sich im Prinzip um einen bewährten Ansatz. Auch für konventionelle Insektizide wird eine nachhaltige Wirkung durch das Kombinieren

mehrerer Wirkstoffe angestrebt. Einer Vermehrung von Resistenzallelen in einer Population von Schädlingen wird entgegengewirkt, indem gegen ein bestimmtes Toxin resistente Individuen durch ein gleichzeitig wirkendes zweites Gift vernichtet werden. Werden die Resistenz verleihenden Loci unabhängig voneinander vererbt und sind die Resistenzallele rezessiv, können nur die doppelt homozygot resistenten Individuen überleben. Die geringere Wahrscheinlichkeit für das Auftreten dieses Genotyps in der Population kann die Evolution von resistenten Schädlings-Stämmen verzögern (siehe Gould 1998). Gleichzeitig sollte auch bei der Pyramiden-Strategie ein Refugium bereitgestellt werden, allerdings ist hierfür eine kleinere Fläche notwendig, als dies für die HDR-Strategie der Fall ist. Als weiterer Vorteil wird das erweiterte Artenspektrum gewertet, gegen das Pflanzen mit mehreren Transgenen resistent sind. Schädlinge, die eine Toleranz gegen eines der Toxine besitzen, reagieren möglicherweise sensitiv auf den alternativen Wirkstoff (Bates *et al.*, 2005).

Die Vorteile transgener Pflanzen mit mehreren Transgenen sind jedoch im Hinblick auf die **erhöhte Wahrscheinlichkeit einer Beeinträchtigung von Nicht-Zielorganismen** abzuwägen.

Der langfristige Erfolg der Pyramiden-Strategie wird von Ergebnissen einer Laborstudie zur Effektivität und Nachhaltigkeit von kombinierten Insektizidgenen in Frage gestellt. Jurat-Fuentes *et al.* (2003) setzten im Labor verschiedene *Bt*-Toxine gegen den Baumwoll-Schädling *Heliothis virescens* ein. Zwei gegen Cry1Ac resistente *H. virescens*-Stämme entwickelten eine zusätzliche Resistenz nicht nur gegen Toxine, die eine hohe Ähnlichkeit zu Cry1Ac aufwiesen, sondern auch gegen den Wirkstoff Cry2Aa. Da die Wirkungsmechanismen von Cry1A- und Cry2A-Proteinen unterschiedlich sind, werden diese Toxine als jeweilige Alternativen für die Bekämpfung solcher Schädlinge betrachtet, die gegen einen der Wirkstoffe resistent sind. Die Entstehung von Mehrfachresistenzen ist daher als problematisch einzuschätzen.

Andererseits unterstützten die Ergebnisse einer Gewächshausstudie die Annahme, dass IE-Pflanzen, die mehrere unterschiedliche Toxine exprimieren, die Evolution von Insektizidresistenzen verzögern könnten. Zhao *et al.* (2003) verglichen drei verschiedene Kombinationen transgener und nicht-transgener Brokkolipflanzen. In allen drei Fällen hatten 80% der Pflanzen eine insektizide Wirkung, sie exprimierten entweder Cry1Ac, Cry1C oder beide Genprodukte. Die restlichen 20% exprimierten kein Toxin, d.h. der Anteil an Refugiumspflanzen war in allen drei Fällen identisch. Die Evolution von Resistenzen wurde in *P. xylostella*-Populationen beobachtet, in denen *Cry1Ac*- und *Cry1C*-Resistenzallele anfänglich mit einer niedrigen Frequenz vorhanden waren. Bei einem gleichzeitigen, gemischten Anbau von Pflanzen mit einem einzigen Toxin-Transgen und Pflanzen mit beiden *Cry*-Genen war die Evolution von *Bt*-Resistenzen beschleunigt im Vergleich zu der Anbausituation mit ausschließlich einfachtransgenen Pflanzen.

Alternative Insektizide

Die Verwendung alternativer Wirkstoffe könnte ebenfalls der Evolution von *Bt*-resistenten Schädlingen vorbeugen. Pflanzen, die Toxine exprimieren, deren Wirkungsmechanismus sich von dem der herkömmlichen *Cry*-Toxine unterscheidet, werden bereits getestet. Ein Beispiel sind *Vip*-Proteine (Vegetative insecticidal protein, *Vip*), die während der Wachstumsphase von *B. thuringiensis* gebildet werden (im Gegensatz dazu werden *Cry*-Proteine während der Fortpflanzung gebildet). Es ist bekannt, dass derartige *Vip*-

Toxine gegen ein breites Artenspektrum von Lepidoptera wirksam sind (Schnepf *et al.* 1998). Von der Firma Syngenta entwickelte *Vip*-exprimierende Baumwolle hat in den USA bereits eine Testphase mit Freisetzungsversuchen durchlaufen (Bates *et al.*, 2005).

Als weitere Alternative wird eine Substanz getestet, die aus dem Bakterium *Photorhabdus luminescens* isoliert werden kann. Ein Nachteil dieses als Toxin A bezeichneten Wirkstoffs besteht darin, dass seine Toxizität und seine Wirkung auf Nicht-Zielorganismen sehr viel geringer untersucht ist als die Wirkung der Cry-Toxine (Bates *et al.* 2005).

Modellierungen

Die Möglichkeiten einer experimentellen Überprüfung der Effektivität der genannten Strategien sind im Freiland begrenzt. Zum einen sind die im Labor selektierten resistenten Insektenstämme häufig nicht fähig, auf *Bt*-Pflanzen zu überleben. Zum anderen besteht bei Freilandversuchen mit resistenten Individuen die Gefahr der Verbreitung der Resistenzgene, da Versuchstiere entkommen oder sich mit bereits auf der Anbaufläche vorkommenden Schädlingen paaren könnten. Zur Evaluation der Strategien des Resistenzmanagements wird daher häufig auf mathematische Modellierungen und Computersimulationen zurückgegriffen (Bates *et al.*, 2005).

In der Vergangenheit unterstützten die Ergebnisse derartiger theoretischer Untersuchungen die Annahme, dass das Bereitstellen von Refugien unter bestimmten Umständen die Evolution resistenter Schädlingspopulationen verzögert (z.B. Gould 1998). Carrière & Tabaschnik (2001) nutzten eine mathematische Simulation, um Bedingungen zu identifizieren, die eine Abnahme der Frequenz von Resistenzallelen trotz des Anbaus von IE-Pflanzen ermöglichen, wie sie in einer Feldstudie in den USA beobachtet worden ist (Tabashnik *et al.* 2000a). Als günstige Faktoren bestimmten sie neben einer geringen anfänglichen Allelfrequenz, einem rezessiven Vererbungsmuster und einem geringeren Fortpflanzungserfolg von resistenten Individuen, große Refugiumsflächen, eine unvollständige Resistenz und ein Dichte-unabhängiges Populationswachstum in den Refugien.

6.3.3 Zwischenfazit *Bt*-Resistenzen bei Zielorganismen

- Die Bekämpfung von Agrar-Schädlingen durch *Cry*-exprimierende Pflanzen ist bisher überaus erfolgreich, und entgegen den Erwartungen sind bisher keine *Bt*-resistenten Schädlinge bekannt, die ihre Resistenz als Reaktion auf den GVP-Anbau erworben haben.
- Dieser in Bezug auf Schädlingsresistenzen positive Verlauf des GVP-Anbaus wird als ein Erfolg der HDR-Strategie gewertet.
- Trotzdem wird erwartet, dass *Bt*-resistente Schädlingspopulationen entstehen werden.
- Um der Evolution von resistenten Schädlingen vorzubeugen, müssen Resistenz-Management-Strategien befolgt werden.
- Es besteht ein Bedarf sowohl an einem verbesserten Resistenzmanagement als auch an alternativen Insektiziden.
- Als beste Strategie, die eine nachhaltige Nutzung von biologischen Insektiziden gewährleistet, wird eine Kombination verschiedener Maßnahmen erachtet. Sowohl

gentechnologische Möglichkeiten (z.B. multiple Transgene, induzierbare Promotoren, ggf. alternative Toxine) als auch traditionelle Maßnahmen, z.B. Schädlingsbekämpfung durch natürliche Feinde, zeitlich abgestimmte Bewirtschaftungsweisen oder der Anbau von Lock-Pflanzen („trap-crops“) sollten genutzt werden. Auch eine Beschränkung der maximalen *Bt*-Anbaufläche könnte zur Prävention einer Evolution von resistenten Schädlingen beitragen (Bates *et al.*, 2005).

- Nicht zuletzt sollte der Schutz der Biodiversität ein integrativer Bestandteil der Schädlingsbekämpfung sein, der auch für eine Strategie zur Vermeidung von Resistenzen berücksichtigt werden sollte.

6.4 Negative Effekte auf Nicht-Zielorganismen

Im Zusammenhang mit möglichen Auswirkungen transgener Pflanzen auf Nicht-Zielorganismen werden eine Vielzahl potentieller Effekte auf höchst unterschiedliche Arten kontrovers diskutiert. **Der Ausdruck „Nicht-Zielorganismen“ umfasst sämtliche nicht-pflanzliche Organismen, die sich von den ggf. vorsätzlich bekämpften Arten unterscheiden** (bei HR-, IE-, und krankheitsresistenten Pflanzen) **und durch das Vorhandensein eines Transgens in einer Pflanze negativ beeinflusst werden könnten** (vgl. Dale *et al.* 2002). Der Begriff bezeichnet also im Anbaugebiet lebende Tierarten (Insekten, Vögel, Säuger u.a.), einschließlich Organismen höherer Trophiestufen (Bestäuber, natürliche Feinde, Parasiten, Detritivoren) oder Mikroorganismen (mit der Pflanze assoziierte Bakterien oder die Bodenmikrofauna im Allgemeinen). Die Auswirkungen eines GVP-Anbaus auf andere Pflanzen werden dagegen im Zusammenhang mit vertikalem Genfluss, Verwilderung, Invasivität oder Koexistenz diskutiert (siehe Abschnitt 6.1).

Nicht-Zielorganismen könnten auf unterschiedliche Weise durch die Anwesenheit eines Transgens negativ beeinflusst werden. Denkbar sind **direkte Effekte**, z.B. durch eine **direkte toxische Wirkung des transgenen Produkts**. **Indirekte Effekte** umfassen dagegen schädliche Auswirkungen aufgrund eines **veränderten Mikroklimas**, einer **reduzierten Habitatfläche** oder einer **verschlechterten Nahrungsqualität**.

Im folgenden Kapitel wird die potentiellen Gefährdung von Nicht-Zielorganismen durch den Anbau von IE-Pflanzen behandelt. Das Risiko einer Abnahme der Biodiversität in Agrarökosystemen aufgrund des Anbaus von HR-Pflanzen wird in Kapitel 0 behandelt.

Zwei Kausalketten könnten einer Schädigung von Nicht-Zielorganismen durch IE-Pflanzen zugrunde liegen:

- IE-Pflanzen produzieren Substanzen, die für bestimmte Phytophagen toxisch sind. Das Vorhandensein dieser Substanzen könnte ebenso für Nicht-Zielarten schädlich sein, die mit diesen Substanzen in Kontakt treten.
- IE-Pflanzen vernichten Schädlinge sehr effektiv, d.h. für räuberische Organismen, die sich von diesen Schädlingen ernähren, verringert sich das Nahrungsangebot drastisch, bzw. die Qualität der Nahrung sinkt, wenn subletale Schädigungen an den Zielorganismen auftreten.

O'Callaghan *et al.* (2005) stellten kürzlich Ergebnisse einer Vielzahl von Labor- und Freilandstudien zusammen, die zur Abschätzung des von IE-Pflanzen ausgehenden Risikos für andere Nicht-Zielorganismen durchgeführt wurden (siehe Tabelle 16). In dieser Publikation wird eine Einteilung der untersuchten Organismen u.a. in die funktionellen Gruppen Bestäuber, natürliche Feinde der Schädlinge, Bodenorganismen und Mikroorganismen vorgenommen, welche für die folgende Darstellung in modifizierter Form beibehalten wird.

Statt die Populationen von Nützlingen zu dezimieren, könnten IE-Pflanzen jedoch auch den umgekehrten Effekt zur Folge haben. Im Allgemeinen wird von dem großflächigen Anbau transgener Pflanzen eine Verringerung des Einsatzes von Breitspektrum-Insektiziden erwartet. Dies könnte zu einer Zunahme von (räuberischen) Nützlingen führen, die wiederum das Nahrungsangebot von Amphibien, Nagern oder Vögeln vergrößern würden (Dale *et al.* 2002, Pilson & Prendeville 2004).

6.4.1 Bestäuber

Weder Baumwolle noch Mais, die beiden am häufigsten angebauten IE-Feldfrüchte, sind auf die Bestäubung durch Insekten angewiesen. Bienen, Hummeln und Schmetterlinge nutzen die Pflanzen jedoch als Nektar- und Pollenquellen.

Aufgrund der Selektivität der **Cry1Ab**-Toxine, welche die am häufigsten in transgenem Mais exprimierte Fremdproteine repräsentieren (James 2004), wurden die meisten Studien zur Bestimmung einer Gefährdung von Nicht-Zielorganismen durch **Maispflanzen** an Schmetterlingen (Lepidoptera) durchgeführt (vgl. US EPA 2000).

Losey *et al.* (1999) stellten in ihrer Studie zu den potentiellen Auswirkungen des Anbaus von *Bt*-Mais auf den **Monarchfalter** (*Danaus plexippus*) fest, dass die Larven dieses Schmetterlings von einer höheren Sterblichkeit betroffen waren, wenn sie mit *Bt*-Pollen bestäubte Laubblätter als Nahrung erhalten hatten. Diese Ergebnisse fanden große Beachtung, insbesondere angesichts der Tatsache, dass sich die Larven des Monarchfalters im Freiland ausschließlich von den Blättern der Seidenpflanzen-Gewächse (*Asclepias*) ernähren, welche in Nordamerika auch an den Rändern von landwirtschaftlichen Anbauflächen wachsen. Die Interpretation der Daten bezüglich einer Risikobewertung von IE-Pflanzen ist jedoch seit der Publikation von Losey *et al.* (1999) Gegenstand einer kontroversen Diskussion. Einerseits werden die Ergebnisse weiterhin zur Unterstützung der These herangezogen, dass durch den großflächigen Anbau von *Bt*-Pflanzen Artenverlust drohen könnte, andererseits wurde ihre ökologische Relevanz vielfach in Zweifel gezogen. Kritik wurde insbesondere in Bezug auf die von Losey *et al.* angewandte Methodik geäußert, die Konzentration der *Bt*-Pollen auf den als Nahrung angebotenen *Asclepias*-Blättern visuell mit den Gegebenheiten im Freiland zu vergleichen, ohne eine genaue Bestimmung der verabreichten Toxin-Dosis vorzunehmen (Hellmich *et al.* 2001, Sears *et al.* 2001). Durch diese Vorgehensweise sei allein die Wirkung einer ungewissen Dosis des Toxins auf den Falter untersucht worden, nicht aber die ökologischen Konsequenzen einer *Bt*-Exposition, die der realen Anbausituation entspricht (Dale *et al.* 2002).

Aufgrund des geschützten Status des Monarchfalters in Nordamerika (Hails 2000) und der großen Aufmerksamkeit, welche die Studie von Losey *et al.* (1999) auf sich zog, forderte

die US EPA im Jahr 1999 weitere, der Klärung dienende Informationen von Industrie und Wissenschaft an. Eine Reihe von Folgeuntersuchungen wurden daraufhin mit dem Ziel durchgeführt, die potentielle Gefährdung des Monarchfalters durch den großflächigen Anbau von *Bt*-Mais zu bestimmen. Folgende Faktoren wurden berücksichtigt (vgl. Sears *et al.* 2001):

- Toxizität des Pollens für *D. plexippus*,
- Zeitliche und räumliche Überlappung von Falter-Populationen und Pollenflug,
- räumliche Überlappung von *Asclepias*-Arten, die von Falter-Populationen genutzt werden, und *Bt*-Maisfeldern,
- Pollendichte auf *Asclepias*-Pflanzen in und in der Nähe von Maisfeldern.

Zur Evaluation des Risikos, das für *D. plexippus* von *Bt*-Mais ausgeht, wurden schließlich sowohl Freiland- als auch Labor- und Modellierungsdaten herangezogen (Oberhauser *et al.* 2001, Pleasants *et al.* 2001, Sears *et al.* 2001, Dively *et al.* 2004, Sears 2004). **Im Ergebnis kommen die Autoren zu dem Schluss, dass** – obwohl alle Faktoren, die zu einer Gefährdung des Monarchfalters beitragen, in Nordamerika tatsächlich wirken – **das Risiko für Populationen des Monarchfalters insgesamt als vernachlässigbar klein einzuschätzen ist.** Dies gilt insbesondere angesichts einer stetigen Abnahme des Anbaus von Bt176-Mais in den USA, welcher Cry-Proteine in vergleichsweise hoher Dosis exprimiert. Das errechnete Risiko für die Populationen des Monarchfalters bleibt auch dann gering, wenn angenommen wird, dass auf 80% der Mais-Anbauflächen in den USA *Bt*-Sorten gepflanzt werden (Sears *et al.* 2001).

Ein zusammenfassender Überblick über die Studien, die speziell zur Untersuchung einer möglichen Gefährdung des Monarchfalters durchgeführt wurden, wird in Box 7 gegeben. Verschiedene Autoren haben in der Vergangenheit auf eine **alternative Möglichkeit der *Bt*-Exposition** von Monarchfalter-Larven hingewiesen: durch den Wind werden außer den Pollenkörnern auch ganze Mais-Antheren verbreitet, die dadurch ebenfalls auf *Asclepias*-Blättern zu finden sind (Jesse & Obrycki 2000, Hellmich *et al.* 2001). Um zu klären, ob die Larven des Monarchfalters diese Antheren ebenfalls als Nahrung nutzen und um die daraus resultierende Gefährdung von *D. plexippus* zu analysieren, führten Anderson *et al.* (2004) eine Laborstudie zur Bestimmung der Toxizität von *Bt*-Antheren, Untersuchungen zur zeitlichen und räumlichen Pollen-Verbreitung und einen Vergleich der Pollenverteilung mit dem Fraßverhalten der Monarchfalter-Larven durch. Sie beobachteten, dass Larven, denen *Bt*-Antheren als Nahrung angeboten wurden (0,3-0,9 Antheren/cm²), weniger fraßen und nach vier Tagen **ein geringeres Gewicht** als die Larven der Kontrollgruppe hatten. Ihre Sterblichkeit war erhöht und ihre **Entwicklung verzögert**. Die im Feld bestimmte Antherendichte auf den Blättern von *Asclepias*-Pflanzen, die in Maisfeldern oder ihrer Nähe wuchsen, betrug im Mittel 0,06-0,1 Antheren/cm² (3-5 Antheren pro Blatt). In einem weiteren Versuch wurden Larven mit *Asclepias*-Blättern gefüttert, auf denen sich *Bt*-Antheren in einer Dichte von fünf Antheren pro Blatt befanden. In diesem Fall zeigten sich **keine Unterschiede bezüglich Wachstum Entwicklung oder Sterblichkeit** zwischen diesen Larven und der Kontrollgruppe. **Auf Grundlage dieser Daten kann geschlossen werden, dass von *Bt*-Antheren für sich betrachtet unter Feld-Bedingungen keine Gefährdung für die Populationen *D. plexippus* ausgeht.**

Wraight *et al.* 2000 untersuchten die Wirkung von *Bt*-Pollen auf Schwalbenschwanz-Falter (*Papilio polyxenes*). Hierzu wurden *P. polyxenes*-Larven auf ihre Wirtspflanzen platziert, die sich in unterschiedlichen Abständen von einem *Bt*-Maisfeld der Sorte MON 810 befanden. Es wurde kein Zusammenhang zwischen der Faltermortalität und der Entfernung der Wirtspflanze vom Maisfeld beobachtet. Im Labor wurden Fütterungsversuche mit Pollenkörnern dieser MON 810 Pflanzen durchgeführt. Die höchste getestete Dosis Pollenkörner (10000 Pollenkörner/cm²) ließ die Sterblichkeit unter den Faltern nicht ansteigen. Die höchste im Feld beobachtete Dosis Pollenkörner betrug auf den Wirtspflanzen 200 Pollenkörner/cm². **Die Autoren schlossen aus ihren Ergebnissen, dass sich aus dem Anbau von MON 810 Maispflanzen kein erhöhtes Risiko für *P. polyxenes* ergibt.**

Ein anderes Bild ergab sich jedoch, als Zangerl *et al.* (2001) die Wirkung von *Bt*-Mais der Sorte Bt176 auf den Schwalbenschwanz-Falter untersuchten. Zwar wurden keine Unterschiede bezüglich der Mortalität zwischen den Faltern, die *Bt*-Pollenkörnern ausgesetzt waren, und der Kontrollgruppe beobachtet. Die Wachstumsraten der Falter waren bei *Bt*-Exposition jedoch signifikant reduziert. **Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Mais des Events 176 unter realistischen Bedingungen subletale Effekte auf *P. polyxenes* ausübt.**

Die US EPA verglich das Verbreitungsgebiet gefährdeter Lepidoptera-Arten mit dem Maisanbaugebiet in den USA. Auf diese Weise identifizierte sie eine Schmetterlingsart (*Lycaeides melissa samuelis*) als einzige **gefährdete Lepidoptera-Art**, die in den USA durch den Anbau von *Bt*-Mais gefährdet werden könnte. Aufgrund der Verbreitung ihrer Wirtspflanze (*Lupinus perennis*) und der geringen zeitlichen Überlappung der Maisblüte mit der Larvenentwicklung schätzt die US EPA die Expositionswahrscheinlichkeit für diese Art jedoch ebenfalls als gering ein (US EPA 2000).

Die genannten Studien aus den USA sind für den GVP-Anbau in Deutschland insofern relevant, als dass sie die Gefährdung von Nicht-Ziel-Lepidoptera exemplarisch untersuchten. Für in Deutschland heimische Schmetterlingsarten sind bisher nur wenige Daten publiziert. Lang *et al.* 2004 untersuchten die Ablagerung von *Bt*-Pollen auf Pflanzen innerhalb und in der Nähe von GVP-Anbauflächen. Sie fanden u.a. Pollenkörner auf der wilden Möhre (*Daucus carota*), welche eine wichtige Wirtspflanze des heimischen Schwalbenschwanzes ist (*Papilio machaon*).

Auf der Grundlage von Fütterungsversuchen mit gereinigten, in Bakterien produzierten Cry-Proteinen wird angenommen, dass *Bt*-Pflanzen **keine negativen Effekte auf Bienen oder Hummeln** ausüben (O'Callaghan *et al.* 2005, siehe auch Malone & Pham-Delègue 2001). Die entsprechenden Untersuchungen wurden teilweise im Rahmen von UVP während des Genehmigungsverfahrens oder der Evaluation bereits kommerzialisierter IE-Pflanzen in den USA durchgeführt. Auch in einem entsprechenden Dokument der US EPA wird aus den Ergebnissen dieser Studien gefolgert, dass Schädigung von Bienen oder Hummeln durch *Bt*-Toxine oder durch andere in transgenen Pflanzen exprimierte Proteine nicht zu erwarten sind (US EPA 2000). **Eine Ausnahme bilden Serin-Proteaseinhibitoren, welche in hohen Konzentrationen zu einer erhöhten Sterblichkeit bei Bienen führen können** (Malone *et al.* 1999, O'Callaghan *et al.* 2005). Gegenwärtig werden von der US EPA Freilandstudien durchgeführt, um den Effekt von *Bt*-Pflanzungen auf Bienen und Hummeln unter den Bedingungen eines kommerziellen Anbaus abzuschätzen (Frederick 2002, Frederick 2005).

Box 7: Risikoanalyse für Schmetterlinge durch *Cry*-exprimierende Pollenkörner

Untersuchungsergebnisse zur Bestimmung des Risikos *Cry*-exprimierender Pollenkörner auf die Larven des Monarchfalters (*Danaus plexippus*) (Sears *et al.* 2001)

- Pollen von Bt176-Maispflanzen exprimieren Cry1Ab in hohen Konzentrationen (1,1-1,7µg/g Pollen) und verursachten eine erhöhte Mortalität und ein langsames Wachstum beim Monarchfalter (bei 5-10 Pollenkörner/cm²). Pollen der ebenfalls angebauten Sorten MON 810 und Bt11 (exprimieren Cry1Ab, geringe Konzentration: 0,09 µg/g), und der nicht angebauten Sorten Dbt418 (Cry1Ac), Cbh351 (Cry9C) und Tc1507 (Cry1F) hatten keinen Effekt auf Mortalität oder Wachstum (bei über 1000 Pollenkörner/cm²). Entsprechend waren die Ergebnisse der Freilandstudien: Negative Wirkung wurde bei Bt176-Pollen gefunden, dagegen keine Effekte durch Bt11 oder MON 810.
- Zeitliche Überlappung: Je nach US-Bundesstaat entwickeln sich 15-62% der Falterlarven während der Zeit des Pollenflugs.
- Räumliche Überlappung: Die Dichte der *Asclepias*-Gewächse ist im Allgemeinen auf nicht-landwirtschaftlich genutzten Flächen höher als auf Agrarflächen, Daten hierzu variieren stark je nach geographischer Region. Der Pollen verbreitet sich über eine Entfernung von bis zu 60m vom Rand des Maisfeldes. Im Feld betrug die Pollendichte auf *Asclepias*-Blättern im Mittel 171 Pollenkörner/cm². Die Dichte nahm stark mit der Entfernung vom Maisfeld ab (Dichte in 2-3m Entfernung vom Feld betrug etwa 1/5 der Dichte am Feldrand).

Aus diesen Daten berechneten Sears *et al.* (2001) das **Risiko für die Monarchfalterpopulation im Bundesstaat Iowa** unter verschiedenen Bedingungen:

- Event 176 wird auf 5% und Bt11 oder MON 810 werden auf weiteren 20% der Maisfelder in Iowa angebaut → Das Risiko für die Monarchfalter wäre in diesem Fall **0,41%**.
- 80% der Maisanbauflächen werden mit *Bt*-Mais der Sorten Bt11 oder MON 810 bestellt → Gefährdet wären in diesem Fall **0,05%** der Monarchfalter.
- 80% der Maisanbaufläche wird mit Event 176-Mais bestellt → In diesem Fall wären **6,1%** der Monarchfalter gefährdet.

6.4.2 Natürliche Feinde von Feldfrucht-Schädlingen

Von besonderem Interesse sind neben den Effekten auf bestäubende Organismen mögliche Risiken für natürliche Feinde der Schädlinge, die durch die Expression eines Insektizids in transgenen Pflanzen bekämpft werden sollen. **Die Kontrolle von Schädlingspopulationen durch natürliche Feinde stellt in vielen Fällen eine wichtige Alternative oder Ergänzung zur Schädlingsvernichtung durch Insektizide dar** (Hilbeck 2001). Eine Gefährdung von Nützlingen durch transgene IE-Pflanzen wäre daher ein gewichtiges Argument gegen deren Anbau. Potentiell sind natürliche Feinde zwei unterschiedlichen Risiken ausgesetzt, wenn ihre Beutearten durch Insektizide bekämpft werden. Eine direkte Gefährdung ergibt sich, falls das Toxin, das sich im Körper des

Beuteorganismus befindet, **direkt toxisch** auf den Räuber wirkt. Eine indirekte Schädigung wird dagegen durch **eine quantitative oder qualitative Verschlechterung des Nahrungsangebots** verursacht. Räuberische Organismen sind in der Regel stark von der Populationsdynamik ihrer Beute abhängig. Dies trifft insbesondere auf solche Räuber zu, die sich als Spezialisten von nur einer bestimmten Beuteart ernähren. Eine Gefährdung einer Nicht-Zielart, die sich als natürlicher Feind der bekämpften Schädlinge ernährt, ist also vor allem dann zu befürchten, wenn das Insektizid zur Bekämpfung der Beuteart in hohen Dosen exprimiert und dadurch eine starke Dezimierung des Bestands der Beuteart erreicht wird.

Zu den wichtigen räuberischen Nützlingen in Agrarökosystemen gehören die Spinnen. In einer Studie, deren primäres Ziel ein Vergleich der Effektivität verschiedener Aufnahmemethoden war, konnten keine negativen Effekte von *Bt*-Mais (Event 176) auf die Abundanz von Spinnen festgestellt werden. Allerdings weisen die Autoren ausdrücklich darauf hin, dass ihr Versuchsdesign die Identifizierung eines Unterschieds zwischen den Spinnenabundanzen der einzelnen Feldern nur dann mit einer befriedigenden statistischen Sicherheit (80%) leisten könnte, wenn dieser Unterschied mindestens 70% betrüge. Mit demselben Versuchsdesign konnten die Autoren allerdings eine signifikante Abnahme der Spinnenabundanzen nach der Anwendung des konventionellen Pyrethroid-Insektizids nachweisen. **Dies weist darauf hin, dass ein potentieller Effekt des *Bt*-Toxins auf die Abundanz der Spinnen wesentlich geringer ist als der Effekt des herkömmlichen Insektizids** (Meissle & Lang 2005).

Volkmar *et al.* (Volkmar *et al.* 2004b) untersuchten ebenfalls den Effekt von *Bt*-Mais auf Spinnen. Für diesen Zweck wurden während einer 2-jährigen Feldstudie die Spinnengemeinschaften auf Anbauflächen mit transgenem Mais der Sorte MON 810 mit jenen in konventionellen Maisfeldern verglichen. Von 20 unterschiedenen Spinnentaxa, die jeweils mit wenigstens 30 Individuen in der Gesamtprobe repräsentiert waren, wurde nur eine Art (*Bathyphantes gracilis*) häufiger in *Bt*-Mais als in konventionellem Mais gefangen. **Der Einfluss von *Bt*-Toxinen auf die Spinnengemeinschaft wird von den Autoren daher als vernachlässigbar eingeschätzt.**

Ludy & Lang (2004) führten im Labor einen Fütterungsversuch mit Gartenkreuzspinnen, Streifenkreuzspinnen und Wespenspinnen durch. Sie untersuchten die Wirkung des Verzehrs von *Bt*-Pollen im Vergleich mit Pollen von Maispflanzen, die mit dem gebräuchlichen Insektizid Baythroid behandelt worden waren. Weder die Konsumierung von *Bt*-Toxin, noch von *Bt*-Maispollen, noch von Bienen mit einer *Bt*-Maispollentracht hatte einen Effekt auf die Mortalität, Überlebensdauer, Gewichtszunahme, Reaktion auf Beute oder den Netzbau von den untersuchten Radnetzspinnen. Dagegen hatte das Insektizid Baythroid einen negativen Effekt auf die Überlebensdauer und die Gewichtszunahme der Spinnen. Im Freiland bestimmten die Autoren während einer dreijährigen Studie die Populationsdichten und Artenzahlen von Spinnen und blütenbesuchenden Insekten in Maisfeldern und an deren Rändern. Die Abundanzen der Spinnen waren im ersten Jahr in den *Bt*-Maisfeldern geringer als in konventionell bewirtschafteten Flächen. Im folgenden Jahr wurden keine Unterschiede zwischen den Feldern beobachtet. Im dritten Jahr war dagegen die *Bt*-Maisfelder an Spinnen reicher als die Kontrollfelder.

Gut untersucht sind die direkten und indirekten Effekte von *Bt*-Toxin auf die Grüne Florfliege *Crysoperla carnea* (Hilbeck *et al.* 1999, Meier & Hilbeck 2001, Dutton *et al.* 2002, Romeis *et al.* 2004; siehe zusammenfassende Darstellung in Hilbeck 2001). Als Nahrung für diese Nicht-Zielart dienten im Versuch entweder *Bt*-exprimierende Maispflanzen, von Bakterien synthetisierte *Bt*-Proteine oder Beuteorganismen, die einem *Bt*-Toxin ausgesetzt waren. Unabhängig davon, ob es sich um eine direkte oder indirekte Exposition handelte, konnte jeweils ein negativer Effekt auf die Larven von *C. carnea* beobachtet werden.

Zusätzlich wurden Versuche durchgeführt, während derer die Test-Individuen zwischen Beuteorganismen wählen konnten, die im Vorfeld entweder dem *Bt*-Toxin ausgesetzt oder mit diesem nicht in Kontakt gekommen waren. Als Beute wurden Larven der Baumwollcule (*Spodoptera littoralis*) oder Blattläuse (*Rhopalosiphum padi*) angeboten, von denen jeweils ein Teil der Individuen auf *Bt*-Mais und die Kontrollgruppe auf einer isogenen Mais-Sorte gezüchtet worden war. *C. carnea*-Larven zeigten (im 3. Larvenstadium) eine deutliche Präferenz für *S. littoralis*-Individuen aus der Kontrollgruppe. Im Gegensatz dazu war keine Präferenz der *C. carnea*-Larven für eine der beiden *R. padi*-Versuchsgruppen zu beobachten. Die Autoren vermuten, dass sich diese widersprüchlichen Ergebnisse aus der Abwesenheit des *Bt*-Toxins im Phloem der Maispflanzen erklären. Da sich *R. padi* vom Phloemsaft ernährt, entgeht diese Beuteart womöglich einer Schädigung durch das *Bt*-Toxin. Zeigte *C. carnea* im Feld eine entsprechende Präferenz für solche Beuteorganismen, die keinem *Bt*-Gift ausgesetzt waren, wäre keine Gefährdung von *C. carnea* durch den Anbau transgener Maispflanzen zu erwarten.

Eine **alternative Route**, auf der Insektizide in die Nahrungskette von Nicht-Zielorganismen gelangen können, ist der Honigtau. Dieser ist insbesondere in Agrarökosystemen eine bedeutende Zuckerquelle, da nektarproduzierende Blüten als Alternative häufig fehlen (Romeis *et al.* 2003). Es konnte z.B. gezeigt werden, dass Cry1Ab auch im Honigtau von Braunen Reiszikaden (*Nilaparvata lugens*) nachweisbar ist, die in *Bt*-Reisfeldern gesammelt wurden (Bernal *et al.* 2002a). Die Entwicklung und Überlebensrate des räuberischen *Cytorhynchus lividipennis*, dem Braune Reiszikaden als Nahrung dienen, wurden durch das *Bt*-Toxin im Körper der Reiszikaden nicht negativ beeinflusst (Bernal *et al.* 2002a).

6.4.3 Bodenorganismen (ohne Mikroorganismen)

Von GVP exprimierte rekombinante Proteine können entweder über die Wurzeln von lebenden Pflanzen oder während der Zersetzung abgestorbener Pflanzenteile in den Boden gelangen. Es konnte gezeigt werden, dass das von *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* produzierte Toxin im Boden an Erdpartikel bindet und dadurch vor Degradation geschützt ist. Es kann im Boden über einen Zeitraum von 234 Tagen biologisch aktiv sein (Tapp & Stotzky 1998).

Die Analyse der Risiken, die mit dem Anbau von GVP für Bodenorganismen verbunden sind, ist durch verschiedene Faktoren erschwert. Abgesehen von den besonderen Schwierigkeiten, die das Untersuchen von Mikroorganismen bereitet (siehe 6.3.4), sind die Heterogenität des Bodens und das Fehlen von verlässlichen Zeigerorganismen weitere Hürden, die das Aufklären möglicher Auswirkungen des Anbaus transgener Pflanzen auf Bodenorganismen behindern.

Saxena & Stotzky (2001a) untersuchten den Einfluss des von transgenen Pflanzen ins Erdreich abgegebenen *Bt*-Toxins auf verschiedene Bodenorganismen. Unter anderem konnten sie das Toxin in den Organen/im Verdauungstrakt von Regenwürmern (*Lumbricus terrestris*) nachweisen. **Ein signifikanter Effekt auf Abundanz, Mortalität oder Gewicht der Würmer wurde jedoch nicht festgestellt.** Zum selben Ergebnis kam eine Untersuchung an Kompostwürmern (*Eisenia fetida*), wobei in diesem Fall die Wirkung des Toxins Cry3A aus transgenen Kartoffeln untersucht wurde (US EPA 2000).

Zwahlen *et al.* (2003) stellten hingegen fest, dass Regenwürmer, die *Bt*-Mais fraßen, **Gewicht verloren**, während die Kontrollgruppe an Gewicht zunahm. Unklar blieb in dieser Studie die genaue Ursache für den beobachteten Effekt. Ob es sich um einen direkten Effekt einer toxischen Wirkung des Cry1Ab-Proteins oder um einen indirekten Effekt aufgrund anderer veränderter Eigenschaften des transgenen Mais handelte (z.B. ein erhöhter Lignin-Gehalt, Saxena & Stotzky 2001b), konnte nicht abschließend geklärt werden.

Eine wichtige und sehr diverse Gruppe bodenbewohnender Arthropoden sind die Springschwänze (Collembola). Sie gelten als Indikatoren für Bodenfruchtbarkeit und spielen eine wichtige Rolle bei Degradationsprozessen. O'Callaghan *et al.* (2005) nennen zwei Laborstudien, die jeweils den Effekt von *Bt*-Toxinen aus transgener Baumwolle und transgener Kartoffel auf ausgewählte Collembolenarten untersuchten, in einem Fall auch die Wirkung von einem Toxin, das in transgenem Mais exprimiert wird. Des Weiteren sind denselben Autoren zwei Freilandstudien in Maisfeldern bekannt, in denen Collembolen- und Milbenpopulationen untersucht wurden. **Keine dieser Studien fand eine negative Veränderung** der untersuchten Populationen.

Ein weniger eindeutiges Bild liefern auch die Ergebnisse von Studien mit transgenen Pflanzen, die **Proteaseinhibitoren** exprimieren. Diesbezüglich berichten O'Callaghan *et al.* (2005) einerseits von einer Untersuchung mit transgenen Kartoffeln, während der kein Effekt dieser Pflanzen auf die Abundanz von Collembolen festgestellt wurde, und einem Nachweis, dass auch Milben und Nematoden von diesen Pflanzen unbeeinflusst blieben. Eine weitere Studie wird angeführt, die dieses Ergebnis für Nematoden unterstützt. Andererseits nahm während eines Versuchs, für den Blätter transgenen Tabaks in der Erde vergraben wurden, die Anzahl der Collembolen in der Umgebung der Blätter signifikant ab. Im Labor zeigten Nematoden außerdem eine negative Reaktion auf die Lektine Concanavalin A und GNA (siehe O'Callaghan *et al.* 2005 und darin zitierte Publikationen). Tabelle 16 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der genannten und weiterer Studien zu potentiellen Effekten von *Bt*-exprimierenden Pflanzen auf Nicht-Zielorganismen.

6.4.4 Zwischenfazit Nicht-Zielorganismen (ohne Mikroorganismen)

Bt-Toxine wirken sehr spezifisch auf bestimmte Insektengruppen. Es handelt sich generell um umweltschonende und gesundheitlich unbedenkliche Substanzen. Bezüglich der Auswirkungen auf Nicht-Zielorganismen bestehen allerdings möglicherweise Unterschiede zwischen dem Anbau transgener IE-Sorten und dem konventionellen Gebrauch von *Bt*-Insektiziden (vgl. Hilbeck 2001). Die potentiellen Auswirkungen der *Bt*-Toxine dominieren eindeutig die Sicherheitsforschung bezüglich der Effekte auf Nicht-Zielorganismen. Erforderlich sind Daten über andere biologische Pestizide, die in transgenen Pflanzen exprimiert werden.

Tabelle 16: Effekte auf Nicht-Zielorganismen (zusammengestellt nach Malone & Pham-Delègue 2001 und O'Callaghan *et al.* 2005)

Nützling	Toxin	Verabreichte Form	Effekt	Referenz	
<i>Apis mellifera</i>	Cry1Ac	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>A. mellifera</i>	Cry1Ab	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>A. mellifera</i>	Cry1Ab	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	***
<i>A. mellifera</i>	Cry9C	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>A. mellifera</i>	Cry3A	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>A. mellifera</i>	Cry3B	gereinigtes Protein	kein Effekt	Arpaia 1996	*
<i>A. mellifera</i>	Cry1Ba	gereinigtes Protein	kein Effekt	Malone <i>et al.</i> 1999	
<i>Chrysopa carnea</i>	Cry1Ac	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>C. carnea</i>	Cry1Ab	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000, Romeis <i>et al.</i> 2004	*
<i>C. carnea</i>	Cry1Ab	<i>Spodoptera littoralis</i> -Larven, mit <i>Bt</i> -Mais gefüttert	verzögerte Entwicklung, höhere Mortalität	Raps <i>et al.</i> 2001, Dutton <i>et al.</i> 2002	*
<i>C. carnea</i>	Cry1Ab	<i>Tetranychus urticae</i> und <i>Rhopalosiphum padi</i> , auf <i>Bt</i> -Mais gezüchtet	kein Effekt	Dutton <i>et al.</i> 2002	*
<i>C. carnea</i>	?		kein Effekt	Wold <i>et al.</i> 2001	***
<i>Chrysopa spec.</i>	?		kein Effekt	Jasinski <i>et al.</i> 2003	***
<i>Hippodamia convergens</i>	Cry1Ac	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>H. convergens</i>	Cry1Ab	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>Nasonia vitripennis</i>	Cry1Ac	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>Orius tristicolor</i>	Cry1Ac	Beute-Organismus	negativer Effekt möglich	Ponsard <i>et al.</i> 2002	*
<i>O. insidiosus</i>	?		negativer Effekt, dieser aber geringer als beim Sprühen mit Pyrethroid	Musser & Shelton 2003	***
<i>O. majusculus</i>	?	<i>Anaphothrips obscurus</i> , gezüchtet auf <i>Bt</i> -Mais	kein Effekt	Zwahlen <i>et al.</i> 2000	*
<i>Geocoris punctipes</i>	Cry1Ac	Beute-Organismus	negativer Effekt möglich	Ponsard <i>et al.</i> 2002	*
<i>Navis sp.</i>	Cry1Ac	Beute-Organismus	kein Effekt	Ponsard <i>et al.</i> 2002	*
<i>Zelus renardii</i>	Cry1Ac	Beute-Organismus	kein Effekt	Ponsard <i>et al.</i> 2002	*
<i>Cotesia marginiventris</i>	Cry1Ac	Beute-Organismus	negativer Effekt möglich	Baur & Boethel 2003	*
<i>Copidosoma floridanum</i>	Cry1Ac	Beute-Organismus	negativer Effekt möglich	Baur & Boethel 2003	*
Spinnen-Abundanz	Cry1Ab	<i>Bt</i> -Mais-Pollenkörner	Kein Effekt auf 19 von 20 untersuchten Arten. <i>Bathyphantes gracilis</i> war in konventionellem Mais häufiger als im <i>Bt</i> -Mais	Volkmar <i>et al.</i> 2004a	***
Arthropoden-Abundanz	?		positiver, negativer oder kein Effekt möglich	Ning <i>et al.</i> 2001, Yang <i>et al.</i> 2001, Sun <i>et al.</i> 2002, Anonymus 2003	*
<i>Brachymeria intermedia</i>	Cry1Ab	gereinigtes Protein	kein Effekt	US EPA 2000	*
<i>Parallelorhogas pyralophagus</i>	?	<i>Eoreuma loftini</i> , gefüttert mit <i>Bt</i> -Mais	negativer Effekt	Bernal <i>et al.</i> 2002b	*
<i>Coleomegilla maculata</i>		Transgen-freier Pollen, einer cry3Bb-exprimierenden Mais-Pflanze	kein Effekt	Duan <i>et al.</i> 2002, Lundgren & Wiedenmann 2002	*
<i>C. maculata</i>	?		Dichte verringert	Wold <i>et al.</i> 2001	***
<i>C. maculata</i>	?		kein Effekt	Jasinski <i>et al.</i> 2003	***
<i>C. maculata</i>	?		negativer Effekt, dieser aber geringer als beim Sprühen mit Pyrethroid	Musser & Shelton 2003	***
<i>Harmonia axyridis</i>	?		negativer Effekt, dieser aber geringer als beim Sprühen mit Pyrethroid	Musser & Shelton 2003	***
<i>Lumbricus terrestris</i>	Cry1Ab	Wurzelsekrete transgener Maispflanzen	kein signifikanter Effekt auf Abundanz, Mortalität oder Gewicht	Saxena & Stotzky 2001a	**
<i>L. terrestris</i>	Cry1Ab	<i>Bt</i> -Mais	Gewichtsverlust	Zwahlen <i>et al.</i> 2003	?
<i>Eisenia fetida</i>	Cry3A	<i>Bt</i> -Kartoffeln	kein Effekt	US EPA 2000	?
Nematoden	Cry1Ab	Wurzelsekrete transgener Maispflanzen	kein Effekt	Saxena & Stotzky 2001a	**

*: Laborstudien

**: Mikrokosmen (Gewächshaus)

***: Freilandstudien

Die bisher zur Verfügung stehenden Daten sind widersprüchlich, die meisten der durchgeführten Untersuchungen haben jedoch keine negativen Effekte auf die untersuchten Organismen feststellen können.

Auf der Grundlage der bisher zur Verfügung stehenden Daten lässt sich annehmen, dass negative Effekte auf Arten höherer Trophiestufen am wahrscheinlichsten zu erwarten sind, wenn eine negative Auswirkung des transgenen Produkts auf die entsprechende Beute-Art zu beobachten war. In den meisten Fällen handelt es sich demnach um indirekte Effekte aufgrund der schlechteren Qualität der Nahrung, weniger um eine direkte toxische Wirkung des Insektizids auf Organismen höherer trophischer Ebenen (Pilson & Prendeville 2004, O'Callaghan *et al.* 2005). Diese Schäden treten auch durch konventionelle Insektizide auf.

Entscheidend für die **Bewertung der indirekten schädlichen Auswirkungen** sind die herangezogenen **Vergleichsdaten**. In der Regel wird für einen Vergleich zwischen den Auswirkungen des Anbaus von GVP mit den Auswirkungen der konventionellen Landwirtschaft argumentiert (z.B. Firbank *et al.* 1999, Bartsch 2004b). Wird ein solcher Vergleich durchgeführt, sprechen die Ergebnisse zumindest in einigen Fällen (z.B. bezüglich des Maisanbaus) für den Einsatz der Gentechnologie in der Produktion von Nahrungs- und Futtermitteln (siehe z.B. Pimentel & Raven 2000, Firbank *et al.* 2003b, Meissle & Lang 2005). Die Frage, welche Form der Landwirtschaft (konventionell/ökologisch) als Maßstab dienen sollte, ist allerdings umstritten. Nicht zuletzt sind die Bewertungsmaßstäbe auch abhängig von der Entscheidung, welche ökologische Schadensdefinition zu Grunde gelegt wird (Bartz *et al.* 2005).

6.4.5 Mikroorganismen

Die Bodenfauna ist stark von Mikroorganismen dominiert. Werden Pflanzenwurzeln vernachlässigt, so **haben Mikroorganismen einen Anteil von mehr als 80% an der Biomasse** im Boden. Bisher wurden die möglichen Effekte von transgenen Pflanzen auf Nicht-Zielorganismen jedoch hauptsächlich für die Makrofauna untersucht (Bruinsma *et al.* 2002). Dies liegt u.a. an den besonderen Schwierigkeiten, die eine systematische Untersuchung von dynamischen Prozessen bei Mikroorganismen im Freiland bereitet. So kann z.B. ein hoher Prozentsatz der im Boden vorkommenden Bakterien nicht kultiviert werden und die Auswertung einer großen Menge an Proben ist erforderlich, um signifikante Ergebnisse zu erzielen (Siehe auch Kapitel 6.5). Aufgrund der Bedeutung, die Mikroorganismen für ökosystemare Stoffkreisläufe haben, verlangt ihre potentielle Schädigung durch transgene Pflanzen jedoch intensive Beachtung.

Mikroorganismen, insbesondere Pilze, spielen gleichzeitig als Krankheitserreger eine große Rolle und verursachen hohe Ernteauffälle. Ihre Bekämpfung ist daher ebenfalls Ziel der Züchtungsforschung (siehe 5.5.3). Realisiert wurde dieses Ziel z.B. für Weizen, der fungizide Proteine exprimiert und dadurch erfolgreich das Wachstum des Maisbrandpilzes *Ustilago maydis* hemmte und eine erhöhte Resistenz gegen den Weizensteinbrand *Tilletia tritici* besaß (Clausen *et al.* 2000). Die Wirkung des fungiziden Weizens auf mikrobielle Nicht-Zielorganismen wurde in der zitierten Studie nicht untersucht. Die Resistenz der Pflanzen gegen den getesteten pathogenen Pilz *Tilletia tritici* wurde *in planta* durchgeführt. Vergleiche zwischen den Rhizosphären transgener und nicht-transgener Sorten lieferten in der Vergangenheit widersprüchliche Ergebnisse. Während bei einem Vergleich von drei

unterschiedlichen Rapsorten jeweils signifikante Unterschiede bezüglich der Bakteriengemeinschaften festgestellt wurden (Siciliano & Germida 1999), konnten solche Unterschiede für Mais nicht nachgewiesen werden (Schmalenberger and Tebbe, 2002; Schmalenberger and Tebbe, 2003). **Stattdessen wurde gezeigt, dass die Pflanzenart, mit der eine bakterielle Gemeinschaft assoziiert ist, auf letztere selektierend wirkt. Dies gilt unabhängig davon, ob es sich dabei um transgene oder nicht-transgene Pflanzen handelt.** Entsprechend wurden große Unterschiede gemessen bezüglich der Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften an den Wurzeln von Raps im Vergleich zu Weizen (Germida *et al.* 1998) und von Zuckerrüben im Vergleich zu derjenigen an den Wurzeln von Maispflanzen, die im selben Feld wuchsen (Schmalenberger and Tebbe, 2002). Darüber hinaus verändert sich die mikrobielle Fauna der Rhizosphäre in Abhängigkeit vom Pflanzenwachstum. Im Laufe der Entwicklung einer Pflanze vom Keimling zum Adult findet eine Sukzession in der Bakteriengemeinschaft statt. Wiederum spezifische Bakteriengemeinschaften sind mit absterbendem und totem Pflanzenmaterial assoziiert (vgl. Bruinsma *et al.* 2002).

Wenig ist bekannt über den **Einfluss von transgener Nahrung auf Mikroorganismen im Darmtrakt** von Menschen oder Tieren. Einspanier *et al.* (2004) untersuchten den Effekt von *Bt*-Mais auf die bakterielle Gemeinschaft im Verdauungstrakt von Rindern. Obwohl bei allen über einen Monat mit *Bt*-Mais gefütterten Tieren das *Bt*-Toxin im Verdauungstrakt nachgewiesen werden konnte, ergab sich **kein signifikanter Unterschied bezüglich der Zusammensetzung der Bakterien-Population** in den Därmen der Rinder, die *Bt*-Mais fraßen und der Kontrollgruppe. Allerdings wurde im Kot der Rinder, deren Futter *Bt*-Mais enthielt, das *Bt*-Protein Cry1Ab ebenfalls nachgewiesen, in einer Konzentration von ca. 0,08ng Cry1Ab/g Protein. Aussagen über die biologische Aktivität des Toxins nach der Darmpassage konnten nicht gemacht werden, aber **eine Belastung von Weideböden mit *Bt*-Toxin scheint auf diesem Wege möglich.** In Tabelle 17 sind Untersuchungsergebnisse von Studien zusammengestellt, deren Ziel es war, den Einfluss transgener Pflanzen auf Mikroorganismen experimentell zu ermitteln.

Eine weitere Frage, welche unbeabsichtigten und negativen Auswirkungen transgene Pflanzen auf die Gemeinschaften von Mikroorganismen haben könnten, betrifft die potentielle **Aufnahme und stabile Integration von transgener Pflanzen-DNA durch Bakterien** (vgl. Lynch *et al.* 2004). Diese Problematik wird im Kapitel 6.5 dargestellt und diskutiert.

6.4.6 Zwischenfazit Mikroorganismen

Boden-Mikroorganismen sind transgenen Pflanzen bzw. transgenen Produkten vielfach ausgesetzt, u.a. durch direkten Kontakt an den Wurzeln, eine Exposition durch Wurzelsekrete oder durch totes Pflanzenmaterial.

Die bisher zur Verfügung stehenden Daten sind widersprüchlich. Viele, aber nicht alle der bisher durchgeführten Vergleiche zwischen mikrobiellen Gemeinschaften unter dem Einfluss von GVP und solchen, die mit konventionellen Pflanzen in Kontakt stehen, haben Unterschiede zwischen den Gemeinschaften festgestellt (Bruinsma *et al.* 2002). Häufig blieb der kausale Zusammenhang zwischen der Anwesenheit des transgenen Pflanzenmaterials und Veränderungen in der mikrobiellen Gemeinschaft allerdings unklar.

Tabelle 17: Überblick über Untersuchungsergebnisse bezüglich des Einflusses transgener Pflanzen auf Mikroorganismen (modifiziert nach Bruinsma *et al.* 2002)

GV-Pflanze	GV-Merkmal	Ergebnisse	Referenz
Mais	<i>Bt</i> -Toxin	kein Effekt auf die Bakterienflora im Darm von Rindern, die GV-Mais fraßen	Einspanier <i>et al.</i> 2004
Mais		keine GV-spezifischen Effekte	Schmalenberger & Tebbe 2002, 2003
Raps	Glufosinat- und Glyphosat-Resistenz	Unterschiede zwischen den assoziierten Bakterien-Gesellschaften von GV-Raps und nicht GV-Raps	Dunfield & Germida 2001
Mais	<i>Bt</i> -Toxin	keine Unterschiede bezüglich der Anzahl kultivierbarer Bakterien, Pilze oder Protozoa	Saxena & Stotzky 2001a
Kartoffel	T4-Lysozym-Produktion	Erhöhte Mortalität von <i>Bacillus subtilis</i> an den Haarwurzeln der transgenen Kartoffelpflanzen	Ahrenholtz <i>et al.</i> 2000
Weizen	Fungizides Protein KP4	Pilzschädigende Wirkung gegen <i>Ustilago maydis</i> , erhöhte Resistenz gegen <i>Tilletia tritici</i>	Clausen <i>et al.</i> 2000
Mais	<i>Bt</i> -Toxin (Cry1Ab)	Lignin wurde in den GV-Maisfeldern schneller abgebaut. Das Bakterienwachstum war im Kot von <i>P. scaber</i> -Individuen, die sich von GV-Mais ernährten hatten, bis zu 60% niedriger, als bei der Kontrollgruppe (nicht-transgener Mais)	Escher <i>et al.</i> 2000
Gemeiner Hornklee	Opin-Produktion	Selektionsvorteil für Opin-verstoffwechselnde Bakterien, keine Effekte auf andere Bakterien	Oger <i>et al.</i> 2000
Kartoffel	Barnase/Barnstar und gus-Gene	Effekte auf die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaften	Lukow <i>et al.</i> 2000
Raps		Unterschiede zwischen den mit den Raps-Pflanzen assoziierten Bakteriengemeinschaften	Siciliano & Germida 1999
Kartoffel	T4-Lysozym	Kein Effekt der T4-Lysozym-Produktion auf Pflanzen-assoziierte Bakterien	Lottmann <i>et al.</i> 1999
Luzerne	Alpha-Amylase und Lignin Peroxidase	Konsistente Unterschiede bezüglich der Bakteriengemeinschaft	Di Giovanni <i>et al.</i> 1999
Tabak	Proteinase Inhibitor I	Effekte auf Populationen von Protozoen, Nematoden und Mikroarthropoden	Donegan <i>et al.</i> 1997
<i>Nicotiana glauca</i>	3 verschiedene Formen der Tabak-Chitinase	Erhöhte Resistenz der Pflanzen gegen die Kolonisierung durch das Wurzelpathogen <i>Rhizoctonia solani</i> , hingegen normale Kolonisation durch den Wurzelsymbionten <i>Glomus mosseae</i>	Vierheilig <i>et al.</i> 1993

Methodische Probleme erschweren nach wie vor die Risikoabschätzung bezüglich des Einflusses von GVP auf mikrobielle Gemeinschaften, einschließlich Unklarheiten bezüglich der Wahl der zu messenden Parameter und der notwendigen Größe der Stichprobe (vgl. 6.5.4). Aufgrund der enormen Diversität von Mikroorganismen kann nur ein geringer Teil der Vielfalt und der Prozesse erfasst werden. Die Identifizierung und Untersuchung von **Indikatorarten und Indikatorprozessen** ist daher für ein Monitoring notwendig. Die Indikatorarten sollten funktionelle Gruppen repräsentieren, und im untersuchten Ökosystem eine wichtige, nicht oder kaum durch andere Arten geleistete ökologische Funktion erfüllen. Bruinsma *et al.* (2002) identifizierten als mögliche mikrobielle Indikatorgruppen: Antagonistische Bakterien, Mycorrhiza-Pilze, Ammonium-oxidierende Bakterien und Stickstoff-fixierende Bakterien; als mögliche Indikatorprozesse: Abbau von schwer

abbaubaren organischen Verbindungen, und die Eigenschaft des Bodens, Krankheitskeime zu unterdrücken. Die Wahl der Indikatoren ist von den spezifischen Bodeneigenschaften des Untersuchungsgebiets abhängig.

Bodenökosysteme sind äußerst dynamisch und unterliegen zahlreichen natürlichen und anthropogenen Einflüssen, u.a. jahreszeitlichen und klimatischen Schwankungen, sowie landwirtschaftlicher und diverser anderer variabler Nutzungen. Diese Prozesse haben zur Folge, dass sich die Bedingungen, denen Boden-Mikroorganismen ausgesetzt sind, häufig ändern. Diese Variabilität erschwert den Nachweis eines ursächlichen Zusammenhangs zwischen veränderten mikrobiellen Gemeinschaften und dem Anbau transgener Pflanzen.

6.5 Horizontaler Gentransfer

Horizontaler oder lateraler Gentransfer (HGT) bezeichnet den Vorgang der DNA-Übertragung zwischen Organismen, der unabhängig von sexuellen Vorgängen und Artgrenzen ist. Es wird angenommen, dass Prozesse dieser Art während der Lebensdauer eines Individuums sehr selten, in evolutionären Zeiträumen jedoch mit relevanter Frequenz stattfinden (Forsman *et al.* 2003). So waren HGT-Ereignisse vermutlich mehrfach für die Entstehung der mikrobiellen Vielfalt von Bedeutung. Einige DNA-Sequenzen in den Genomen von rezenten Prokaryota (Bakterien und Archaeen) weisen z.B. eine hohe Ähnlichkeit mit nur entfernt verwandten Organismen auf. Als sparsamste Erklärung für diesen Sachverhalt werden HGT-Prozesse postuliert (Doolittle 1999, vgl. auch Stanhope *et al.* 2001).

Bakterien besitzen effektive Mechanismen für einen horizontalen Austausch von DNA-Fragmenten. Diese sind möglicherweise aufgrund der Tatsache entstanden, dass sich Bakterien durch einfache Zellteilung vermehren und dabei keine Rekombination des genetischen Materials stattfindet (Van den Eede *et al.* 2004). Aufgenommene Fremd-DNA kann von Bakterien in ihr Genom integriert werden und dadurch gegebenenfalls eine Anpassung an veränderte Umweltbedingungen ermöglichen. In anderen Fällen scheint HGT anderen Zwecken zu dienen. So wird aufgenommene Fremd-DNA auch zur Reparatur endogener DNA oder als Nährstoffquelle genutzt (Chen & Dubnau 2004).

Außerhalb des Reichs der Prokaryoten ist eine horizontale Übertragung von genetischem Material zwar ebenfalls nachgewiesen worden (siehe 6.5.3), dieser betraf aber in keinem Fall die Keimbahn (Van den Eede *et al.* 2004).

Es werden **drei Mechanismen des HGT** zwischen Bakterien unterschieden: (1) Bakteriophagen-vermittelte Transduktion, (2) bakterielle Konjugation, bei der der Austausch von genetischem Material während direktem physischen Zellkontakts stattfindet, und (3) natürliche Transformation, d.h. die Aufnahme extrazellulärer („nackter“) DNA aus der Umgebung.

Die **Transduktion** als Mechanismus der horizontalen Übertragung von genetischem Material wird für den DNA-Transfer von Pflanzen zu Bakterien ausgeschlossen, da sich das Wirtsspektrum von Phagen auf bakterielle Zellen beschränkt. Eine Aufnahme oder

Mobilisierung von (endogener oder rekombinanter) pflanzlicher DNA ist durch Phagen daher nicht möglich.

Als **Konjugation** bezeichnete Vorgänge sind im engeren Sinne ebenfalls auf das Reich der Bakterien beschränkt. Das Einschleusen von Fremdgenen in eine Zielpflanze mit Hilfe des Ti-Plasmids von *A. tumefaciens* verläuft allerdings nach einem ähnlichen Prozess (Nielsen *et al.* 1998). Ein Rück-Transfer von DNA aus einer Pflanze in ein Bakterium mittels desselben Mechanismus wird aber als unwahrscheinlich erachtet, da für den Gentransfer notwendige Gene (*vir* Gene) nicht in die Zielpflanze übertragen werden (siehe auch 5.1).

Dem Mechanismus der **natürlichen Transformation** wird das größte Potential für einen DNA-Transfer von Pflanzen zu Bakterien zugeschrieben (Nielsen *et al.* 1998, Paget *et al.* 1998, Bertolla *et al.* 1999, Smalla *et al.* 2000). Im Gegensatz zur technischen Transformation von Zellen, bei der die Durchlässigkeit der Zellmembran künstlich manipuliert wird (z.B. durch Elektroporation) oder Vektoren für den Transfer von DNA eingesetzt werden, sind bei der natürlichen Transformation von Bakterien spezifische endogene Proteine für die Aufnahme und Prozessierung der Fremd-DNA verantwortlich. Die aufgenommenen Gen-Fragmente interagieren mit cytoplasmatischen Proteinen und sind dadurch vor intrazellulärem Abbau durch Restriktionsenzyme oder DNasen geschützt (für Einzelheiten siehe z.B. Chen & Dubnau 2004).

Bei ausreichender Übereinstimmung von Fremd- und endogener DNA-Sequenz kann die aufgenommene DNA durch homologe Rekombination stabil in das bakterielle Empfänger-Genom eingebaut werden. Fehlende oder geringe Homologie der DNA-Sequenzen stellt normalerweise eine wirksame Barriere für eine Rekombination des genetischen Materials von Bakterien mit divergierenden DNA-Sequenzen dar (vgl. Datta *et al.* 1997). Durch einen der folgenden Mechanismen kann dennoch eine Integration ins Wirtsgenom erfolgen:

- Bildung eines unabhängig replizierenden Elements,
- Einbau an einer Insertionsstelle des Genoms durch die Aktivität von Enzymen, die bestimmte, kurze DNA-Abschnitte erkennen und Fragmente mit diesen Erkennungssequenzen ausschneiden und einfügen können (in diesem Fall handelt es sich bei der Fremd-DNA um mobile genetische Elemente, wie z.B. Integrons, Genkassetten oder Transposons),
- Illegitime Rekombination, wobei nicht-homologe DNA-Stränge gepaart werden (siehe Kapitel 5.1).

Die Debatte um mögliche Risiken gentechnisch veränderter Pflanzen gab der Forschung zur Aufklärung von HGT-Mechanismen einen starken Impuls. Die potentielle **Ausbreitung von Antibiotikaresistenzgenen** erhält im Zusammenhang mit dem GVO-Anbau besondere Aufmerksamkeit und steht im Zentrum der HGT-Sicherheitsforschung (Smalla *et al.* 2000, De Vries *et al.* 2001, Netherwood *et al.* 2004). Antibiotikaresistente Bakterienstämme stellen ein gravierendes Gesundheitsrisiko dar. In den vergangenen Jahrzehnten war eine beschleunigte Entstehung von antibiotikaresistenten Pathogenen zu beobachten, während im gleichen Zeitraum die Anzahl der Entdeckungen neuer Wirkstoffe und der Neuentwicklungen von Antibiotika-Medikamenten deutlich abnahm (WHO 2002).

Übereinstimmend wird angenommen, dass HGT für Bakterien eine bedeutende Rolle als Evolutionsmechanismus spielt und Antibiotikaresistenzgene auf diese Weise **unter Bakterien** ausgetauscht werden. Bei entsprechendem Selektionsdruck (z.B. in Kliniken) können sich Antibiotikaresistenzgene innerhalb kurzer Zeit verbreiten (Nielsen *et al.* 1998). Umstritten bleibt aber weiterhin, wie häufig und nach welchem der drei beschriebenen Übertragungs-Mechanismen HGT-Ereignisse unter natürlichen Bedingungen stattfinden (Nielsen *et al.* 1998).

Eine erfolgreiche Transformation von Bakterien durch (transgene) **Pflanzen-DNA** erscheint zunächst unwahrscheinlich, da hierfür verschiedene Voraussetzungen bzw. biologische Schritte notwendig sind:

- Vorliegen von „nackter“ DNA, z.B. durch Degradation von Pflanzenmaterial,
- Anwesenheit von aufnahmefähigen (kompetenten) Bakterienzellen,
- Aufnahme der (transgenen) pflanzlichen DNA, Schutz vor intrazellulärem Abbau,
- Integration ins bakterielle Genom und
- Expression im Bakterium (vgl. Gebhard & Smalla 1998, Kay *et al.* 2002).

In Pflanzen mit einer genetischen Manipulation im Kerngenom repräsentiert das Transgen weniger als 0,0005% des Gesamtgenoms (Gebhard & Smalla 1998). Es erscheint folglich zunächst plausibel, dass endogene Pflanzen-DNA eher Subjekt eines HGT sein könnte als ein inseriertes Transgen. Aufgrund der in der Regel **fehlenden Sequenzhomologie** zwischen endogenen Pflanzengenen und Bakteriengenen wird ein solcher Vorgang jedoch als unwahrscheinlich betrachtet. Der Expression von eukaryotischen Genen in Bakterien stehen zudem verschiedene Hindernisse im Wege. So besitzen Bakterien z.B. keine Splicingmechanismen und sind dadurch nicht in der Lage, Intron-enthaltende eukaryotische Gene korrekt zu exprimieren. Darüber hinaus verlangt die Expression eines eukaryotischen Gens in einem Bakterium das Vorhandensein eines prokaryotischen Promotors in der entsprechenden Positionierung zum übertragenen Gen (Bertolla *et al.* 1999).

Dagegen könnte HGT durch das Vorhandensein bakterieller Gene, Promotoren, Terminator- und anderen DNA-Sequenzen in rekombinanten Pflanzengenomen begünstigt werden, da sich hierdurch der **Grad der Sequenz-Homologie zwischen Bakterien und Pflanzen erhöht** (Gebhard & Smalla 1998, Bensasson *et al.* 2004). Des Weiteren wird angenommen, dass die Wahrscheinlichkeit für HGT an solchen Orten am größten ist, an denen Bakterien (zum Teil im kompetenten Stadium) mit **hoher Dichte** und **Diversität** vorkommen und in **Kontakt mit großen Mengen (transgener) DNA** gelangen. Solche Bedingungen scheinen am ehesten **im Darmtrakt von Menschen oder Tieren, bei engen pathogenen, symbiotischen oder endophytischen Interaktionen** zwischen Pflanzen und Mikroorganismen, und **während Degradation- oder Fermentationsprozessen** gegeben zu sein (Paget *et al.* 1998, Gebhard & Smalla 1999, Heritage 2005, Bertolla *et al.* 2000, Van Elsas *et al.* 2002, Van den Eede *et al.* 2004).

In den folgenden Abschnitten 6.5.1 und 6.5.2 werden die Voraussetzungen und biologischen Schritte, die HGT zwischen Pflanzen und Bakterien ermöglichen könnten, für Pflanzen-assoziierte Bakterien und Darmbakterien getrennt dargestellt und diskutiert.

6.5.1 Pflanzen-assoziierte Bakterien

Es wird angenommen, dass der an Pflanzenwurzeln stattfindende Wasser- und Nährstoffaustausch günstige Bedingungen für HGT schafft und der Wurzelraum (Rhizosphäre) von Pflanzen daher einen besonders geeigneten Ort für HGT-Ereignisse bildet („HGT hot spot“) (Van Elsas *et al.* 2002). Darüber hinaus werden die Oberflächen und Gewebe der überirdischen Teile einer Pflanze (Phyllo- bzw. Phytosphäre) als Orte mit erhöhter HGT-Wahrscheinlichkeit angesehen.

Eine erste Voraussetzung für HGT von Pflanzen-DNA zu Pflanzen-assoziierten Bakterien ist das **Vorhandensein extrazellulärer DNA** und der enge Kontakt dieser mit den potentiellen Empfängerorganismen. Der in der Regel rasch erfolgende enzymatische Abbau von DNA im Boden kann durch eine Bindung an die Oberflächen von Mineralien verhindert werden. Wenn diese Bindung reversibel ist, beeinträchtigt sie die Transformationsfähigkeit der DNA nicht notwendigerweise (Lorenz & Wackernagel 1994, Pietramellara 2004).

Paget *et al.* (1998) untersuchten den Degradationsprozess von gentechnisch verändertem Tabak im Freiland und konnten transgene DNA über eine Dauer von mindestens 12 Monaten im Boden nachweisen. Ein horizontaler Transfer des im Tabak vorhandenen Antibiotikamarkers (Gentamicin-Resistenz) zu Mikroorganismen wurde nicht beobachtet. Die Transformierbarkeit der im Boden nachgewiesenen DNA wurde nicht getestet, so dass ungeklärt blieb, ob und im welchem Zeitraum diese DNA-Fragmente die Fähigkeit zur Transformation von Bakterien überhaupt besaßen.

Gebhard und Smalla (1999) untersuchten ebenfalls die Persistenz von transgener DNA im Boden. Im Freiland konnten sie für transgene Zuckerrüben spezifische **DNA über einen Zeitraum von zwei Jahren** nachweisen.

In diesen Pionierstudien auf dem Gebiet „Nachweis transgener DNA im Boden“ wurden die Proben allerdings Bedingungen ausgesetzt, die **keine sichere Unterscheidung der detektierten DNA in ursprünglich extrazellulär oder sekundär freigesetzt** (durch eine Zerstörung der Zellen während der Extraktion) zuließen (De Vries *et al.* 2003, siehe auch Badosa *et al.* 2004). Gebhard und Smalla (1999) konnten allerdings aus Rüben extrahierte, d.h. eindeutig zu Beginn des Versuchs bereits extrazellulär vorliegende DNA noch nach sechs Monaten im Boden nachweisen.

Nach der Etablierung einer weniger aggressiven Extraktions-Methodik konnte gezeigt werden, dass Pflanzen genetisches Material nicht nur während des Verfalls/Verrottung freisetzen, sondern auch während des Wachstums. Dies wurde anhand im Boden nachgewiesener DNA einer transgenen Kartoffel-Sorte demonstriert. In diesen Feld-Versuchen war transgene DNA auch noch in einiger Entfernung zu den Kartoffelpflanzen aufzufinden, möglicherweise wurde diese durch Wurzelwachstum oder Pollentransfer verbreitet (De Vries *et al.* 2003).

Schlussfolgernd kann extrazelluläre DNA im Boden, einschließlich solcher aus transgenen Pflanzen, als potentielle Quelle für HGT von Pflanzen zu Mikroorganismen betrachtet werden (vgl. Bertolla *et al.* 1999). Der Kontakt zwischen „nackter DNA“ und Bakterien kann darüber hinaus auch innerhalb einer Pflanze stattfinden. Um sich in der Pflanze zu verbreiten, setzen Bakterien lytische Enzyme ein, die die pflanzlichen Zellwände und andere Gewebe zerstören. Während dieses Prozesses kann es zu direktem physischem Kontakt zwischen Wirts-DNA und infizierenden Zellen kommen (Bertolla *et al.* 2000).

Neben der bloßen Existenz von extrazellulärer DNA in der Umgebung von kompetenten Bakterien sind allerdings auch deren physikalische und chemische Eigenschaften ausschlaggebende Faktoren, die die Wahrscheinlichkeit einer Transformation bestimmen. Diese Eigenschaften können wiederum vom pH-Wert oder anderen Charakteristika des umgebenden Milieus (Boden oder Pflanzengewebe) abhängen (vgl. Nielsen *et al.* 1998).

Die zweite Voraussetzung für HGT von Pflanzenzellen zu Mikroorganismen betrifft die Fähigkeit von Bakterien, Fremd-DNA aus der Umgebung aufzunehmen. Diese als **Kompetenz** bezeichnete Fähigkeit ist unter Bakterien über ein weites Artenspektrum verbreitet (Lorenz & Wackernagel 1994, vgl. auch Chen & Dubnau 2004). Das kompetente Stadium wird meist vorübergehend während einer bestimmten Wachstumsphase erreicht. Es ist von physiologischen und Umweltfaktoren abhängig und wird genetisch reguliert.

Bertolla *et al.* Bertolla *et al.* 1999 zeigten, dass Bakterien das kompetente Stadium auch *in planta* erreichen können. Hierzu injizierten sie Plasmid-DNA in Tomatenpflanzen, die mit *R. solanacearum* infiziert waren. Bei der anschließenden Untersuchung der Bakterien wurden Transformanten identifiziert, die Plasmid-DNA aufgenommen hatten, im Pflanzengewebe also vorübergehend kompetent waren. In einem weiteren Versuch wurden die Tomatenpflanzen mit zwei unterschiedlichen *R. solanacearum*-Stämmen ko-infiziert. Unter diesen Umständen wurde HGT zwischen den verschiedenen Bakterienstämmen beobachtet, der offensichtlich auf dem Wege der natürlichen Transformation (Aufnahme extrazellulärer DNA) stattgefunden hatte. Ein Transfer von Pflanzen-DNA auf *R. solanacearum* wurde nicht beobachtet (Bertolla *et al.* 1999).

Kay *et al.* (Kay *et al.* 2002) demonstrierten, dass auch *Acinetobacter*-Zellen das kompetente Stadium *in planta* erreichen können. Für *Acinetobacter* sind hohe Transformationsfrequenzen bekannt, was zusätzlich die These unterstützt, dass HGT zwischen Pflanzen und Bakterien unter natürlichen Bedingungen möglich sein könnte.

Gebhard und Smalla (Gebhard & Smalla 1998) gelang der experimentelle Nachweis der **Transformation von kompetenten Bakterien durch ein homologes DNA-Fragment aus dem Genom transgener Pflanzen *in vitro***. Dieses Szenario war zuvor lediglich hypothetisch diskutiert und aufgrund von Sequenzvergleichen als evolutionärer Mechanismus postuliert worden. In ihren Versuchen setzten sie entweder Plasmid-DNA, extrahierte DNA aus transgenen Zuckerrüben oder homogenisiertes Pflanzenmaterial transgener Zuckerrüben ein, um *Acinetobacter*-Bakterien mit einer Deletion im *nptII*-Gen (Kanamycinresistenz) zu transformieren. Unter Laborbedingungen konnten für jede Art von eingesetzter Donor-DNA positive *Acinetobacter*-Klone selektiert werden, deren *nptII*-Gen durch die zugegebene DNA komplementiert worden war.

Aufgrund dieser Ergebnisse konnte geschlossen werden, **dass die Übertragung von Pflanzen-DNA auf Bakterien und eine anschließende Integration ins bakterielle Genom möglich ist**, wenn im Empfängerorganismus homologe Sequenzbereiche vorhanden sind. Ob solche Vorgänge auch **unter natürlichen Bedingungen stattfinden**, blieb zunächst jedoch noch **ungeklärt**.

Spätere Versuche der selben Autoren waren auf die Frage des HGT im Freiland gerichtet (Gebhard & Smalla 1999). Aus Bodenproben eines Feldes mit transgenen Zuckerrüben wurde Bakterien-DNA entweder direkt aus dem Boden extrahiert oder von der kultivierbaren Bakterienfraktion isoliert und auf Transgen-spezifische Sequenzabschnitte hin untersucht. Einige Proben lieferten Signale, die auf eine Übertragung des pflanzenspezifischen Transgens in die Bakterien hinwiesen. Ein eindeutiger Nachweis, dass HGT tatsächlich stattgefunden hatte, gelang jedoch nicht, da die für die positiven Signale verantwortlichen Bakterien nicht isoliert werden konnten. Die Ursache der positiven Ergebnisse blieb daher ungeklärt (Gebhard & Smalla 1999, vgl. auch Badosa *et al.* 2004).

Im Gewächshaus führten Kay *et al.* Versuche mit transgenen Tabakpflanzen durch, die mit *Acinetobacter* infiziert waren. Besaßen die *Acinetobacter*-Bakterien ein Plasmid mit homologen Sequenzen zu Chloroplastengen, fand eine Transformation durch DNA aus der transgenen Tabakpflanze statt. Fehlten die homologen Sequenzabschnitte, war keine Transformation zu beobachten (Kay *et al.* 2002). Erneut war hiermit die Bedeutung der Sequenzhomologie zwischen Donor- und Empfänger-DNA für das Stattfinden von HGT demonstriert worden.

Auch in den Versuchen von Tepfer *et al.* (2003) fand HGT nur statt, wenn in den Empfängerzellen homologe Sequenzen zur transferierten DNA vorhanden waren. Unter diesen Umständen wurden HGT-Ereignisse in Zellkulturen sechs verschiedener transgener Pflanzenarten (*Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Calystegia sepium*, *Daucus carota*, *Medicago trunculata*, *Nicotiana tabacum*) zum Bodenbakterium *Acinetobacter* nachgewiesen. **Bei fehlender Sequenzhomologie waren die Ergebnisse negativ.**

Bei einem systematischen Monitoring von HGT auf kommerziellen GVP-Anbauflächen lieferten einige Proben positive Signale (ca. 1% der gesamten Probenmenge), unabhängig davon, ob sie von *Bt*-Maisfeldern oder konventionellen Anbauflächen stammten (Badosa *et al.* 2004). Jedoch entsprachen weder die Produkte einer Reamplifikation mit internen Primern noch einer Spaltung mit Restriktionsenzymen den Sequenzen, die aufgrund einer Transgen-Übertragung vom *Bt*-Mais zu den untersuchten Bodenbakterien zu erwarten gewesen wären. Ein Vergleich der amplifizierten Gen-Abschnitte mit Nukleotid-Sequenzen der GenBank-Datenbank bestätigte, dass es sich nicht um das gesuchte Transgen handelte. In dieser Untersuchung, für die schätzungsweise $0,4-1,6 \times 10^8$ Genome von mit transgenen Pflanzen assoziierten Bakterien analysiert wurden, konnte kein Transfer eines Transgens von *Bt*-Mais zu assoziierten Bodenbakterien demonstriert werden.

6.5.2 HGT in Darmbakterien

Das Potential für einen erfolgreichen Transfer von Pflanzen-DNA zu den Bakterien im Verdauungstrakt von Menschen oder Tieren wird wesentlich von dem Zeitraum bestimmt, über welchen DNA-Fragmente im Verdauungssystem intakt und transformierbar bleiben. Die

Menge und **Integrität** der in der Nahrung enthaltenen DNA wird wiederum von der Verarbeitung der Lebensmittel beeinflusst (Duggan *et al.* 2000, Van den Eede *et al.* 2004). Der größte Teil der zugeführten intakten DNA wird durch Enzymaktivitäten im Verdauungstrakt abgebaut. Eine vollständige Degradation findet jedoch entgegen früheren Annahmen nicht statt (Schubbert *et al.* 1997).

Duggan *et al.* (2000) untersuchten die Beständigkeit und Transformationsfähigkeit von Mais-DNA während Verdauungs- und Fermentationsprozessen. Während einer Inkubation in Pansen-Sekret war die DNA für mindestens 30 Minuten nachweisbar, bei einer Inkubation in Speichel sogar für 24 Stunden. Während im letzteren Fall plastidäre DNA über den gesamten Zeitraum ihre Fähigkeit behielt, kompetente *E. coli*-Zellen zu transformieren, verlor die Plastid-DNA diese Fähigkeit während der Inkubation in Pansen-Sekret bereits nach 1 Minute. Dieselben Autoren beobachteten jedoch die Transformation von *E. coli*-Zellen durch Plasmid-DNA, wenn diese und das Pansen-Sekret gleichzeitig in den Inkubationsansatz gegeben wurden. Vergleichbar kam es ebenfalls zu einer Transformation, wenn statt der Verdauung ein Fermentationsprozess (Silage) simuliert wurde.

Ziel einer weiteren *in vitro* Studie war es zu bestimmen, in welchem Maß aus gentechnisch manipulierter Nahrung stammende transgene DNA im oberen Verdauungssystem des Menschen degradiert wird, bzw. die Verdauungsprozesse übersteht (Martin-Orue *et al.* 2002). Es zeigten sich Unterschiede zwischen der Degradation von nackter DNA und in Zellen eingeschlossener DNA. Die in Pflanzenzellen enthaltene transgene DNA schien im Gegensatz zur extrazellulären DNA durch den Nahrungsbrei vor rascher Degradation geschützt zu sein. Nach einer dreistündigen Inkubationszeit waren noch etwa 4,5 und 0,5% der transgenen, in Soja- bzw. Mais-Zellen eingeschlossenen DNA nachweisbar. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass bestimmte häufig vorkommende Inhaltsstoffe von Nahrungsmitteln die Degradationsrate von DNA beeinflussen können. Die Ergebnisse waren bezüglich der Richtung des Effekts allerdings widersprüchlich: Während der Abbau von nackter Soja-DNA durch die Gerbsäure Tannin (enthalten u.a. in grünen Bohnen, Linsen, Kaffee und Tee) und durch das Polysaccharid Gummiarabikum (verwendet als Verdickungsmittel und Appetitzügler) gehemmt wurde, schienen diese Substanzen die Degradationsrate der in Sojazellen eingeschlossenen DNA zu erhöhen (Tannin) bzw. nicht zu beeinflussen (Gummiarabikum). Unabhängig von der Interpretation der Daten bezüglich des Einflusses von zusätzlichen Inhaltsstoffen auf den DNA-Degradationsprozess **unterstützen die Ergebnisse** von Martín-Orúe *et al.* (Martin-Orue *et al.* 2002) die Hypothese, **dass ein Teil der in der Nahrung vorhandenen DNA die Passage des oberen Verdauungstrakts übersteht** und somit potentiell durch kompetente Bakterien der Darmflora aufgenommen werden könnte.

In Hühnern, denen transgener Mais gefüttert wurde, konnte das Transgen nicht weiter als bis zum Magen verfolgt werden (Chambers *et al.* 2002). Dagegen konnten Wilcks *et al.* (2004) zeigen, dass die im Mais-Futter enthaltene Chloroplasten-DNA eine Darmpassage bei Ratten nicht nur übersteht, sondern auch **biologisch aktiv** bleibt. *E. coli*-Zellen konnten mit dieser DNA *in vitro* transformiert werden.

In einer weiteren Untersuchung wurden Bakterien (*S. gordonii*) in Speichel und Kot von Versuchsratten untersucht, die über mehrere Tage Plasmid-DNA aufgenommen hatten. Es

fanden sich keine transformierten Zellen (Kharazmi *et al.* 2003). Bei Rindern, deren Futter transgenen Mais enthielt, konnte Chloroplasten-DNA im oberen Teil des Verdauungstrakts nachgewiesen werden. Der Nachweis von Genen mit einer geringeren Kopienzahl pro Zelle (wie z.B. das Transgen) war dagegen nicht möglich (Einspanier *et al.* 2004).

Netherwood *et al.* (2004) führten eine Untersuchung zum Degradationsprozess von Soja-DNA im menschlichen Darmtrakt durch. Ein Teil der Probanden (sieben Individuen) waren Menschen mit einem künstlichen Darmausgang. Das in der Soja-Nahrung enthaltene Transgen wurde bei allen diesen Probanden in den Ausscheidungen nachgewiesen. Im Gegensatz dazu konnte das Transgen bei keinem der zwölf Probanden mit gesundem (d.h. vollständigen) Verdauungstrakt in den Ausscheidungen nachgewiesen werden, schien also im Dickdarm vollständig abgebaut worden zu sein. Die Verdauungsprodukte der Probanden mit künstlichem Darmausgang wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten auf HGT untersucht. In den Proben von drei Probanden konnte HGT des Transgens aus der Soja-Pflanze zu Darmbakterien demonstriert werden, mit einer Häufigkeit von etwa ein bis drei übertragenen Kopien des Transgens pro 10^6 Bakterien. Diese positiven Proben stammten vom Zeitpunkt 0 des Experiments, d.h. bevor die kontrollierte Verabreichung von GM-Soja begonnen hatte. Die Autoren werten ihren Fund als **Nachweis von HGT**, der gleichzeitig den Verzehr von GM-Soja zu einem früheren Zeitpunkt und unabhängig von ihrem Experiment belegt. Die Anzahl an Transformanten unter den Bakterien blieb bei den positiv auf HGT getesteten Probanden über die gesamte Zeit des Experiments konstant, d.h. HGT schien ausschließlich **vor Beginn der Versuche**, aber nicht während der Testzeit stattgefunden zu haben. Die Bakterien enthielten nur ein **Fragment des Transgens**, das vollständige Gen konnte nicht nachgewiesen werden. Auf eine Gefährdung des Menschen durch resistente Bakterienstämme weist ein solcher Transfer also nicht hin.

6.5.3 Transfer von genetischem Material zu eukaryotischen Zellen

Mit der Nahrung aufgenommene DNA kann in Zellen verschiedener Gewebe gelangen. In einem *in vivo*-Experiment mit Mäusen konnte DNA aus der Nahrung z.B. mehrere Stunden (max. 24h) nach der Fütterung im Kot, in Leber-, Milz- und Darmepithelzellen, in Lymphozyten und in der Blutbahn der Tiere nachgewiesen werden (Schubbert *et al.* 1997). In Supermärkten erhältliches Geflügelfleisch enthielt Chloroplasten-DNA in Muskel-, in Leber- und in Nierenzellen (Klotz *et al.* 2002). Entsprechende Resultate lieferte auch die Untersuchung von Kuh-Milch (Einspanier *et al.* 2001). Mitochondriale DNA von Kaninchen wurde im Blut von zwei menschlichen Probanden nachgewiesen, die zuvor gekochtes Kaninchen gegessen hatten (Forsman *et al.* 2003).

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Aufnahme von Fremd-DNA aus der Nahrung in Zellen verschiedener Körpergewebe nicht selten ist und vor allem von der Kopienzahl abhängt. In keinem dieser Fälle betraf die Aufnahme von Fremd-DNA Zellen der Keimbahn.

6.5.4 Methodische Schwierigkeiten

Der Nachweis von HGT ist bisher nur unter kontrollierten Labor- oder Gewächshausbedingungen und bei ausreichender Sequenzhomologie gelungen. In der Natur wird ein solcher Prozess u.a. durch extrazelluläre mikrobielle DNasen erschwert (vgl. Meier

& Wackernagel 2003). Das Potential für HGT von transgenen Pflanzen zu Mikroorganismen wird demnach von einigen Autoren als sehr gering eingeschätzt (z. B. Smalla *et al.* 2000, De Vries *et al.* 2001, Chambers *et al.* 2002).

Andererseits reflektiert die Tatsache, dass ein erfolgreicher HGT bisher nicht in Feldversuchen nachgewiesen wurde, evtl. eher ein methodisches Nachweisproblem als das Nicht-Stattfinden dieses Prozesses (Nielsen *et al.* 1998, Heinemann & Traavik 2004, Nielsen & Townsend 2004). Von der gesamten bakteriellen Diversität ist nur ein geringer Prozentsatz der Bakterienarten auf künstlichen Nährmedien im Labor kultivierbar (Van Elsas *et al.* 2002). Eine Charakterisierung der im Boden lebenden Bakterien ist daher nur begrenzt möglich (Nannipieri *et al.* 2003). Nutzer der zur Verfügung stehenden Methodik sind zusätzlich mit der Schwierigkeit konfrontiert, DNA-Fragmente von degradierendem Pflanzenmaterial von pflanzlicher DNA zu unterscheiden, die von Bakterien aufgenommen wurde. Insgesamt ist die Sensibilität der Nachweisverfahren gering. Eine weitere Komplikation ergibt sich aus der Tatsache, dass Antibiotikaresistenzgene, die als Nachweis transgener DNA dienen sollen, evtl. unerwarteterweise ubiquitär in Bakterien verbreitet sind, wie es kürzlich für ein Ampicillinresistenzgen in Darmbakterien gezeigt wurde, das ursprünglich nur in *Bt*-Transformanten vermutet wurde (Einspanier *et al.* 2004). Ebenso konnte für eine Ampicillinresistenz, die bei Bodenbakterien während eines HGT-Monitorings beobachtet wurde, nicht ausgeschlossen werden, dass es sich bei diesem Merkmal um eine natürlich vorkommende Eigenschaft der Testorganismen handelte (Badosa *et al.* 2004).

Die meisten Untersuchungen, die in der Vergangenheit durchgeführt wurden, verwendeten Antibiotika-Screenings, um potentielle Transformanten zu selektieren. Der Nachweis eines HGT-Ereignisses gelingt mit dieser Methodik jedoch nur, wenn vollständige Funktionseinheiten mit der aufgenommenen DNA übertragen wurden (einschließlich Promotor und selektierbaren Gen), und dieses Gen auch im Rezipienten-Bakterium in ausreichender Menge exprimiert wird (vgl. Nielsen *et al.* 1998).

6.5.5 Schlussfolgerungen und Zwischenfazit HGT

Die oben genannten methodischen Schwächen der HGT-Nachweisverfahren lassen bisher lediglich den Schluss zu, dass „auf Agrarflächen HGT von transgenen Pflanzen nicht mit einer außerordentlich hohen Frequenz stattfindet“ (Nielsen & Townsend 2004).

Allerdings würde ein einmaliges HGT-Ereignis, bei dem ein unerwünschtes, aber für das Rezipienten-Bakterium vorteilhaftes Merkmal übertragen wird, prinzipiell ausreichen, um weit reichende Konsequenzen zu haben. Denn ist ein solches Merkmal in ein bakterielles Genom integriert worden, kann es anschließend über die effizienteren Übertragungsmechanismen der Konjugation und Transduktion weiter verbreitet werden (Kharazmi *et al.* 2003, Bensasson *et al.* 2004). Die Vermehrung und Etablierung einer solchen Nukleotidsequenz im Genpool einer Bakterienpopulation hängt jedoch letztlich von dem evolutionären Potential des Transferereignisses ab (Smalla *et al.* 2000, Kowalchuk *et al.* 2003, Meier & Wackernagel 2003). Da die selektiven Vorteile einer Antibiotikaresistenz für Bodenbakterien nicht befriedigend aufgeklärt sind, ist eine Abschätzung eines Fitness-Vorteils durch den Erwerb neuer Resistenzen derzeit kaum möglich (Nielsen *et al.* 1998) und das mit HGT verbundene Risiko bleibt derzeit ungewiss (Bensasson *et al.* 2004).

Um die Wahrscheinlichkeit eines HGT so klein wie möglich zu halten, sollte die Menge an bakteriellem Vektormaterial minimiert werden, da dieses bei einer Transformation evtl. gemeinsam mit der Ziel-DNA in das Genom des Zielorganismus integriert wird (Kowalchuk *et al.* 2003). Bensasson *et al.* (2004) legen in ihrem aktuellen Übersichtsartikel zum HGT-Risiko eine Zusammenstellung von Homologien zwischen synthetischen, in der Biotechnologie verbreiteten Vektoren und Bakteriengenomen vor. Sie weisen darauf hin, dass fast alle ihrer genannten Beispiele die Voraussetzungen für eine hohe HGT-Wahrscheinlichkeit erfüllen: weniger als 1% Sequenz-Unterschiede zwischen Vektor-DNA und endogener DNA eines potentiellen Zielorganismus und eine ausreichende Länge (>1kb) der homologen Abschnitte. Auch Transformationen des Chloroplastengenoms bergen ein erhöhtes Potential für HGT-Ereignisse (siehe auch 5.2).

Zusätzlich zur Analyse des Potentials einer horizontalen DNA-Übertragung von Pflanzen zu Bakterien sollte in eine umfassende Bewertung der biologischen Sicherheit von GVP die Folgen eines HGT zwischen Viren einbezogen werden (siehe 6.6).

- Zusammenfassend ist aus der berücksichtigten Literatur folgendes schließen (vgl. Bruinsma *et al.* 2002): HGT zwischen Pflanzen und Bakterien ist nicht auszuschließen. Die bisherige Datengrundlage unterstützt die Annahme, dass Boden- oder Darmbakterien genetisches Material aus transgenen Pflanzen mit einer extrem geringen Frequenz durch HGT aufnehmen.
- Für das langfristige Resultat derartiger HGT-Ereignisse ist die Expression der erworbenen Sequenzen, ihre Eigenschaften und der vorherrschende Selektionsdruck von wesentlich größerer Bedeutung als die Frequenz, mit der HGT-Ereignisse grundsätzlich stattfinden.
- Bereits im bakteriellen Genpool vorhandene Sequenzen hätten wahrscheinlich einen geringeren Effekt auf die Evolution von (z.B. resistenten) Bakterien als neuartige Sequenzen, die möglicherweise unter dem aktuell herrschenden Selektionsdruck einen Fitness-Vorteil verleihen könnten.
- Die Verwendung von Antibiotika-Resistenzmarkern und die Transformation des Chloroplastengenoms ist umstritten.

6.6 Spezielle Risiken virusresistenter (VR-) Pflanzen

Die Expression von viralen Genen in transgenen Pflanzen ist eine gängige Methode um letzteren eine Virusresistenz zu verleihen (Aaziz & Tepfer 1999). Darüber hinaus werden in den meisten Fällen virale Regulatoren (Promotoren) für die Kontrolle von Fremd-Genen in GVP eingesetzt. Die Risikoabschätzung bezüglich transgener VR-Pflanzen beinhaltet zu klären, ob durch den Anbau dieser Pflanzen, die virale Gene oder Genfragmente besitzen, die **Entstehung neuartiger Viren** begünstigt wird. Besonders besorgniserregend erscheint die Möglichkeit, dass Viren entstehen könnten, die

- verstärkte Krankheitssymptome hervorrufen,

- deren Gewebespezifität verändert ist,
- ein verändertes, möglicherweise vergrößertes Wirtsspektrum oder
- andere Übertragungsvektoren besitzen.

In der Literatur werden v.a. drei Mechanismen diskutiert, die möglicherweise zur Evolution neuartiger Viren beitragen könnten, dies sind **Komplementierung**, **heterologe Einkapselung** und **Rekombination**. **Synergie** wird eine Verstärkung der Symptome und/oder des Virustiters bezeichnet, welche nach der Infektion einer Pflanze mit mehr als einem Virus auftreten kann. Hierbei kann eine Komplementierung eine Rolle spielen, in vielen Fällen scheinen aber andere Mechanismen zugrunde zu liegen. Das Phänomen der **Synergie** ist bislang noch wenig aufgeklärt (Tepfer 2002). Zusätzlich wird von einigen Autoren der **Gebrauch viraler Promotoren** (in der Hauptsache **CaMV 35S**) kritisch diskutiert.

Als Komplementierung wird das Phänomen bezeichnet, dass Viren, denen ein für die Pathogenität essentielles Gen fehlt (bzw. bei denen ein solches inaktiviert ist), ihre Virulenz zurückerlangen können, wenn das fehlende Gen im Wirtsgenom vorhanden ist. Es konnte z.B. gezeigt werden, dass ein bestimmter Stamm des Tabak-Mosaik-Virus mit inaktiviertem Hüllprotein-Gen bei einer Tabakpflanze Krankheitssymptome hervorruft, wenn diese das entsprechende Hüllprotein exprimiert. Eine derartige Komplementierung ist ein häufig beobachtetes Phänomen (Tepfer 2002).

Des Weiteren konnte vielfach nachgewiesen werden, dass in Pflanzen, die mit zwei verschiedenen Virus-Stämmen infiziert sind, Erbmaterial des einen Virus gelegentlich von Proteinen des anderen Virus teilweise oder vollständig ummantelt wird. Dieser Vorgang wird als heterologe Einkapselung bezeichnet und ist zwischen Stämmen zu beobachten, die einen ausreichenden Verwandtschaftsgrad besitzen.

Durch heterologe Einkapselung kann sich die Vektorspezifität des Virus ändern, der von Hüllproteinen eines fremden Virus eingeschlossen wird. So infizierten Lecoq *et al.* (1993) eine transgene Pflanze, die das virale Hüllprotein des Plum PoxVirus (PPV) exprimiert, mit einem Virus-Stamm, der ursprünglich nicht durch Blattläuse übertragbar war (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV-NAT). Dies änderte sich aufgrund der Umhüllung des Erbmaterials des ZYMV-NAT-Virusstamms mit PPV-Hüllproteinen: Als Übertragungsvektor für ZYMV-NAT konnten als Folge der heterologen Einkapselung auch Blattläuse dienen.

Sequenzvergleiche haben zudem gezeigt, dass die Rekombination des genetischen Materials verschiedener Virus-Stämme eine bedeutende Rolle bei der Evolution der Virus-Diversität gespielt hat. Auch sind Fragmente aus plastidärer RNA des Pflanzenwirts in Virengenenomen identifiziert worden. Spekuliert wird daher, dass Viren, die eine transgene VR-Pflanze infizieren, mit den in letzterer enthaltenen viralen Sequenzen rekombinieren und dadurch neuartige Viren entstehen könnten. Schoelz & Wintermantel (1993) lieferten den experimentellen Nachweis, dass ein CaMV-Virus Gene von transgenen Pflanzen in sein Genom integrieren und sich dadurch sein Wirtsspektrum verändern kann. Beim integrierten Gen handelte es sich um ein CaMV-Gen aus dem Genom einer transgenen Tabakpflanze.

Auch eine Rekombination des infizierenden Virus mit dem genetischen Material der pflanzlichen Wirtszelle scheint möglich. Letzteres Szenario gilt allerdings ebenso für nicht-transgene Pflanzen.

Der CaMV 35S-Promotor ist eines der am häufigsten in transgene Pflanzen übertragenen Regulationselemente. Es gibt Hinweise darauf, dass der CaMV-Promotor einen „Rekombinations-Hotspot“ enthält, d.h., dass Rekombination an bestimmten Regionen dieser Sequenz mit besonderer Häufigkeit stattfinden (Kohli *et al.* 1999). Aufgrund dieser Eigenschaft könnte der CaMV-Promotor mobiler sein als andere Regionen im Pflanzengenom. Ho *et al.* (1999) warnen daher vor dem Gebrauch dieses Promotors, da seine Anwesenheit zu größerer Instabilität des transgenen Genoms führen könnte. Neben einer erhöhten Mutationswahrscheinlichkeit erachten die Autoren auch die Reaktivierung inaktiver Viren oder die Entstehung neuartiger Viren ebenfalls durch genetische Umlagerungsprozesse für möglich.

6.7 Spezielle Risiken beim ‚Gene-Pharming‘

Gesundheitsaspekte bezüglich des Endprodukts

Gemessen an den Unterschieden zwischen der Proteinsynthese in Säugerzellen und einem mikrobiellen Produktionssystem, sind die Unterschiede zwischen Säuger- und Pflanzenzellen eher gering (Smith & Glick 2000). Dies sollte jedoch nicht über die Risiken einer Produktion von Pharmazeutika in Pflanzen hinwegtäuschen. Sicherheitsbedenken bezüglich des Endprodukts werden gegenwärtig vor allem durch **Schwankungen in der Menge und dem Reinheitsgrad** des produzierten Proteins und durch **pflanzenspezifische Eigenschaften der Biosynthese** hervorgerufen.

Tabak als häufigste Modellpflanze hat für die Produktion von Pharmazeutika sowohl Vor- als auch Nachteile. Durch seine langjährige Verwendung in der molekularbiologischen Forschung stehen nicht nur viel Erfahrung und Expertise, sondern auch verlässliche Transformationsmethoden und gut charakterisierte Regulationselemente zur Verfügung. Die Tatsache, dass es sich bei Tabak weder um eine Futter- noch um eine Nahrungspflanze handelt, minimiert das Kontaminationsrisiko von Lebensmitteln (Gleba *et al.* 2005). Ein zusätzlicher Vorteil ergibt sich aus dem schnellen Wachstum von Tabakpflanzen, was potentiell in einer hohen Ausbeute an Fremd-Protein resultiert.

Andererseits verursacht der hohe Gehalt an **toxischen Alkaloiden** in Tabak gesundheitliche Bedenken und es muss sichergestellt werden, dass die Endprodukte frei von diesen Inhaltsstoffen sind (Thanavala *et al.* 1995). Die Aufreinigung während des Endverarbeitungs-Prozesses („downstream-processing“) stellt einen hohen Kostenfaktor dar (vgl. Fischer *et al.* 2004). Alternative Wirtspflanzen sind daher erprobt worden. Im Hinblick auf eine kommerzielle Produktion von Biopharmazeutika wurden Fremdproteine bereits u.a. in Mais, Reis, Weizen, Luzerne, Soja, Raps, Salat, Kartoffel, Tomate und Banane exprimiert (Giddings *et al.* 2000, Fischer *et al.* 2004, Teli & Timko 2004). Besonders Tomaten und Bananen erscheinen aufgrund der Verträglichkeit ihrer rohen Früchte und des massenhaften Anbaus in Entwicklungsländern, Tomaten zusätzlich aufgrund ihres schnellen Wachstums, viel versprechend (Johnson 1996, Kong *et al.* 2001, Teli & Timko 2004). Auch die Luzerne

wird aufgrund des schnellen Biomasse-Zuwachses als Produktionssystem in Betracht gezogen (Fischer *et al.* 2004).

Schwankungen in der synthetisierten Proteinmenge können z.B. durch variable Umweltbedingungen oder durch Prozesse während der individuellen Entwicklung einer Pflanze hervorgerufen werden. Die Alternative, rekombinante Proteine nicht in vollständigen Pflanzen sondern in Zellkulturen zu produzieren, bietet die Möglichkeit, Umweltbedingungen zu kontrollieren und konstant zu halten. Der Beginn des **Alterungsprozesses** ist in Zellkulturen ebenfalls besser zu kontrollieren. Dieser ist unerwünscht, da während der Seneszenz Proteine aktiv abgebaut werden (Teli & Timko 2004).

Ebenso wie in anderen möglichen Expressionssystemen (Bakterien, Hefen, Insekten) ergeben sich auch bei der Expression von Fremd-Proteinen in Pflanzen häufig Schwierigkeiten aufgrund von post-translationalen Modifikationen, die sich von jenen in Säugern unterscheiden können. Das häufigste Hindernis stellt die **Glykosylierung** des Proteins dar, die in Pflanzen unter Einbau von möglicherweise für den Menschen toxischen oder **immunologische Reaktionen** auslösenden Bausteinen geschieht (Boothe *et al.* 1997, Bakker *et al.* 2001, Teli & Timko 2004). Angestrebt wird daher eine Änderung („humanization“) des Glykosylierungs-Musters in Antikörper-produzierenden Pflanzen (Teli & Timko 2004), z.B. durch die Übertragung von weiteren Transgenen. Bakker *et al.* (Bakker *et al.* 2001) gelang auf diese Art die Synthese von rekombinanten „Plantibodies“, die eine erhöhte Ähnlichkeit zu menschlichen Antikörpern aufwiesen: Sie kreuzten Tabakpflanzen, in deren Genom ein für das Enzym β 1,4-Galaktosyltransferase kodierendes Gen des Menschen inseriert worden war, mit Pflanzen, die Antikörper-Untereinheiten der Maus exprimierten. Die resultierenden Pflanzen produzierten Antikörper, deren N-Glykane teilweise galaktosyliert und in Säugern synthetisierten Proteinen dadurch ähnlicher waren.

Werden rekombinante Pharmazeutika in Pflanzen erzeugt, kann ihre Qualität auch durch **sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe** beeinträchtigt werden. So kann beispielsweise eine Interaktion zwischen Phenolen und dem gewünschten Produkt dessen Eigenschaften dramatisch verändern. Von Endo- und Mycotoxinen ausgehende Gesundheitsrisiken können dagegen durch eine rasche Verarbeitung und Filtration minimiert werden (Larrick *et al.* 2001).

Hingegen erscheint die Produktion von Pharmazeutika in Nahrungspflanzen äußerst problematisch, da eine unbeabsichtigte Vermischung der Früchte mit solchen, die für den Verzehr bestimmt sind, nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden kann. Dies gilt insbesondere in Ländern, in denen gesetzliche Vorschriften und entsprechende Kontrollmaßnahmen nur eingeschränkt wirksam sind. Daher erscheint das Vorhaben, mit der Produktion von Impfstoffen und anderen Pharmazeutika in Nahrungspflanzen, speziell Bedürfnissen von Entwicklungsländern nachzukommen, fragwürdig (s.u.).

Umweltrisiken

Pharmazeutika sind meist schon in geringen Mengen biologisch wirksam und in höheren Dosen in der Regel gesundheitsschädlich (Giddings *et al.* 2000). Typischerweise haben sie Eigenschaften, die zu einer langwierigen Persistenz in der Umwelt, und gegebenenfalls zu einer Akkumulation in Organismen führen (Halling-Sørensen *et al.* 1998). In einer Risiko-Studie, die etwa 670 Substanzen (Antibiotika, Chemotherapeutika und

Hormone) berücksichtigte, wurde ein Drittel der untersuchten Stoffe als **potentiell sehr toxisch für aquatische Organismen** eingeschätzt (Sanderson *et al.* 2004). Die potentielle Gefahr einer Verunreinigung des Trinkwassers durch Pharmazeutika hat daher auch in den vergangenen Jahren zunehmend Beachtung erfahren (Jones *et al.* 2005).

Ein **Anbau von Pharmazeutika-produzierenden Pflanzen** im Freiland könnte ernsthafte Gesundheitsrisiken für Mensch und Natur mit sich bringen. Z.B. könnten rekombinante Proteine über Wurzelsekrete oder verrottendes Pflanzenmaterial in den Boden oder ins Grundwasser gelangen und somit auch in die Nahrungskette vieler Organismen gelangen (vgl. Saxena *et al.* 2004).

Eine Reduzierung der Umweltrisiken wäre möglicherweise durch den Anbau von Pflanzen mit induzierbaren Promotoren zu erreichen (Doran 2000). Das Transgen (ggf. mehrere) unterläge bei dieser Methode der Kontrolle eines Regulationselements, das wiederum nur unter bestimmten Bedingungen oder nach einer bestimmten Behandlung die Expression des Pharmazeutikums zulässt (5.4). Dadurch ließe sich die Produktion der Biomasse von der Synthese der Fremdproteine zeitlich und räumlich trennen (Doran 2000).

Der Anbau in vollständig geschlossenen Systemen („containment“) böte eine alternative Möglichkeit, die Risiken einer Produktion von Pharmazeutika in rekombinanten Pflanzen einzudämmen. Bisher ging man davon aus, dass der Bedarf an rekombinanten Proteinen die relativ geringen Mengen, die in geschlossenen Gewächshäusern produziert werden können, vielfach übersteigen würde (Boothe *et al.* 1997). Mit neu entwickelten Transformationsmethoden kann die Expression von Fremd-Proteinen in Pflanzen jedoch gesteigert und die bisher geltenden quantitativen Beschränkungen überwunden werden (Gleba *et al.* 2005).

Klinische Studien

Thanavala *et al.* (1995) berichteten als erste von dem erfolgreichen Versuch, in vivo eine Immunantwort auf rekombinante, in Pflanzen hergestellte Proteine auszulösen. Zu diesem Zweck wurden Mäusen Hepatitis B Antigene (HBsAg) injiziert, die aus den Blättern transgenen Tabaks isolierten worden waren. Als Vergleichsgruppe dienten Mäuse, die mit rekombinanten HBsAg aus transgener Hefe geimpft wurden. Wöchentliche Messungen der Mengen entsprechender Hepatitis-spezifischer Antikörper im Blut der Mäuse zeigte, dass die immunologische Antwort bei beiden Versuchsgruppen ähnlich verlief.

Auch in der Lupine (*Lupinus luteus*) synthetisierte HbsAg-Proteine riefen bei Mäusen eine vergleichbare Reaktion hervor (Kapusta *et al.* 1999). Um entsprechende Experimente am Menschen durchführen zu können, stellten Kapusta *et al.* (Kapusta *et al.* 1999) HBsAg in den Blättern transgenen Salats (*Lactuca sativa*) her. Zwei von drei Probanden zeigten nach wiederholtem Verzehr des Salats einen erhöhten Hepatitis-Antikörper Titer.

Der Erfolg von oralen Impfungen aus transgenen Pflanzen konnte etwas später auch an Mäusen demonstriert werden (Kong *et al.* 2001). Verglichen wurde die Immunantwort nach dem Verzehr von rohen, HbsAg-synthetisierenden Kartoffeln mit der Reaktion auf den herkömmlichen Impfstoff. Letzterer wurde in transgener Hefe hergestellt und ebenfalls oral verabreicht. Waren die Kartoffeln mit einem die Wirkung verstärkenden Hilfsmittel (Adjuvans) präpariert (Cholera-Toxin), löste der Verzehr eine starke primäre und sekundäre

Immunantwort bei den Versuchstieren aus. Wurde auf das Adjuvans verzichtet, war die Wirkung von HbsAg drastisch reduziert. Das Kochen der Kartoffeln führte zum Ausbleiben der primären und zu einer starken Verminderung der sekundären Immunantwort (Kong *et al.* 2001).

Kürzlich berichteten Thanavala *et al.* von klinischen Tests an Menschen, denen HbsAg-synthetisierende Kartoffeln oral verabreicht wurden. Nach der Einnahme erhöhte sich der Hepatitis-Antikörper-Titer bei 19 von 33 Probanden (Thanavala *et al.* 2005).

6.7.1 Zwischenfazit ‚Gene Pharming‘

Die potentiellen Gefahren einer Produktion von (therapeutischen) Proteinen in Pflanzen scheinen durch wesentliche Vorteile, die pflanzliche gegenüber herkömmlichen Produktionssystemen bieten, aufgewogen werden zu können. Die meisten der derzeit von der amerikanischen Gesundheitsbehörde US FDA zugelassenen rekombinanten Antikörper werden beispielsweise in kultivierten Ovarien-Zellen des Chinesischen Hamsters produziert (Gomord *et al.* 2004). Derartige Säuger-Zelllinien bergen aufgrund potentieller Verunreinigungen mit Viren, Onkogenen, bakteriellen Toxinen oder Prionen Gefahren für den Patienten, der mit derartigen rekombinanten Proteinen behandelt wird (Boothe *et al.* 1997, Doran 2000). Des Weiteren handelt es sich um ein kostspieliges Verfahren mit begrenzten Kapazitäten (Gomord *et al.* 2004).

Neben transgenen Pflanzen bieten nur transgene Säugetiere die Möglichkeit, ähnlich hohe Ausbeuten an rekombinanten Proteinen zu erzielen (Gomord *et al.* 2004). Die Produktion von therapeutischen Eiweißen z.B. in der Milch von Säugern ist jedoch mit längeren Produktionszeiten und potentiellen Gesundheitsrisiken verbunden (Ma *et al.* 2003). Pflanzen eignen sich hingegen in der Regel nicht als Wirte für menschliche Krankheitserreger, wodurch die Gefahr einer Kontamination sehr viel geringer als bei einer Produktion in tierischen oder menschlichen Zellen.

Auch sollte bedacht werden, dass die Expression von bestimmten menschlichen Genen in Tieren ethische Bedenken hervorrufen kann (z.B. die Expression von homologen Wachstumsfaktoren, siehe Boothe *et al.* 1997, s. auch Gomord *et al.* 2004).

Weitere wesentliche Vorteile des ‚Gene Pharmings‘ ergeben sich aus der Möglichkeit, Impfstoffe mittels transgener Pflanzen oral zu verabreichen. Durch eine Produktion in essbaren Pflanzenteilen könnte die Notwendigkeit einer geschlossenen Kühlkette und die Infektionsgefahr durch Nadeln vermieden werden. Die orale oder intranasale Applikation von Impfstoffen stellt womöglich den einzigen ökonomisch realisierbaren Weg einer Massen-Immunisierung in Entwicklungsländern dar (Ma *et al.* 2003). Die auf diese Weise mit größerer Wahrscheinlichkeit erzielte Auslösung einer spezifischen immunologischen Reaktion der Schleimhäute führt darüber hinaus zu einem verbesserten Schutz vor Krankheitserregern, die in die Atemwege, den Verdauungs- oder Urogenitaltrakt eindringen (Kong *et al.* 2001, Teli & Timko 2004).

Allerdings scheint die **Gefahr einer Verunreinigung von Böden und Gewässern** mit Pharmazeutika bei einem Anbau durch Pharmazeutika-produzierende Pflanzen erhöht. Die möglichen Konsequenzen einer solchen Kontamination müssen als sehr gravierend

eingeschätzt werden, da im Trinkwasser enthaltene Substanzen durch direkten Wasserkonsum unmittelbar in den Körper gelangen, aber auch auf indirektem Wege, wenn unter Verbrauch von verunreinigtem Trinkwasser produzierte Nahrungsmittel konsumiert werden. Eine Aufnahme von geringen Dosen über einen sehr langen Zeitraum wäre ein wahrscheinliches Szenario. Untersuchungen, die zur Abschätzung der gesundheitlichen Folgen einer solchen Exposition durchgeführt werden, müssen sich daher nicht nur auf Langzeit-Effekte, sondern auch auf mögliche Risiken durch Interaktionen verschiedener Substanzen richten, da Wirkungen vieler Medikamente durch Wechselwirkungen mit anderen Substanzen entweder abgeschwächt, verstärkt oder modifiziert werden können (siehe Jones *et al.* 2005). Einige der Risiken, die mit Pharmazeutika-produzierenden Pflanzen verbunden sind, können durch die Produktion in pflanzlichen Zelllinien reduziert werden.

6.8 Gesundheitsrisiken

Gentechnisch veränderte Lebensmittel stoßen in weiten Teilen der Bevölkerung auf Ablehnung, da befürchtet wird, dass von ihrem Verzehr eine Gesundheitsgefährdung ausgehen könnte. Bedenken werden insbesondere durch ein eventuelles **allergenes** oder **kanzerogenes Potential** der transgenen Produkte und durch die in der Regel enthaltenen **Antibiotikaresistenzgene** hervorgerufen. Außerdem wird vermutet, dass biotechnologische Lebensmittel einen **schlechteren Nährstoffgehalt** aufweisen oder **neuartige Toxine** enthalten könnten.

Die Sicherheit gentechnisch veränderter Lebensmittel wird vor ihrer Marktzulassung geprüft. In Europa erfolgt die wissenschaftliche Bewertung eines transgenen Lebensmittels durch die EFSA auf der Basis der Antragsunterlagen und Dossiers der Hersteller (siehe Kapitel 4).

6.8.1 Sicherheitsbewertung transgener Lebens- und Futtermittel

Eine Abschätzung der potentiellen Risiken von GV-Lebensmitteln verläuft in zwei Schritten. Als erstes werden Unterschiede zwischen dem betreffenden GVO bzw. GVO-haltigen Produkt und seiner herkömmlichen Entsprechung identifiziert. Dies kann durch vergleichende Analysen der chemischen Zusammensetzung oder durch eine Untersuchung von molekularen oder morphologischen Charakteristika geschehen. Von Bedeutung ist hierbei die Wahl eines geeigneten Vergleichsorganismus. In der Regel handelt es sich um eine isogene Pflanze, welche denselben Aufwuchsbedingungen wie die zu untersuchende GVP ausgesetzt war. In einem zweiten Schritt werden die möglichen Umwelt- oder Gesundheitsrisiken, die sich aus diesen Unterschieden ergeben könnten, analysiert und bewertet. Dieser Schritt schließt die Untersuchung unbeabsichtigter Effekte mit ein (siehe 6.9).

In der EU gelten **Familiarität** und **substantielle** Äquivalenz weiterhin als Kriterien der Bewertung genmanipulierter Feldfrüchte (EU-Verordnung 1829/2003, vgl. 4.4.2). Es besteht jedoch nicht mehr die Möglichkeit, eine Marktzulassung für ein GV-Produkt ausschließlich auf der Grundlage seiner substantiellen Äquivalenz mit einem herkömmlichen Lebensmittel zu erhalten.

„Familiarität“

„Familiarität“ ist ein Maß für den Bekanntheitsgrad eines transgenen Organismus (oder GVO-haltigen Produkts). Als Kriterium gilt die Ähnlichkeit des betreffenden GVO mit einem ausgiebig studierten Ausgangsorganismus. Des Weiteren werden Erkenntnisse und Erfahrungen, die im Zuge einer UVP gewonnen wurden, für die Bemessung der Familiarität herangezogen. Wurde das betreffende genetische Konstrukt oder ein vergleichbares Transgen mit ähnlichen Eigenschaften bereits häufig in anderen Organismen angewendet, kann eine hohe Familiarität auch auf diesbezüglichen Erfahrungen basieren (EFSA GMO Panel 2004c). Im Zusammenhang mit der Sicherheitsbewertung von GVO wird angenommen, dass Familiarität ein Kriterium für die Vorhersagbarkeit der Eigenschaften des betreffenden Organismus ist.

„Substantielle Äquivalenz“

Der Begriff substantielle Äquivalenz ("wesentliche Gleichwertigkeit") wurde im Zusammenhang mit Lebensmittelsicherheit zuerst in einem Bericht der OECD Group of National Experts on Safety of Biotechnology erwähnt (OECD 1993). Er beschreibt ein Kriterium zur Bewertung der Sicherheit von gentechnisch veränderten Lebens- und Futtermitteln, das auf einem Vergleich des entsprechenden GVO mit dem nicht modifizierten Ausgangsorganismus beruht. Für herkömmliche Feldfrüchte wird angenommen, dass ihre gesundheitliche Unbedenklichkeit durch die lange Nutzungsgeschichte belegt ist. Dies gilt, obwohl auch von herkömmlichen Lebensmitteln bekannt ist, dass sie toxische Substanzen enthalten und Allergien auslösen können.

Die Anwendung des Prinzips der substantiellen Äquivalenz beinhaltet keine Sicherheitsbewertung per se. Stattdessen ermöglicht das Konzept, potentielle Unterschiede zwischen dem bereits bestehenden Lebensmittel und einem neuen Produkt zu erkennen, welche dann weiter untersucht werden sollten. Ist die Zusammensetzung einer transgenen Pflanze im Vergleich zur Elternpflanze wesentlich verändert oder deuten molekulare, chemische oder phenotypische Analysen auf unbeabsichtigte Effekte hin, müssen nicht nur die neuen Inhaltsstoffe getestet, sondern umfassende Sicherheitsstudien mit dem betreffenden Organismus durchgeführt werden. In diesem Fall sind Toxizitätstests an Nagern von mindestens 90 Tage Dauer vorgesehen (EFSA GMO Panel 2004c).

Das erste gentechnisch veränderte Nahrungsmittel, das nach dem Konzept der wesentlichen Gleichwertigkeit evaluiert wurde, war die Flavr SavrTM Tomate. Sie wurde aufgrund von Daten, die in Feldversuchen und während Analysen zur molekularen und chemischen Zusammensetzung erhoben wurden, als substantiell äquivalent zu der nicht veränderten Elternpflanze eingestuft, bevor sie 1994 für den US-amerikanischen Markt zugelassen wurde (Schauzu 2000). Sie unterschied sich bezüglich der herkömmlichen Tomaten einzig durch das von dem Transgen hervorgerufene Merkmal der verzögerten Reifung. Dieses wurde in toxikologischen Studien eingehender untersucht, um gesundheitliche Risiken beim Verzehr der Flavr SavrTM Tomate auszuschließen.

Konzentriert sich eine Sicherheitsbewertung eines Lebensmittels auf seine spezifischen neuartigen Eigenschaften, wie dies bei einer Prüfung der substantiellen Äquivalenz der Fall ist, spricht man von einer **zielgerichteten Analyse (targeted approach)**. Von diesem methodischen Ansatz wird eine **nicht-zielgerichtete Analyse (non-targeted approach)**

unterschieden, die nicht auf bestimmte Eigenschaften oder Inhaltsstoffe beschränkt ist und nicht von konkreten Hypothesen geleitet wird. Ein derartiges Vorgehen soll ermöglichen, ein weites Spektrum der Eigenschaften des Untersuchungsobjekts zu erfassen und ggf. **unbeabsichtigte Effekte** aufzudecken (siehe Kapitel 6.9). Mögliche nicht-zielgerichtete Untersuchungsmethoden sind die gleichzeitige Analyse einer großen Anzahl von primären und sekundären Stoffwechselprodukten („Metabolomics“), Polypeptiden („Proteomics“) oder „Transkripten“ („Transcriptomics“) (WHO 2000, Chassy *et al.* 2004).

Das Prinzip der **substantiellen Äquivalenz** ist im Kontext der GVO-Sicherheitsforschung **nicht ohne Widerspruch** geblieben (Millstone *et al.* 1999, SBC 2001; The Royal Society of Canada 2001; Lack *et al.* 2002; Schenkelaars 2002). In erster Linie wird die mangelnde Standardisierung des Verfahrens kritisiert. Diese verhindere z.B. eine einheitliche Untersuchung von kritischen Parametern (Kuiper *et al.* 2001; SBC 2001). Millstone *et al.* (1999) kritisieren, dass nicht klar definiert ist, unter welchen Bedingungen ein gentechnisch verändertes Produkt seinem „natürlichen“ Gegenstück gleichwertig ist.

Die Schenkelaars Biotechnology Consultancy (Schenkelaars 2002) untersuchte im Auftrag einer niederländischen und einer europäischen Verbraucherorganisation (Consumentenbond und European Consumers Organisation) die Anwendung des Konzepts der substantiellen Äquivalenz in der EU. Dabei wurde festgestellt, dass eine fehlende Einheitlichkeit der übermittelten Daten in Bezug auf Makro- und Mikronährstoffe, Vitamine, pflanzeigene Toxine und andere relevante Inhaltsstoffe besteht.

Oftmals werden bei der Untersuchung des toxischen oder allergenen Potentials von transgenen Proteinen diese nicht dem zu untersuchenden GVO entnommen. Statt dessen werden von Bakterien generierte Substanzen eingesetzt, da von diesen meist größere Mengen zur Verfügung stehen. Es besteht jedoch die Gefahr, dass auf diese Weise bestimmte Wirkungen der zu untersuchenden Proteine unerkannt bleiben, da Proteine in Pflanzen und Bakterien unterschiedlich synthetisiert werden (Schubert 2002).

6.8.2 Allergenität

Gegenwärtig gibt es keine Heilung für Lebensmittelallergien. Somit ist es für Allergiker essentiell, Nahrungsmittel mit entsprechenden Substanzen vermeiden zu können (Metcalf 2003). Angesichts der weltweit steigenden Produktion von gentechnisch veränderten Lebensmitteln, könnte ein allergenes Potential rekombinanter Proteine eine große Anzahl von Konsumenten gefährden.

Allergien werden meist durch nicht-infektiöse Substanzen (Allergene) ausgelöst, die von außen mit dem Körper in Kontakt treten. Die häufigsten Allergien werden als Reaktionen auf allergene Proteine durch ein allergenspezifisches IgE (Immunglobulin E) ausgelöst. Beim denkbar negativsten Verlauf können sie zu einem anaphylaktischen Schock führen (Metcalf 2003). Die größte Wahrscheinlichkeit, dass durch ein Nahrungsmittel eine allergene Reaktion ausgelöst wird, besteht bei seiner oralen Aufnahme. Aber auch bei Landwirten und Angestellten in der Lebensmittelverarbeitung (z.B. Bäcker), können während des Umganges mit einem entsprechenden Produkt z.B. durch Hautkontakt Allergien ausgelöst werden (vgl. Lack *et al.* 2002). Dies gilt sowohl für konventionelle als auch für gentechnisch veränderte Lebens- und Futtermittel.

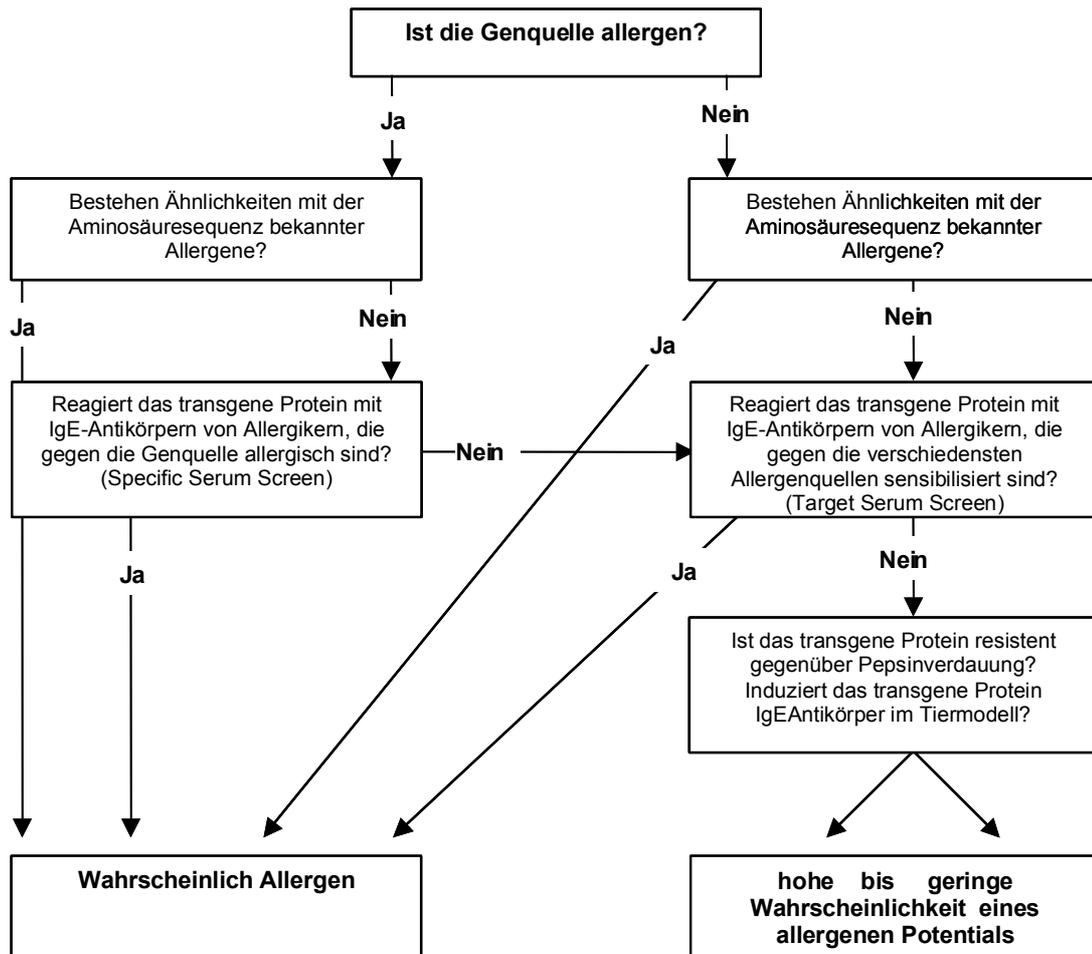


Abb. 12: Entscheidungsbaum der FAO/WHO (2001). Verändert nach Reese *et al.* (2004).

Bisher gibt es keinen einzelnen Test, der das allergene Potential eines unbekanntes Proteins ermittelt, jedoch wurden eine Vielzahl von Schemata entwickelt, nach der eine Risikoanalyse erfolgen kann (Poulsen 2004). Der aktuelle FAO/WHO **Entscheidungsbaum** (siehe Abb. 12) beginnt mit der Analyse des neuartigen Proteins und sucht nach Ähnlichkeiten mit bekannten Allergenen. Hierzu wird die Nukleotidsequenz des fraglichen Proteins mit der Sequenz bekannter Allergene verglichen. Der Grad der Übereinstimmung dient als Maß der anzunehmenden Allergenität. Für den von der FAO/WHO (2001) modifizierte Entscheidungsbaum wird bei einer Sequenzidentität von mehr als 30% über einen Bereich von 80 Aminosäuren Länge und/oder sechs aufeinander folgenden identischen Aminosäuren von einer Sequenzübereinstimmung gesprochen. Wird keine Sequenzähnlichkeit mit bekannten Allergenen festgestellt, kann ein Allergierisiko – z.B. aufgrund der Komplexität und Individualität des Immunsystems – trotzdem nie völlig ausgeschlossen werden (Lack *et al.* 2002).

Stammt das fragliche Protein aus einem Organismus, der als allergen bekannt ist, ohne dass es eine Sequenzähnlichkeit mit bekannten Allergenen aufweist, wird es mit Seren von Patienten, die auf den entsprechenden Organismus sensibel reagieren, auf IgE Antikörperaktivität untersucht (Specific Serum Screen). Wenn hingegen das fragliche Protein

von einem nicht als allergen bekannten Organismus stammt und auch keine Sequenzähnlichkeiten mit bekannten Allergenen vorhanden sind, werden Untersuchungen mit Seren von Allergikern durchgeführt, die gegen die verschiedenartigsten Allergene sensibilisiert sind (Targeted Serum Screen). Zur Zeit gibt es jedoch keine allgemein zugängliche Datenbank, die über eine umfassende Sammlung von Allergikerseren verfügt (Poulsen 2004).

Ein weiteres Kriterium des FAO/WHO Entscheidungsbaumes ist die Verdauungsresistenz von Proteinen, da einige allergene Substanzen (z.B. Proteine der Erdnuss) mit einer langen Verweildauer im Magen-Darmtrakt in Verbindung gebracht werden (Lack *et al.* 2002; Bakshi 2003).

6.8.3 Toxizität

Um die Toxizität von rekombinanten Proteinen und Metaboliten zu testen, werden in der Regel **Standardtoxizitätstests** nach dem OECD Leitfaden zum Testen von Chemikalien durchgeführt (OECD, 1993b). Der grobe Ablauf dieser Tests ist wie folgt: Zuerst muss in jedem Einzelfall entschieden werden, welche Tests durchzuführen sind (WHO 2000). Wenn ein rekombinantes Protein oder ein neuer Metabolit (z.B. Vitamine, Omega-3-Fettsäuren) identisch zu bereits existierenden ist, diese als sicher gelten und geeignete Daten existieren, kann das Zitieren von bereits vorhandenen Studien für einen Zulassungsantrag ausreichend sein. Handelt es sich um ein neuartiges Protein oder sekundären Metabolit, sind jedoch gründlichere Toxizitätstests erforderlich. Hierfür sind verschiedene *in vitro* und *in vivo* Tests vorgesehen. Häufig werden Tierversuche mit einer einzigen Gabe der gereinigten Testsubstanz angewendet. Akut toxische Proteine zeigen bei der Gabe von hohen Dosen gewöhnlich sofort ihre gesundheitsschädlichen Wirkungen (WHO 2000). Viele Proteine wirken jedoch erst nach der Gabe von mehrmaligen Dosen akut toxisch (König *et al.* 2004). Deshalb fordert der Leitfaden des Wissenschaftlichen Lenkungsausschusses der Europäischen Kommission (European Commission's Scientific Steering Committee), dass im Falle eines neuen Proteins mit nicht ausreichender oder einer Zweifel aufwerfenden Datengrundlage ein Tierversuch mit wiederholter Dosengabe durchgeführt werden soll (Europäische Kommission 2003a).

6.8.4 Nährstoffe

Genmanipulierte Lebensmittel können die Nährstoffversorgung der Menschen verbessern. Sie haben aber auch das Potential diese aus dem Gleichgewicht zu bringen, wenn erwartete oder nicht erwartete Veränderungen die **Nährstoffzusammensetzung** betreffen (EFSA GMO Panel 2004c). Die Untersuchung des Nährwertes transgener Lebensmittel sollte die Nährstoffzusammensetzung, die biologische Wirksamkeit der Nährstoffe und potentielle Auswirkungen des Konsums auf die Nährstoffversorgung des Menschen berücksichtigen.

Wurde in der ersten Phase der Risikoanalyse für ein bestimmtes transgenes Lebensmittel eine **substantielle Äquivalenz** zum entsprechenden Vergleichsprodukt festgestellt, wird anschließend untersucht, ob ein Ersetzen des herkömmlichen Produkts durch das entsprechende transgene Lebensmittel zu einer schlechteren Ernährung führen könnte.

Dabei soll zum einen die **Nährstoffaufnahme** bei einer durchschnittlichen und zum anderen bei einer extrem hohen Tagesdosis bewertet werden. Ein weiteres Augenmerk sollte auf Inhaltsstoffe gelegt werden, von denen bekannt ist, dass sie den Nährstoffgehalt einer Pflanze verringern können (so genannte ‚Antinutrienten‘). Einige Antinutrienten interagieren beispielsweise mit essentiellen Inhaltsstoffen und setzen dadurch deren Verfügbarkeit für den Konsumenten herab.

Bei transgenen Lebensmitteln, die auf eine Veränderung der Nährstoffzusammensetzung abzielen (z.B. höherer Vitamingehalt), werden zusätzliche Studien zu den speziellen Biomolekülen benötigt (EFSA GMO Panel 2004c).

6.8.5 Fallbeispiele zu Gesundheitsrisiken

In vielen transgenen Maispflanzen werden *Bt*-Toxine exprimiert, um ihre Resistenz gegen Insekten zu erhöhen. Das *Bt*-Toxin (Cry9C) des transgenen **Starlink Mais** weist eine Verweildauer im Magen-Darmtrakt von bis zu 30 min auf. Deshalb verweigerte die U.S. Environmental Protection Agency die Zulassung von Starlink Mais als Lebensmittel (s. Box 8). Nach Taylor & Hefle (Taylor & Hefle 2001) ist das Cry9C Protein als nicht allergen einzustufen. Der Wissenschaftliche Beirat der US EPA (2001) kritisierte jedoch die US FDA, da bei der Untersuchung des allergenen Potentials das Cry9C von *Escherichia coli*-Bakterien generiert wurde und nicht vom transgenen Starlink Mais selbst. Das Verwenden von nicht gleichwertigen, aus Bakterien stammenden Proteinen erhöht die Möglichkeit, dass IgE Reaktionen gegen von Pflanzen synthetisierte Cry9C Toxine nicht entdeckt werden.

Bernstein *et al.* (1999) führte Gesundheitsuntersuchungen bei Farmarbeitern durch, bevor und nachdem diese über die Haut und Atemwege in Kontakt mit herkömmlichen *Bt*-Pestiziden kamen. Dabei konnten eindeutige Haut- und **Immunreaktionen der Farmarbeiter** festgestellt werden.

Von der Firma Hi-Breed International wurden transgene Sojabohnen mit erhöhtem **Methioningehalt** hergestellt, um den ernährungsphysiologischen Wert der Sojabohne zu erhöhen. Diese transgenen Sojabohnen exprimierten das **methioninreiche 2S-Albumin der Paranuss**. In einer von der Firma Hi-Breed International in Auftrag gegebenen Untersuchung, wurde das allergene Potential der transgenen methioninreichen Sojabohnen mittels Seren von neun Personen, die sensibel auf Paranüsse reagierten, und neun Kontrollpersonen, die offensichtlich nicht sensibel auf Paranüsse reagierten, getestet (Nordlee *et al.* 1996). Bei acht der neun Personen, die allergisch auf Paranüsse reagierten, konnte eine Bindung des IgE an das gereinigte 2S Albumin festgestellt werden. Das IgE von sieben der neun Allergiker band auch an ein transgenes Soja-Protein, das zusammen mit dem 2S-Albumin, jedoch nicht bei der gentechnisch unveränderten Sojabohne, vorkam. Hi-Breed International hatte nach Firmenaussage bereits 1993 nach den ersten Untersuchungen, die auf das allergene Potential der neuen Sojabohne hindeuteten, alle **Feldtests abgebrochen und sämtliches Pflanzenmaterial zerstört**.

Box 8: Fallbeispiel Starlink *Bt*-Mais

Die transgene Maisvariante **Starlink** exprimiert das insektizide Protein Cry9C. Dieses Protein ist nicht strukturell homolog mit bekannten Lebensmittelallergenen, jedoch stärker resistent gegen Verdauungssäfte, als andere *Bt*-Toxine (Taylor & Hefle 2001). Die *in vitro* durchgeführten Untersuchungen zeigten eine Stabilität von vier Stunden gegenüber dem Verdauungsenzym Pepsin bei pH 2,0 (US EPA 1997). Es zeigte sich jedoch keine Sequenzhomologie mit bekannten Allergenen. Da jedoch Verdauungsresistenz auch für einige Lebensmittelallergene bekannt und ein Kriterium des Entscheidungsbaumes der WHO ist, verweigerte die US Environmental Protection Agency (US EPA) die Zulassung von Starlink Mais als **Lebensmittel**. Die Registrierung für den US-amerikanischen Markt im Jahre 1998 durch die US EPA war somit auf Verwendung des Starlink-Mais als **Tierfutter** beschränkt.

Im September 2000 berichteten die Medien, dass Starlink Mais in die Lebensmittelkette gelangt sei. Nach wenigen Tagen wurden die Produkte durch den Hersteller zurückgerufen (Bucchini & Goldman 2002). Anfang Oktober bekannte die U.S. Food and Drug Administration (US FDA), dass Starlink Mais mit anderem Mais in der Nahrungsmittelkette vermischt wurde. Anfang November wurden dann auch von der US FDA verschiedene Produkte, die Starlink Mais enthielten, zurückgerufen und dem Hersteller von Starlink Mais die Zulassung entzogen. Zur gleichen Zeit beantragte die Firma eine erneute Zulassung, auch für den Lebensmittelmarkt.

Die US EPA berief ein Wissenschaftliches Beratungsgremium (SAP) um die bisher durchgeführten Studien zum allergischen Potential des Cry9C Endotoxins erneut zu beurteilen. Dieses kam zum Schluss, dass, obwohl die Allergenität nicht nachgewiesen werden konnte, weiterhin keine Lebensmittelsicherheit für Cry9C besteht (SAP 2000). Somit ist die **Zulassung** des Starlink Mais bis heute **als Tierfutter** in den USA beschränkt.

Eine Analyse der Isoflavone in glyphosatresistenten GTS 40-3-2 Sojabohnen zeigte, dass die Konzentration an Phytoöstrogenen signifikant geringer war als in herkömmlichen Sojabohnen (Lappe *et al.* 1999). Es wird angenommen, dass Phytoöstrogene vor Herzinfarkt und Krebs schützen und somit könnte der Rückschluss gezogen werden, dass die getesteten transgenen Sojabohnen einen geringeren Nährwert aufweisen als die herkömmlichen Pflanzen (Bakshi 2003).

Ein weiteres prominentes Beispiel evtl. toxischer Wirkungen transgener Lebensmittel betrifft gentechnisch veränderte Kartoffeln (Ewen & Pusztai 1999a, siehe Box 9).

6.8.6 Kritik an der Sicherheitsbewertung von GVO

Viele Wissenschaftler, wissenschaftliche Verbände und Regierungsorganisationen halten die mit GV-Lebensmitteln verknüpften Gesundheitsrisiken generell für gering (Schauzu 2000, Taylor & Hefle 2001, Lack *et al.* 2002, Society of Toxicology 2003). {Bakshi, 2003 19720 /id /a}(2003) argumentiert hingegen, dass aufgrund der großen Bevölkerungsgruppen, die GV-Lebensmitteln ausgesetzt sind, mehr Forschung nötig sei, um potentiell von transgenen Lebensmitteln ausgehende Gesundheitsrisiko für den Menschen ausschließen zu können.

Box 9: Fallbeispiel Kartoffeln mit Schneeglöckchen-Transgen

Im April 1998 erklärte der Wissenschaftler A. Pusztai vom Rowett Research Institute in Aberdeen, UK, dass bei Versuchen mit Ratten, die eine Diät mit gentechnisch veränderten Kartoffeln aßen, eine Veränderung des Dünndarms festgestellt wurde.

Es handelte sich in den Versuchen um Kartoffeln, die das *Galanthus nivalis* Agglutinin (GNA) des Schneeglöckchens exprimierten. Diese wurden entwickelt, um eine Resistenz gegen Insekten- und Nematodenbefall zu erreichen. Bei der Studie zur **Toxizität** dieser Kartoffeln wurden pro Untersuchungsgruppe zufällig sechs Ratten ausgewählt, die eine Diät entweder mit rohen oder gekochten GNA-transgenen Kartoffeln, nicht-transgenen Kartoffeln oder nicht-transgenen Kartoffeln, aber mit Zugabe von GNA, über einen Zeitraum von 10 Tagen erhielten (Ewen & Pusztai 1999b).

Sowohl bei den Ratten, die transgene GNA-Kartoffeln gefressen hatten, als auch bei der Kontrollgruppe, die nicht-transgene + zusätzliche GNA-Diät erhalten hatte, wurde eine Verdickung der Magenschleimhaut festgestellt. Des Weiteren konnte eine Wucherung, aber auch eine Hemmung der Zellteilung des Gewebes des Dünndarms beobachtet werden. Diese Phänomene traten nur bei Ratten auf, welche die transgene Kartoffeln verzehrt hatten. In diesem Fall nahmen die Autoren daher an, dass nicht das GNA-Protein Grund für die Veränderung war, sondern die Ursache im Prozess der genetischen Veränderung selbst liegt.

Das Vorgehen der beiden Wissenschaftler erntete vielfältige Kritik (z.B. Kuiper *et al.* 1999, Lachmann 1999). Kuiper *et al.* (1999) kritisieren, dass die Experimente unvollständig seien, da sie mit zu wenigen Tieren durchgeführt wurden und eine Kontrollgruppe fehlte, die eine Standarddiät für Nager hätte erhalten müssen.

A. Pusztai wurde im Verlauf der Kontroverse von seinem Posten suspendiert. Die Untersuchungen von Ewen und Pusztai wurden eingestellt.

Unzureichend sei die Bewertung von GVO hinsichtlich der Bestimmung ihres allergenen Potentials laut Lack *et al.* (2002) aufgrund der ausschließlichen „hier und jetzt“ Untersuchung. Derartige Kurzzeitstudien könnten nicht ausschließen, dass transgene Lebensmittel zur Sensibilisierung und damit zu neuen Allergien in der Bevölkerung führen.

Bernstein *et al.* (2003) argumentieren, von GV-Lebensmitteln ginge ein höheres Gesundheitsrisiko als von herkömmlichen Lebensmitteln aus, da durch die Biotechnologie eher neue Proteine und somit neue Allergien entstehen können als durch herkömmliche Züchtung. Der aktuelle Entscheidungsbaum der FAO & WHO (2003) benötige aus diesem Grund eine Revision, um diese neuen Protein besser untersuchen zu können. Es ließe sich auch nicht ausschließen, dass GVO entwickelt werden, die das gleiche allergene Potential haben, wie z.B. die Erdnuss, da der gegenwärtige Wissenstand es uns nicht erlaubt, vollständig zu definieren was ein Allergen genau ausmacht (Poulsen 2004). In ähnlicher Weise kritisieren Millstone *et al.* (1999), dass in der Regel das Prinzip der substantiellen Äquivalenz zur Bewertung von GVO angewandt wird. Die häufig vorkommenden Ungenauigkeiten während der zur Feststellung einer wesentlichen Gleichwertigkeit durchgeführten Studien (s.o.) seien jedoch ein Anzeichen dafür, dass das Prinzip der substantiellen Äquivalenz wertvoll für die Industrie, jedoch wertlos für den Konsumenten sei.

Das Konzept sei in erster Linie geschaffen worden, um die Anwendung von biochemischen und toxikologischen Tests zu umgehen (Millstone *et al.* 1999).

Gurian-Sherman (2003) identifiziert zahlreiche **Defizite** bei der **Sicherheitsbewertung** transgener Lebensmittel in den USA. Um das Risiko einer Gesundheitsgefährdung zu vermindern und gleichzeitig das Vertrauen der Bevölkerung in verantwortliche Institutionen und in die Lebensmittelsicherheit zu stärken, sind nach seiner Meinung eine verstärkte Informationspflicht des Anmelders, zusätzliche Untersuchungen, verbindlichere Vorschriften und insbesondere eine bessere Information der Öffentlichkeit notwendig.

6.9 Unbeabsichtigte Effekte

In einigen Fällen ist bei GVP ein Phänotyp beobachtet worden, der sich über die erwarteten Veränderungen hinaus von dem Phänotyp einer entsprechenden nicht-transformierten Pflanze unterscheidet. Handelt es sich dabei um konsistente und statistisch signifikante Unterschiede zwischen der GVP und dem geeigneten Vergleichsorganismus, die über die ursprünglich erwarteten Effekte des Transgens hinausgehen, so werden diese als unbeabsichtigte Effekte bezeichnet. Sie können z.B. durch genetische Umlagerungsprozesse oder gestörte Stoffwechselwege hervorgerufen werden.

Einige Autoren (OECD 1993, König *et al.* 2004) unterscheiden zwei Kategorien von unbeabsichtigten Effekten: Teilweise seien unbeabsichtigten Effekte zu beobachten, für deren Verständnis das derzeitige botanische, genetische und pflanzenphysiologische Wissen ausreicht (erklärbare, vorhersagbare unbeabsichtigte Effekte), darüber hinaus existierten aber auch Unterschiede zwischen GV- und nicht-GV-Organismen, für die sich auf der Basis des heutigen Kenntnisstandes keine plausible Erklärung finden lassen (nicht-erklärbare, nicht-vorhersagbare unbeabsichtigte Effekte).

Beispiele

In der Literatur sind einige Beispiele für unbeabsichtigte Effekte bei transgenen Pflanzen zu finden. Bergelson *et al.* (1998) beobachteten bei *Arabidopsis thaliana* Unterschiede bezüglich der **Auskreuzungsrate** zwischen transgenen und nicht-transgenen Pflanzen. Sowohl die transgenen als auch die nicht-transgenen Pflanzen waren herbizidresistent, was jeweils auf der Expression des Csr1-1-Gens basierte. Während es sich bei den nicht-transformierten Pflanzen hierbei um ein spontan mutiertes Allel handelte, war das entsprechende Gen in die transgenen Pflanzen gemeinsam mit einem Antibiotikaresistenzmarker transferiert worden. Obwohl also die Herbizidresistenz-verleihenden Gene und die Gewächshausbedingungen für alle Pflanzen identisch waren, war die Auskreuzungsrate der transgenen Individuen um etwa 20% erhöht.

Bergelson *et al.* (1996) beobachteten des Weiteren eine **verringerte Saatproduktion** bei herbizidresistenten *A. thaliana*-Individuen. Folgt man der oben erwähnten Klassifikation der unbeabsichtigten Effekte, handelte es sich hierbei um einen erklärbaren und möglicherweise vorhersehbaren Effekt, da dieser Phänotyp zwar sicherlich nicht dem Zweck der Transformation entspricht, jedoch leicht als ‚fitness cost‘ erklärt werden kann.

Tabelle 18: Beispiele unbeabsichtigter Effekte in transgenen Feldfrüchten

transgene Feldfrucht	Behandlung	unerwartete Effekte	Referenz
Gerste	BAR Gen für Glufosinat-resistenz, <i>uidA</i> Gen; Gen für hitzestabile β -Glucanase	Minderwertig im Vergleich mit konventioneller Gerste (z.B. geringere Erträge)	Horvath <i>et al.</i> 2001
Raps	Überexpression der Phytoen-Synthase in Rapssamen führte zu einer 500-fachen Steigerung der α - und β - Carotinoide	Konzentration von Lutein, dem Vorherrschenden Carotinoid der Kontrollsamens, erhöhte sich jedoch nicht	Shewmaker <i>et al.</i> 1999
	BAR Gen für Glufosinat-resistenz; reguliert durch den CaMV 35 S Promotor	Pflanzen reagierten nach Infektion mit dem CaMV sensitiv auf das Herbizid Glufosinat	Al-Kaff <i>et al.</i> 2000
Mais	<i>Bt</i>	Stängel enthielten mehr Lignin als Kontrollpflanzen, mögliche Auswirkungen auf die Nahrungskette	Saxena & Stotzky 2001b
Kartoffeln	Kanamycin (Antibiotika) Resistenzmarker	zeigten unerwartete Auswirkungen auf Phänotyp und Ernteerträge	Conner <i>et al.</i> 1994
	<i>Lectin</i> Gen um Resistenz gegen Insekten zu erhöhen	geringere Gehalte von Glycoalkaloiden in den Blättern; dies kann Auswirkungen auf andere Insekten und auf die Lebens- oder Futtermittelverwendung haben	Birch <i>et al.</i> 2001
Reis	<i>Glycinin</i> Gen der Sojabohne	Abnahme des Proteingehaltes um 20% und gleichzeitig eine Zunahme von Vitamin B um 50%	Momma <i>et al.</i> 1999
Klee	<i>Samen-Albumin (ssa)</i> -Gen der Sonnenblume	veränderte Samen-Dormanz und Keimlings-Sterblichkeit mit erhöhter Persistenz in einjährigen Grassbeständen	Godfree <i>et al.</i> 2004a, 2004b

Saxena & Stotzky (2001b) konnten für verschiedene transgene Maissorten (Bt11 und MON 810) eine im Vergleich zu den nicht-transgenen Elternpflanzen signifikante Erhöhung des Ligningehaltes feststellen. Ein erhöhter Ligningehalt, kann im positiven Falle dazu führen, dass sich der Insektenbefall der Feldfrucht verringert. Im negativen Fall, wie dies auch schon von Landwirten beobachtet wurde, liefern Pflanzen mit einem erhöhten Ligningehalt schlechteres Viehfutter. Darüber hinaus könnten sich die Degradationseigenschaften der Pflanzen und ihre mechanischen Eigenschaften verändern. Verschiedene Studien untersuchten mögliche Konsequenzen eines veränderten Lignin- und Zellulosegehalts transgener Pflanzen für Abbauprozesse im Boden. Dabei wurden z.B. signifikant erhöhte **Kohlenstoff- und Stickstoffmineralisierungsraten** bei transgenem Tabak festgestellt (Webster *et al.* 2005, Hopkins *et al.* 2005). Andererseits konnten Tilston *et al.* (2004) bei transgenen Pappeln keine signifikanten Unterschiede zu nichtmodifizierten Pappeln in Bezug auf die Kohlendioxidproduktion bzw. der Abbaurate finden. In Tabelle 18 folgen weitere Beispiele für das Auftreten unbeabsichtigter Effekte, deren Ursachen für die geschilderten Fälle meist unklar blieben.

Ein zur Erhöhung der Nährstoffqualität von Klee (*Trifolium subterraneum*) eingebrachtes Samen-Albumin-Gen aus der Sonnenblume hatte Veränderungen der **Samen-Dormanz** bzw. der Samen-Keimung und veränderte **Keimlingssterblichkeiten** zur Folge

(Godfree *et al.* 2004a, 2004b). Wie Modellierungsstudien zeigten, können diese zu einer geringeren Invasivität in mehrjährigen Grasgesellschaften führen, andererseits zu einer erhöhten Invasivität in einjährigem beweideten Grassland.

Eine erhöhte Herbizid-Sensitivität wurde bei transgenem Raps gefunden (Al-Kaff *et al.* 2000). Die Ursachen für das Auftreten der unbeabsichtigten Effekte blieb jedoch unklar.

Abschätzung möglicher Risiken aufgrund unbeabsichtigter Effekte

Die EU-Richtlinie 2001/18/EG schreibt vor, dass unbeabsichtigte Effekte für die Bestimmung möglicher Sicherheitsrisiken transgener Pflanzen oder ihrer Produkte berücksichtigt werden. Da unvorhergesehene Ereignisse selbst nicht im Vorfeld bewertet werden können, scheint es sinnvoll, in einem ersten Schritt die Wahrscheinlichkeit des Eintretens unbeabsichtigter Effekte zu bestimmen. Es wird angenommen, dass sie in vielen Fällen durch Umlagerungsprozesse im Genom (genetic rearrangements) und Störungen von Stoffwechselwegen verursacht werden (EFSA GMO Panel 2004c). In einem ersten Schritt sollten daher mit Hilfe einer Sequenzanalyse die flankierenden Regionen des Transgens untersucht werden. Auf diese Weise kann exakt die Stelle lokalisiert werden, an welcher das Transgen in das Wirtsgenom eingebaut wurde. Wurden dabei endogene Gene zerstört, erscheint die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten unbeabsichtigter Effekte erhöht. Wie in Kapitel 4 dargelegt, hängt die Vorhersehbarkeit des Ergebnisses einer Transformation erheblich von der verwendeten Methode ab. Das Übertragen von Fremd-DNA durch Partikelbeschuss resultiert häufig in mehreren Transgen-Kopien pro Zelle (Pawlowski & Somers 1998). Dies ist bei der Mehrzahl transformierter Getreidesorten der Fall (Koprek *et al.* 2001). Eine häufige Folge ist die Inaktivierung eines Gens oder der gegenteilige Fall, die Aktivierung anderer Gene. Auch können bei der Transformation durch Partikelbeschuss DNA-Partikel aus Chloroplasten oder aus Mitochondrien ins Kerngenom gelangen (Van den Eede *et al.* 2004). Die Akkumulation von mehreren verschiedenen Transgenen in einer Pflanze („Gene Stacking“) kann die Vorhersage der durch die Transgene hervorgerufenen Effekte ebenfalls erschweren.

Von der EFSA werden zwei Herangehensweisen vorgeschlagen, um potentielle unbeabsichtigte Effekte zu identifizieren: eine vergleichende und eine gezielte Analyse von Bestandteilen und Inhaltsstoffen („comparative“ bzw. „targeted analysis“, vgl. 6.8). Berücksichtigt werden sollten Makro- und Mikroelemente, sekundäre Stoffwechselprodukte, Antinutrienten und Toxine. Werden bei diesen Analysen signifikante Unterschiede zwischen der transgenen und der Kontroll-Linie gefunden, sollten sorgfältig Untersuchungen im Hinblick auf potentielle Risiken folgen (Cellini *et al.* 2004, EFSA GMO Panel 2004c). Die nicht-zielgerichteten Methoden benötigen eine Weiterentwicklung und Evaluation bezüglich ihrer Spezifität und Sensitivität (EFSA GMO Panel 2004c).

7 GVO-Monitoring

Die Entwicklung des gemäß Freisetzungsrichtlinie 2001/18/EG vorgeschriebenen GVO-Monitorings befindet sich in Deutschland wie auch in anderen EU-Ländern nach wie vor in der Konzeptentwicklungsphase. Erste Konzeptvorschläge werden in Deutschland derzeit mittels Pilotstudien auf ihre Praxistauglichkeit hin überprüft. Im Prozess der Konzeptentwicklung sind zahlreiche verschiedene Akteure auf Länderebene, auf nationaler und auf EU-Ebene involviert, die zum Teil unterschiedliche Schwerpunkte mit verschiedenen Zielsetzungen bearbeiten.

Die Konzeptentwicklung für ein anbaubegleitendes Monitoring bezieht sich aktuell größtenteils auf transgene Kulturpflanzen, deren Zulassung auf Inverkehrbringen genehmigt, beantragt oder demnächst erwartet wird (vgl. Menzel *et al.* 2005). Eigenschaften transgener Pflanzen der zweiten und dritten Generation sind kaum berücksichtigt, sollen aber bei Bedarf in die Konzepte integrierbar sein (vgl. BLAG 2003, Wilhelm *et al.* 2003a).

7.1 Akteure

7.1.1 Antragsteller / Betreiber

Nach der Freisetzung-Richtlinie 2001/18/EG ist der wichtigste Akteur des GVO-Monitorings der **Antragsteller oder Betreiber**. Er hat mit dem Antrag auf Inverkehrbringen die Ergebnisse einer Umweltrisikoprüfung vorzulegen und einen davon abgeleiteten Überwachungsplan, mit allgemein überwachendem und falls erforderlich fallspezifischem Monitoring-Teil (vgl. Kapitel 4). Nach der Erteilung einer Genehmigung ist der Antragsteller oder Betreiber für die Durchführung des allgemeinen und des fallspezifischen Monitorings und für die Übermittlung der Daten an die zuständige Genehmigungsbehörde verantwortlich. Dabei kann er auch die Daten aus bestehenden Beobachtungsprogrammen nutzen.

7.1.2 Bundesbehörden

Seit dem 1.4.2004 sind die Zuständigkeiten in der Agro-Gentechnik auf Bundesebene im Rahmen des Gentechnikgesetzes neu geregelt worden (vgl. Kapitel 4). So wurde die Zuständigkeit für das gesamte Gentechnikrecht dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (**BVL**) als unselbständiger Bundesoberbehörde im Geschäftsbereich des Verbraucherministeriums (**BMELV**) übertragen. Zuvor war dafür das Robert-Koch-Institut (**RKI**) als selbständige Bundesbehörde im Geschäftsbereich des Gesundheitsministeriums zuständig. Die gesamte Gentechnikabteilung des RKI wurde als eigenständige Referatsgruppe Gentechnik dem BVL angegliedert.

Das **BVL** hat im Bereich der Gentechnik insbesondere folgende Aufgaben:

- Geschäftsstelle der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS),
- Risikobewertung von Organismen, Fortschreibung der Organismenliste,
- Sicherheitsbewertung gentechnischer Arbeiten,

- Durchführung von Genehmigungsverfahren für Freisetzungsvorhaben und für das Inverkehrbringen von GVO nach dem deutschen Gentechnikrecht,
- Wahrnehmung der Aufgaben der national zuständigen Behörde für gemeinschaftliche Genehmigungsverfahren der Europäischen Union (EU),
- Novel Foods unter gentechnologischem Aspekt (Überwachung von Lebensmitteln aus oder mit gentechnisch veränderten Organismen),
- Nationale Koordination bezüglich der BioTrack-Datenbank der OECD,
- Nationales Referenzzentrum zur Implementierung der UNEP International Technical Guidelines für die Sicherheit im Bereich der Gentechnologie,
- Genregister, Anbauregister

Eine weitere Bundesoberbehörde im Geschäftsbereich des BMELV (bis Dez. 2005: BMVEL) ist die Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (**BBA**). Sie ist als Fachbehörde u.a. mit der Entwicklung eines Konzeptes zum anbaubegleitenden Monitoring gentechnisch veränderter Pflanzen im Agrarökosystem betraut. Hiermit ist seit 1999 eine Arbeitsgruppe aus Vertretern der BBA, weiterer Bundes- und Landesbehörden, der Forschung, von Interessensverbänden und der Industrie beschäftigt.

Die **BBA** hat im Bereich der Gentechnik folgende Aufgaben:

- Stellungnehmende Behörde bei Anträgen zur Freisetzung und zum Inverkehrbringen von GVO in Deutschland und der Europäischen Union,
- Prüfung/Kommentierung von Anträge aus der Europäischen Union,
- Durchführung begleitender Forschungen und Nachgenehmigungsuntersuchungen zu Sicherheitsaspekten und möglichen Auswirkungen auf den Naturhaushalt, insbesondere im Agrarbereich.

Das Bundessortenamt (**BSA**) führt im Rahmen ihrer Saatgutüberwachung auch die Überprüfung von Saatgut auf Verunreinigungen durch Transgenkonstrukte durch.

Im Rahmen des Gentechnikrechts ist das Friedrich-Löffler-Institut – Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit (**FLI**) als Einvernehmensbehörde auch an Verfahren zur Freisetzung und Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Organismen beteiligt, jedoch im zoologischen Bereich.

Im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (**BMU**) wechselte die Kompetenz im Rahmen der Genehmigungsverfahrens vom Umweltbundesamt (UBA) zum Bundesamt für Naturschutz (**BfN**). Als selbständige Bundesoberbehörde erfüllt es als Fachbehörde im Bereich Agro-Gentechnik die Aufgaben:

- Benehmensbehörde für das Freisetzen und Inverkehrbringen von GVO,
- Erarbeitung von Konzepten und Maßnahmen zur Risikominderung und zur Sicherheitsforschung im Bereich Agro-Gentechnik,
- Erarbeitung der fachlichen Grundlagen für ein GVO-Monitoring und zur Abschätzung der Auswirkungen von GVO auf die biologische Vielfalt,

- Entwicklung von Monitoringkonzepten und deren Umsetzung,
- Beobachtung von GVO in der Umwelt.

Diese Aufgaben beim Vollzug des Gentechnikgesetzes hatte bis zum 31.3.2004 das UBA inne. Für Verfahren zum Freisetzen oder Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Organismen war es jedoch Einvernehmensbehörde.

Unter Federführung des UBA (seit 2004 des BfN) befasst sich die Bund/Länderarbeitsgruppe „Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen“ (BLAG) mit der Aufgabe ein Rahmenkonzept für das Monitoring von GVO zu entwerfen. Dieser Entwurf (BLAG 2003) dient als Basis für die weitere Konkretisierung des GVO-Monitorings durch das BfN (Benzler 2004).

Den Bundesbehörden kommt im Bereich des GVO-Monitorings v.a. eine gestaltende und koordinierende Funktion zu:

- Gestaltung der Organisation des Monitorings (Datenverwaltung und Datenübermittlung, Vorlagen für den Vollzug, Präsentation nach außen),
- Fachliche Ausgestaltung des Monitorings (Wissensaufbereitung, Fachliches Konzept, Standardisierung von Methoden, Auswertung der Daten, Aufzeigen von Forschungsbedarf),
- Beeinflussung des Monitorings (Überwachungsplan und Untersuchungsflächen) als Bestandteil des Genehmigungsverfahrens durch Erteilung ergänzender Monitoring-Auflagen,
- Einbringen der Monitoringvorstellungen in EU-Gremien zur Harmonisierung und Festschreibung von Überwachungsprotokollen.

Bundesländer

Die zuständigen **Landesbehörden** überwachen gemäß §25GenTG die Durchführung des GenTG und damit auch alle Monitoring-Aktivitäten, die der Betreiber entsprechend der Genehmigung durchzuführen hat. Die genauen Aufgaben, die dabei erfüllt werden müssen, sind nicht geregelt und werden von den Ländern eigenständig festgelegt.

EU

Der Bedarf an einer EU-weiten Harmonisierung ist allgemein bekannt, da die oben beschriebenen Gesetzesvorlagen unkonkret bleiben und einen erheblichen Interpretationsspielraum zulassen (Benzler 2004). Besonders eklatant ist der aktuelle Mangel an verbindlichen Vorschriften sowohl bei der Ausgestaltung wie bei der Überwachung des Monitorings. In der EU bestehen derzeit mehrere Arbeitsgruppen, die sich mit GVO-Monitoring befassen. Das „European Enforcement Project (EEP)“ hat sich als freiwilliges Netzwerk europäischer Gentechnikbehörden entwickelt. Hier finden mit Genehmigung, Überwachung von Koexistenz und Monitoring befasste Behördenvertreter eine Plattform um relevante Informationen (z.B. zu Methoden, Standards, etc.) EU-weit auszutauschen. Eine andere Arbeitsgruppe besteht aus Mitgliedern des Gremiums für GVO (GMO-Panel) der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA). Außerhalb der EFSA gibt es eine weitere, der EU-Kommission zugeordnete Arbeitsgruppe, die von den zuständigen

europäischen Vollzugsbehörden (Competent Authorities Meeting) beauftragt wurde, sich mit der Umsetzung und Harmonisierung eines GVO-Monitorings zu beschäftigen.

Die Schaffung einer Zentralen Koordinierungsstelle für das Monitoring wird angestrebt. Ob sie als Teil der EFSA oder aber unabhängig von ihr umgesetzt wird ist noch unklar. Im Bereich des Europäischen Komitees für Normung (European Committee for Standardization, CEN) sollen die deutschen VDI-Richtlinien zur Standardisierung von Monitoring-Methoden (vgl. Beispiel Pollenmonitoring) aufgenommen werden.

7.2 Fachliche Konzepte der wichtigsten Akteure

In Deutschland gibt es aktuell zwei unterschiedlich eingebundene Fachbehörden, die sich auf Bundesebene mit der Konzepterstellung zum GVO-Monitoring beschäftigen: Die BBA in Braunschweig im Geschäftsbereich des BMELV und das BfN in Bonn im Geschäftsbereich des BMU. Da den Bundesländern die Überwachung obliegt, werden in vielen Bundesländern Vorhaben und Modell-Projekte mit Bezug zu Risiko-Forschung und Monitoring durchgeführt oder regionale (Teil-)Monitoring-pläne entwickelt und getestet. Dabei lässt sich eine Orientierung an den fachlichen Konzepten bzw. eine Einbindung entweder der BBA oder des BfN feststellen. Diese Konzepte unterscheiden sich deutlich in der Einschätzung

- der wissenschaftlichen Datenlage und ihrer Qualität,
- des ökologischen Schadens, der Schutzgüter und Schutzziele,
- von Schwellenwerten und Abbruchkriterien,
- des Beobachtungsraums – des einzubeziehenden Anteils der Landschaft,
- v.a. der Berücksichtigung ökosystemarer Zusammenhänge und
- der Vergleichsbasis eines Monitorings.

Folglich werden unterschiedliche Anforderungen an das Monitoringkonzept gestellt und andere Antworten auf für ein Monitoring relevante Fragen gegeben. **Insgesamt gibt es weder auf der einen noch auf der anderen Seite vollständig ausgearbeitete Monitoringpläne.**

7.2.1 BfN –Konzept zum GVO-Monitoring der Umweltwirkungen

7.2.1.1 Grundlagen

Die Grundlage des GVO-Monitoringkonzeptes des BfN bildet das Ökosystem. Nach der Definition von unerwünschten Veränderungen von ökosystemaren Funktionen und Prozessen kann eine ökologische Risikoabschätzung stattfinden. Sie führt über die Anwendung von nachvollziehbaren, wissensbasierten Ursache-Wirkungshypothesen zur Auswahl von geeigneten Parametern, Methoden und Beobachtungsräumen als notwendige Bestandteile eines GVO-Monitorings (Schönthaler *et al.* 2003, Andow & Hilbeck 2004, Hilbeck & Meier 2005, Middelhoff *et al.* 2005). Ziel ist die Entwicklung eines dynamischen, anpassungsfähigen GVO-Monitorings mit Rückkoppelungsmechanismen zur Risiko- und Begleitforschung, damit Risiken frühzeitig erkannt und Umweltschäden rechtzeitig abgewandt werden können (Hilbeck & Meier 2005, Middelhoff *et al.* 2005).

Dies bedeutet, dass **alle** Möglichkeiten, wie GVO im Ökosystem wirken können, betrachtet werden und erst anschließend auf die jeweils relevanten Prüfpunkte und Parameter fokussiert wird. Nur so kann im Sinne des Vorsorgeprinzips gewährleistet werden, dass auf der Grundlage des aktuellen Wissens keine Aspekte „vergessen“ werden, die sich später möglicherweise als schädigend herausstellen.

Einschätzung der Datenlage

In der Konzeptentwicklung des BfN wird darauf hingewiesen, dass bisher nur lückenhaftes Wissen zu den Eigenschaften und Umweltwirkungen von GV-Pflanzen vorliege. Damit bestehe aktuell ein großer Forschungsbedarf im Bereich Risikoabschätzung, der nicht ausreichend durch Vorgenehmigungsforschung abgedeckt sei. Problematisch wird auch die Art der bestehenden Forschung angesehen (Benzler 2004, Middelhoff *et al.* 2005). Als Kritikpunkte werden genannt:

- meist zeitlich und räumlich eng begrenzte Versuchsdauer,
- Zielstellung ist häufig nicht auf die Erfassung von Umweltwirkungen ausgerichtet,
- Daten sind kaum auf großflächigen Anbau übertragbar,
- Versuchsaufbau ist nicht geeignet für den Nachweis von Randeffekten, pleiotropen Effekten oder von Effekten in höheren trophischen Ebenen.

Parallel dazu wird festgestellt, dass es keine ausreichenden Daten über den aktuellen Zustand der Normallandschaft (Fehlen eines bundesweiten Biodiversitätsmonitorings) als Referenz („baseline“) für das GVO-Monitoring gibt. Es wird akzeptiert, dass das Wissen aufgrund des ausgesprochen komplexen Themas immer Lücken im Bereich Ökologie und ökosystemarer Zusammenhänge aufweisen wird, so dass unvorhersehbare Ereignisse für möglich gehalten werden.

Baseline of Comparison – Vergleichs- und Kontrolldaten

Als Referenzzustand wird die **Ausgangssituation** in der Gesamtlandschaft Deutschlands **vor der Freisetzung** von GV-Kulturpflanzen festgelegt (zeitlicher Vergleich) (Züghart *et al.* 2005). Von Seiten des BfN wird gleichzeitig darauf hingewiesen, dass der Zustand der in großen Teilen agroindustriell genutzten Agrarlandschaft schon heute nicht mehr den Vorstellungen einer nachhaltigen Landwirtschaftspraxis entspricht. Somit müsste die Vergleichsbasis auch bei einem zeitlichen Vergleich erst noch genauer definiert werden. **Eine Festlegung auf den aktuellen Ist-Zustand wird als unzureichend abgelehnt.** Aufgrund der Zulassung von Freilandversuchen und des kommerziellen Anbaus von *Bt*-Mais (MON 810) seit 2004/2005 ist ein GVO-freier Referenzzustand z.T. schon heute nicht mehr zu erfassen.

Je nach Fragestellung wird ein räumlicher Vergleich von GVO und Nicht-GVO vorgezogen. Gentechnikfreie Regionen und/oder ökologisch sensible Gebiete (Großschutzgebiete etc.) könnten dabei als Vergleichsflächen dienen.

Bestehende bundesweite Monitoring-Programme

Zur Erfassung einer Vergleichsbasis bietet sich die Einbeziehung bestehender bundesweiter Monitoring-Programme an, insofern sie GVO-relevante Teilaspekte abdecken:

- **Biodiversitätsmonitoring** mit der **Ökologischen Flächenstichprobe**: Bundesweit bisher nur als Konzept ausgearbeitet (Dröschmeister 2001), lediglich in Nordrheinwestfalen umgesetzt. Wird von Seiten des BfN als Hauptbestandteil der Baseline und des GVO-Monitorings angesehen (Benzler 2004).
- **Boden-Dauerbeobachtungsflächen (BDF)**: Monitoring von Bodenfauna, Mikrobiologie, etc. Eine bundesweite Harmonisierung ist nötig (Huschek & Krenzel 2004).
- **Luftmessnetze**: Pollensammler – Monitoring der Ausbreitung von transgenen Pollen (Hofmann *et al.* 2005, VDI 4330-3 2005, VDI 4330-4 2005).
- **Vogelmonitoring**: Seit 2004 bundesweit einheitliche Erfassung von Vögeln in der Normallandschaft als Forschungsvorhaben finanziert.

Raumbezug

Der Agrarraum und angrenzende Habitate werden als ein wichtiger Raumbezug von verschiedenen Prüfpunkten angesehen. Andere Prüfpunkte müssen jedoch in der Gesamtlandschaft überwacht werden. Eine mögliche Anbindung des GVO-Monitorings an die naturräumlich stratifizierte Ökologische Flächenstichprobe (Schröder & Schmidt 2001) wäre besonders bei Beobachtungen in der Gesamtlandschaft sinnvoll.

Nach Ansicht des BfN sollte ein besonderes Augenmerk auch auf ökologisch sensiblen Gebieten als Zentren der Biodiversität liegen (Benzler 2004, Züghart *et al.* 2005). Da Auswirkungen auf Natura 2000-Gebiete in der UVP evaluiert werden müssen, wäre eine Einbeziehung in das GVO-Monitoring möglich, ist jedoch noch nicht geklärt (Benzler 2004). Für andere Schutzgebietskategorien fehlen rechtliche Grundlagen für Auflagen zum Inverkehrbringen und zum Monitoring von GVO (Menzel *et al.* 2005).

7.2.1.2 Konzeptentwicklung

Durch das F&E-Projekt „Konzeptionelle Entwicklung eines Monitorings von Umweltwirkungen transgener Kulturpflanzen“ (Züghart & Breckling 2003) wurden erstmals umfassende fachliche Grundlagen für ein Umweltmonitoring-Konzept erarbeitet. Inhalt waren v.a. die Entwicklung von Ursache-Wirkungshypothesen zu vier verschiedenen Modell-GVP und die Anbindungsmöglichkeiten an bestehende Überwachungsprogramme.

Auf dieser Basis hat die Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen“ ein Rahmenkonzept unter Federführung des UBA erstellt, das die Anforderungen der Freisetzungsrichtlinie aufnimmt, inhaltlich konkretisiert und Vorschläge für die Organisation des Monitorings macht (BLAG 2003). Dabei wurden Ziele, Handlungsfelder und relevante Prüfpunkte des Monitorings benannt. In einem nachfolgenden Umsetzungskonzept der Ad hoc-AG (2004) wird vorgeschlagen, bestimmte GVO-Prüfpunkte im Rahmen des Biodiversitätsmonitorings (ÖFS) umzusetzen. Middelhoff *et al.* (2005) konkretisierten dieses Konzept weiter.

Das GVO-Monitoring muss sich wie andere Umweltbeobachtungsprogramme auch mit zwei Bereichen beschäftigen: Zum Ersten mit der **Erfassung von Belastungen der Umwelt** durch menschliche Aktivitäten, in unserem Fall die Einführung der Agro-Gentechnik. Hierzu dienen Indikatoren wie z.B. die Verbreitung von Transgenen, Transgenkonstrukten oder Transgenkombinationen. Zum Zweiten mit **der Erfassung des Zustands der Umwelt**, der aus

den aktuellen und vergangenen Nutzungen natürlicher Ressourcen resultiert, mittels **Indikatoren**, deren **Veränderung** ein Maß für die Auswirkungen der Belastungen darstellt. Allgemein akzeptierte **Indikatoren** müssen im Bereich des GVO-Monitorings erst noch entwickelt und/oder abgestimmt werden.

7.2.1.3 Ursache-Wirkungshypothesen und Prüfpunkte

Umwelteffekte, die durch gentechnisch veränderte Pflanzen verursacht werden, können in allen trophischen Ebenen des Ökosystems auftreten (vgl. Menzel *et al.* 2005, VDI 4330-1 2005). Um schädliche Auswirkungen bewerten und den zu untersuchenden Bezugsraum festlegen zu können, sind **Schutzgüter und Schutzziele** zu definieren (GenTBeobV), deren Veränderungen quantitativ erfassbar sind. Aus den **Ursache-Wirkungshypothesen** ergeben sich dann bestimmte potentielle Beeinträchtigungen für Schutzziele und Schutzgüter (Züghart & Breckling 2003, Middelhoff *et al.* 2005, VDI 4330-1 2005).

Die Überwachung der potenziellen Beeinträchtigungen kann durch eine Auswahl relevanter **Prüfpunkte** gewährleistet werden. **Parameter** sind die eigentlichen Untersuchungsgrößen. Sie werden mit einer festgelegten **Methode** unmittelbar erhoben oder aus erhobenen Daten abgeleitet. **Indikatoren** stellen eine entwickelte und abgesicherte Verknüpfung von Prüfpunkt, Parameter und Methode dar (Middelhoff *et al.* 2005).

Die zentrale Grundlage des Konzeptes sind die Ursache-Wirkungshypothesen zu möglichen Wirkungen des Anbaus von GVO, die Prüfpunkten, Parametern und Schutzzielen zugeordnet sind (Tabelle 19). Die Hypothesen sind fünf Kategorien zugeordnet:

- fallübergreifende Hypothesen (H1-H11),
- Hypothesen zu herbizidresistentem (HR)-Raps (H12-H38),
- Hypothesen zu *Bt*-Mais (H39-H50),
- Hypothesen zu virusresistenten Zuckerrüben (VR-ZR.) (H51-H58),
- Hypothesen zu kohlenhydratmodifizierten –Kartoffeln (KH-Kart.) (H59-H63)

Tabelle 19: Ursache-Wirkungshypothesen und Prüfpunkte des GVO-Monitoringkonzepts nach Züghart und Breckling (2003, erweitert, aus: Middelhoff *et al.* 2005)

Schutz-ziele	Handlungsbereich/ Parametergruppe	Ursache-Wirkungs Hypothesen	Prüfpunkte	HR-Raps	Bt-Mais	VR-ZR.	KH-Kart.
Menschl. Gesundheit	Umweltwirkungen auf menschl. Gesundheit: Allergien über die Atemwege	Pollen der Kulturart können transgenvermittelt allergen wirken	Belastung: Verbreitung von Transgenen und Transgenkombinationen in Pollen Status: Frequenz und Verbreitung von Allergien der Atemwege		X		
Biodiversität, nachhaltige Landwirtschaft	Horizontaler Gentransfer (in Mikroorganismen, Viren), Auskreuzung (in Wildflora) und Verbreitung Verwilderungs- und Ausbreitungspotenzial der Kulturpflanze	Auf Grund von Transgenen oder Transgenkombinationen können Mikroorganismen (H5) und Kulturpflanzen in vorhersehbarer Weise (H59) oder durch einen spezifischen Selektionsvorteil (H19, H54) oder in unvorhersehbarer Weise (H2, H3) ihr ökologisches Verhalten so ändern, dass sie sich auf die Biodiversität der Pflanzenarten negativ auswirken (H1, H9). Die Einwirkung reicht räumlich und zeitlich über den GV-Anbau selbst hinaus bzw. wird verstärkt durch: 1.) horizontalen Gentransfer auf Grund des Auftretens von freier DNA im Boden (H4) und Gewässersedimenten sowie im Darm von Pflanzenfressern oder phyto- bzw. polyphagen Wirbellosen. Dies kann insbesondere durch die Integration bakterieller und viraler Sequenzen im Pflanzengenomverstärkt werden (H6). 2.) die Verbreitung der Transgene über Pollen (H15, H39, H51) zur Einkreuzung in Saatgutproduktion, GV-Anbau, nGV-Anbau, Durchwuchs und Wildpopulationen (H16, H40, H52) sowie über Samen (H12) wobei es zu einer Akkumulation von Transgenen (H7, H20) und anderen Wechselwirkungen (H8) auf genetischer Ebene kommen kann. 3.) das der Kulturarten eigene oder transgenvermittelte Potenzial, auf Anbauflächen in der Samenbank zu persistieren (Durchwuchs H14, H61, H62), dauerhaft (H13, H60) oder zeitweilig zu verwildern (H52) bzw. in direkt verwandte Wildarten (H17, H53) bzw. über Brückenarten in die weitere Pflanzenfamilie (H18) einzukreuzen	Belastung: Verbreitung von GVO-Anbau Verbreitung von Transgenen und –kombinationen - in Kulturpflanzen - in Kreuzungspartnern - in Pollen - im Boden - in Gewässersedimenten - Wirbeltierkot, Kläranlagen Status: Verhalten (Verwilderung, Ausbreitung und Etablierung) der transgenen Kulturpflanze Verhalten (Etablierung und Ausbreitung) der Hybride	X	X	X	X
Nachhaltige Landwirtschaft, Biodiversität	Allgemein	Der Anbau transgener Kulturpflanzen kann die Anbaupraxis und Anbauschwerpunkte verändern und damit Auswirkungen auf die Biodiversität im Agrarraum bzw. in der Landschaft haben (H10, H11).	Belastung: Landschaftsstrukturelle Diversität Anbautechnik	X	X	X	X
	Erhaltung von Kulturarten	Verbreitung der Transgene über Pollen (H15, H39, H51) zur Einkreuzung in Saatgutproduktion (auch verwandte Kulturarten) im Zusammenhang mit einer Akkumulation von Transgenen (H7, H20, H40). Über Durchwuchs aus transgenen Vornutzungen oder über transgene Samen sowie technische Vermischung kann auch Kartoffel betroffen sein	Belastung: Verbreitung von Transgenen und Transgenkombinationen im Saatgut	X	X	X	X

Schutz- ziele	Handlungs- bereich/ Para- metergruppe	Ursache-Wirkungs Hypothesen	Prüfpunkte	HR-Raps	Bt-Mais	VR-ZR.	KH-Kart.
	Verlust von Kulturarten- und Sortenvielfalt	Durch die Etablierung transgener Kulturarten und Sorten kann sich die Vielfalt im Anbau befindlicher Kulturarten und Sorten verringern.	Status: Anzahl und Zusammensetzung verwendeter Kulturarten und Sorten	X	X	X	X
	Herbizidresistenz- technik	Im Rahmen des Anbaus von HR-Raps kann die transgene Eigenschaft verbreitet werden (H17), überdauern (H14) und zu einem Selektionsvorteil führen (H19), wodurch sich der Herbizidaufwand zunehmend erhöhen kann (H20, H21). Herbizidanwendung kann zu einer Verringerung von Biodiversität in Agrarsystem und –raum führen (H22, H23, H24, H25, H26)	Zustand der Ackerbegleitflora, der Acker- randflora und der Diasporenbank Indirekte Wirkung auf Pollenfresser/ Blüten- besucher unter den Wirbellosen	X			
	Terrestrische Wirbellosenfauna	Transgene Kulturpflanzen können - durch veränderte (H63) oder (selektiv) toxische (H42, H43, H45) Inhaltsstoffe, über direkte (H32) oder indirekte Wirkungen (H28, H29) von Herbizidanwendungen oder durch unvorhersehbare neue Eigenschaften (H2, H3) das Phytophagenspektrum verändern. - über den verbreiteten (H39) Pollen mit(selektiv) toxischen (H42, H43, H45) Inhaltsstoffen pollenfressende Wirbellose innerhalb und außerhalb des Anbaus schädigen (H45). Veränderungen im Spektrum und der Abundanz von Phytophagen (H30, H46, H63) sowie direkte (H32, H45) oder indirekte (H44) transgen- oder biozidvermittelte toxische Wirkungen können sich auf Antagonisten sowie das Gefüge Transgen- oder herbizidvermittelte Wirkung auf phytophage Zielarten an der Kulturart und weiterer Nahrungsnetze (H9) auswirken. Reduktion der Ackerbegleitflora kann zu Bestandsveränderungen der körner- und pflanzenfressenden Wirbeltiere führen (H31)	Transgen- oder herbizidvermittelte Wirkung auf phytophage Zielarten an der Kulturart und an Beikräutern bzw.	X	X	X	X
			auf pollenfressende Wirbellose.		X		
	Wirbeltierfauna	Indirekte Wirkungen auf Antagonisten unter den Wirbellosen	X	X	X	X	
	Wirkung des durch Reduktion der Begleitflora reduzierten Samenangebot bzw. der durch Pflanzeninhaltsstoffe oder Herbizide veränderten Wirbellosenfauna auf Wirbeltiere (verschiedene Stufen der Nahrungskette)	X	X	X	X		
Bodenfunktionen	Rückstandsanalysen	Durch HR-Technologie kann sich der Herbizidaufwand zunehmend erhöhen, mit toxischen Wirkungen auf die Bodenmikroflora und -fauna (H21, H24, H32, H33). Das Bt-Toxin kann im Boden persistieren, akkumulieren und biologisch wirksam bleiben (H47)	Belastung: Gehalt von Genprodukten bzw. Bioziden im Boden	X	X		
	Erfassung der Bodenerosion	Die HR-Technik kann die Wirksamkeit von Faktoren ändern, die Erosion auf dem Acker beeinflussen (H35).	Wirkung der reduzierten Beikrautflora auf Bodenerosion	X			
	Bodenphysikalische und –chemische Parameter	Durch direkte oder indirekte Wirkung von Herbizidanwendungen (H32, H33), transgenvermittelte toxische (H48), vorhersehbare (H63) oder unvorhersehbare (H2, H3) Veränderungen der pflanzlichen Nahrungsquellen (Inhaltsstoffe, Wurzelasscheidungen, Menge o. ä.) können Artenzusammensetzung der Mikroorganismen und Wirbellosen im Boden direkt verändert werden.	Status: Indirekte Wirkungen bzw. Wirkung der HR-Strategie auf Bodenphysik und Chemie	X	X	X	X
	Bodenmikrobiologische Parameter	Mikroorganismen können mit Pflanzentransgenen auf genetischer Ebene in Wechselwirkung treten (H6), Transgene aufnehmen (H4) oder aufgenommene Transgene verändern und so ihr ökologisches Verhalten in unvorhersehbarer Weise ändern (H5), einen Konkurrenzvorteil erlangen	Transgen- bzw. biozidvermittelte toxische oder andere Auswirkungen oder durch veränderte genetische Ausstattung herbeigeführte Änderung von Zusammensetzung und Funktionen von Mikroorganismen	X	X	X	X

Schutz-ziele	Handlungsbereich/ Parametergruppe	Ursache-Wirkungs Hypothesen	Prüfpunkte	HR-Raps	Bt-Mais	VR-ZR.	KH-Kart.
	Bodenzoologische Parameter	(H38) oder pathogenes Potenzial (wieder)entwickeln (H4, siehe Hinweise zu säugerpathogenem Hintergrund von Bt (Bt-Mais)). Die veränderte Artenzusammensetzung und Funktionen der Bodenmikroorganismen kann sich indirekt auf das weitere Gefüge des Nahrungsnetzes (Bodenzoologie H3, H5) und die Bodenfunktionen auswirken (H5, H34).	Transgen- bzw. Herbizidvermittelte toxische oder andere Auswirkungen auf Zusammensetzung und Funktionen der Bodenfauna	X	X	X	X
Gewässer	Oberflächengewässer und Grundwasser	Im Rahmen der HR-Technologie kann sich der Herbizidaufwand zunehmend erhöhen (H21, H24, H32, H33), wobei die Herbizide (H36) in Gewässer ausgewaschen werden können. Beim großflächigen Anbau von Bt-Mais kann es zum Eintrag und Anreicherung von Toxinen in Gewässern kommen (H49). Herbizide bzw. Toxin können die im Wasser lebenden Organismen schädigen (H37, H50).	Belastung: Gehalt von Genprodukten bzw. Bioziden in Gewässern Status: Wirkung von Genprodukten bzw. Bioziden in Gewässern auf in Gewässern lebende Organismen	X	X		
Pflanzenschutz	Phytopathogene Wirbellose	Kulturpflanzen (bzw. deren DNA) können transgenbedingt auf genetischer Ebene in Wechselwirkung mit Mikroorganismen und Viren treten (H6), wobei: 1.) Mikroorganismen Transgene aufnehmen (H3) und ihr ökologisches Verhalten in unvorhersehbarer Weise ändern können (H4). In beikrautarmen Rapsfeldern fressen Phytophage vermehrt an der Kulturpflanze (H27). Eine Reduzierung der Maiszünslerpopulationen kann zu Verschiebungen des Phytophagenspektrums im Maisfeld führen (Sekundärschädlinge, H41). Veränderungen im Kohlenhydratspektrum der Kartoffeln können zu Verschiebungen im Phytophagen- und Phytopathogenspektrum führen (H63).	Befall der Kulturpflanze mit phytopathogenen Wirbellosen	X	X		X
	Virale Phytopathogene	2.) durch Rekombination können neue Viren mit unbekanntem Eigenschaften entstehen (H55, H56). Bei einem Befall der Pflanzen mit anderen Viren als BNYVV kann es transgenbedingt zu heterologer Enkapsidierung oder Synergien kommen, die ein verändertes Verhalten von viralen Phytopathogenen nach sich ziehen (H57, H58).	Befall durch virale Phytopathogene und Befallsausprägungen an Kulturpflanze und Kreuzungspartnern			X	

H1-H11 fallübergreifende Hypothesen,
H12-H38 Hypothesen zu herbizidresistentem (HR)-Raps,
H39-H50 Hypothesen zu Bt-Mais,
H51-H58 Hypothesen zu virusresistenten Zuckerrüben (VR-ZR.),
H59-H63 Hypothesen zu kohlenhydratmodifizierten –Kartoffeln (KH-Kart.)

7.2.1.4 Stand der Umsetzung

Definition der Prüfpunkte

Zum jetzigen Zeitpunkt kann die Ableitung von Prüfpunkten im Konzept des BfN als abgeschlossen angesehen werden.

Erstellung eines Monitoringplans

Der nächste Schritt besteht in der Ableitung und Entwicklung von Parametern. Dieser Schritt ist für verschiedene Prüfpunkte unterschiedlich weit gediehen. Die empfohlene ziel- oder problemorientierte Vorgehensweise (auch als top-down-Ansatz bezeichnet) orientiert sich an der von Schönthaler *et al.* (2003) beschriebenen ökosystemaren Umweltüberwachung. Parallel dazu entwickelt der VDI Richtlinien (4330, Blatt 1-10), die einen Mindeststandard bei der Anwendung von Methoden in Monitoringkonzepten festschreiben sollen. Middelhoff *et al.* (2005) präzisieren den Umfang, der für jeden Prüfpunkt festgelegt werden sollte:

- Parameter (Erhebungsgegenstand oder -gegenstände und Messgröße(n)),
- Methode (definiertes Vorgehen, Standardisierung, Auswertungsstatistik),
- Erhebungsdesign (Ansatz: z.B. Beobachtungsmessnetz oder Variantenvergleich (z.B. zwischen GVO ⇔ nicht GVO), räumliche Repräsentanz und statistische Aussagekraft,
- Messnetz (Organisation, Personal),
- Auswertung (Statistik und Repräsentanz) und
- Bewertung (Relevanz der Ergebnisse im Bezug auf mögliche GVO-Wirkungen, die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen oder einer Modifikation der Erhebung).

Die Charakterisierung der Belastungssituation in Bezug auf die Transgenverbreitung kann als klar definierter Prüfpunkt betrachtet werden. Noch zu definieren ist ein Probenahmedesign, das mit geringem Aufwand ein aussagekräftiges Bild über Verbreitungswege und -frequenzen liefert. Die Entwicklung insbesondere der biotischen Wirkparameter steht dagegen noch weitgehend am Anfang. Die Schwierigkeiten bestehen hier neben der Identifikation geeigneter Arten oder Artengruppen vor allem in der naturgemäß großen räumlichen und zeitlichen Variabilität, so dass der notwendige Erhebungsumfang erprobt werden muss. Nach der Einschätzung von Middelhoff *et al.* (2005) könnten viele Prüfpunkte des GVO-Monitorings durch das Biodiversitätsmonitoring ÖFS abgedeckt werden, da ein zentrales Schutzziel beider Monitoringkonzepte der „Erhalt der Biodiversität“ ist.

Datenverwaltung, Datenbank

Als letzter Schritt eines GVO-Monitorings muss parallel zur Entwicklung der einzelnen Parameter ein System geschaffen werden, das die wissenschaftliche Ableitung und Bewertung der Hypothesen, Parameter und Methoden transparent macht, alle Beteiligten bei der problemgeleiteten Aufstellung eines angepassten Prüfplanes mit relevanten Prüfpunkten, Parametern und Methoden unterstützt, die notwendigen Daten strukturiert zur Verfügung stellt, sowie den Monitoring-Vollzug und die Auswertung und Bewertung der Ergebnisse ermöglicht.

Tabelle 20: Übersicht über die Umsetzungsmodulare eines GVO Monitorings, ihre Zuordnung zu Schutzziele und die enthaltenen Prüfpunkte, aus Middelhoff *et al.* (2005), verändert.

Umsetzungsmodul	Schutzziel (Problembereich)	Prüfpunkt
Module, die sich zur Umsetzung in der ÖFS eignen		
1 Transgen-Screening I	Umwelt (Belastungssituation)	Verbreitung und Gehalt von Transgenen und –kombinationen in Kulturpflanzen Kreuzungspartnern Saatgut (anderer Erhebungszusammenhang) Pollen (ggf. anderes Messnetz) Boden (siehe Boden) Gewässer/-sedimente (siehe Gewässer) Verbreitung von GVO-Anbau (anderes Messnetz)
2 Flora und Vegetation	Erhalt der Biodiversität, nachhaltige Landwirtschaft (Invasivität)	Verhalten (Verwilderung, Ausbreitung und Etablierung) der transgenen Kulturpflanzen Verhalten (Etablierung und Ausbreitung) der Hybride Zustand der Ackerbegleitflora, der Ackerrandflora und der Diasporenbank
3 Fauna I	Erhalt der Biodiversität, nachhaltige Landwirtschaft (Kumulative Nahrungsketteneffekte, Endstufen)	Wirkungen auf beikraut-, samen- und insektenfressende Wirbeltiere und ihre Prädatoren
4 Fauna II	Erhalt der Biodiversität, nachhaltige Landwirtschaft (Herbizidresistenztechnik, toxische und andere Wirkungen auf Phytophage, Verbreitung von toxisch wirkenden Substanzen, kumulative Nahrungsketteneffekte)	Direkte Herbizidwirkung auf Wirbellose Indirekte Wirkung auf Pollenfresser/ Blütenbesucher unter den Wirbellosen Indirekte Wirkung auf phytophage Zielarten an Beikraut Transgenvermittelte Wirkung auf Phytophage Zielarten an der Kulturart Transgenvermittelte Wirkung auf pollenfressende Wirbellose Indirekte Wirkungen auf Antagonisten unter den Wirbellosen
5 Boden	Erhalt der Bodenfunktionen (bodenphysikalische, –chemische, –mikrobiologische, –zoologische Parameter) / Umwelt (Basisdaten Belastungssituation)	Belastung: Gehalt von Transgenen, Genprodukten bzw. Bioziden im Boden. Status: Indirekte Wirkungen bzw. Wirkung der HR-Strategie auf Bodenphysik und Chemie Transgen- bzw. biozidvermittelte toxische oder andere Auswirkungen, durch veränderte genetische Ausstattung herbeigeführte Änderung von Zusammensetzung und Funktionen von Mikroorganismen, Transgen- bzw. Herbizidvermittelte toxische oder andere Auswirkungen auf Zusammensetzung und Funktionen der Bodenfauna
6 Gewässer	Schutz der Gewässer (Toxische Wirkungen) / Umwelt (Basisdaten Belastungssituation)	Gehalt von Transgenen, Genprodukten bzw. Bioziden in Gewässern und/oder Sedimenten. Wirkung von Genprodukten bzw. Bioziden in Gewässern auf in Gewässern lebende Organismen
7 Biotopstrukturen	Umwelt (Basisdaten Belastungssituation)	Landschaftsstrukturelle Diversität
Module zur Umsetzung in anderen medialen Erfassungszusammenhängen		
8 Transgen-Screening II	Umwelt (Belastungssituation <i>in Vektoren</i>)	Qualitative und quantitative Analyse von Honig, Kompost, Klärschlämmen und Magen/Darminhalt bzw. Ausscheidungen von Wildtieren
9 Vielfalt von Kulturarten und Sorten	Nachhaltige Landwirtschaft, Erhalt der Biodiversität (Verlust von Kulturarten- und Sortenvielfalt)	Anzahl und Zusammensetzung verwendeter Kulturarten und Sorten
10 Pflanzenkrankheiten, Resistenzentwicklung Anbautechnik	Pflanzenschutz (phytopathogene Wirbellose, virale Phytopathogene, Resistenzentwicklung) / Umwelt (Basisdaten Belastungssituation)	Befall der Kulturpflanze mit phytopathogenen Wirbellosen Befall durch virale Phytopathogene und Befallsausprägungen an Kulturpflanze und Kreuzungspartnern Aufreten von behandlungsresistenten Schadinsekten, Durchwuchs, Ackerbeikräutern Anbautechnik
11 Allergieregister	Menschl. Gesundheit (Umweltwirkungen auf menschl. Gesundheit: Allergien über Atemwege)	Frequenz und Verbreitung von Allergien der Atemwege

Aktuell wird die Struktur für ein solches Content-Management-System in dem bis 2006 laufenden F&E-Projekt „Systemanalyse und Ausgestaltung eines Informationssystems zum GVO-Monitoring“ (ISMO) u.a. an der Universität Bremen für das BfN entwickelt. Es soll ein für externe Benutzer (z.B. Länderbehörden) offenes System sein, das bei neuen Erkenntnissen

oder GV-Organismen entsprechend flexibel erweitert oder umgestaltet werden kann. Eine Realisierung dieses Informationssystems ist relativ zeitnah geplant, da es innerhalb des BfN für den Monitoring-Vollzug nach Inverkehrbringen von GVO gedacht ist.

Monitoringplan

Ein vergleichsweise detailreicher Entwurf eines Umsetzungskonzeptes (Middelhoff *et al.* 2005) enthält elf Module (Tabelle 20). Von diesen lassen sich sieben ganz oder teilweise im Messnetz der ÖFS durchführen, wenn einige spezifische GVO-Erweiterungen eingeführt werden. Die anderen Module könnten ganz oder teilweise in anderen bestehenden Messnetzen durchgeführt werden, z.T. ebenfalls mit GVO-spezifischen Erweiterungen, oder könnten von dort relevante Daten beziehen. Im folgenden Abschnitt sollen beispielhaft Parameter der Module Transgen-Screening I/II und Fauna I/II genauer dargestellt werden.

Beispiel 1: Umsetzungsmodul Transgen-Screening I und II

Das **DNA-Screening** verschiedener Medien und Organismen stellt nach Einschätzung der VDI-Richtlinie 4330 Blatt 1 Basisdaten bzw. Hintergrundinformationen über Verbreitung, Persistenz und Akkumulation von Transgenen in der Umwelt zur Verfügung. Das heißt, es stellt potentielle Indikatoren für die flächige Belastungssituation mit Transgenen zur Verfügung. Zur Zeit werden alle oben genannten relativ einfach zu erfassenden Parameter des Moduls - Transgenscreening I (Tabelle 21) und der Parameter Honigbeprobung aus dem Modul Transgenscreening II (Tabelle 22) in Pilotstudien evaluiert oder in einzelnen Bundesländern getestet.

Pollenmonitoring mittels Transgen-Screening

Im F&E-Projekt „Pollenmonitoring“ (Hofmann *et al.* 2005) wurden Methoden für ein standardisiertes **GVO-Pollenmonitoring** evaluiert. Die Autoren halten den kombinierten Einsatz des technischen Pollenakkumulators Sigma-2 mit PMF (=direkte Belastungssituation) und Honig als biologischem Pollenakkumulator (=Belastungssituation von Vektoren) für sinnvoll, da beide Indikatoren sich zur Quantifizierung des Polleneintrags und Bestimmung des GVP-Anteils eignen. Damit ließe sich die Ausbreitung von GVO von bekannten Quellen aus (Anbauflächen) über die Landschaft nachweisen, um die Belastungssituation ortgenau und flächendeckend mittels Simulationsmodellen zu berechnen. In einer Pilotstudie auf 72 Standorten wurden 2001 Raps-, Mais-, und im technischen Pollensammler auch Zuckerrübenpollen nachgewiesen. GV-Kartoffeln wurden nicht beprobt.

Aktuell werden auf der Grundlage dieses Vorhabens und weiterer Projekte durch den VDI Richtlinien zum standardisierten Pollenmonitoring entworfen (VDI 4330-3-4). In Nordrhein-Westfalen wurde 2004 eine erste **Praxiserprobung an drei Standorten** des Wirkungsdauermessprogramms NRW gemäß dieser Richtlinien durchgeführt (mdl. Mitteilung Fiebig 2005). Die Probenahme an den technischen Sammlern erfolgte durch den Sigma-2-Sammler alle zwei, durch den PMF-Sammler alle vier Wochen im Zeitraum Juni bis September im Rahmen von Routinefahrten durch das Landesumweltamt. Grundsätzlich ist es möglich, Probenmaterial in noch höherer zeitlicher Auflösung zu erhalten (bis zu wöchentlichen Intervallen). Für flächenrepräsentative Aussagen wurden Honigproben standortnahen Imkern bzw. Wanderimkern angekauft. Die Aufbereitung sowie die mikroskopische Analyse und PCR-Analyse der Pollen- und Honigproben (incl. Referenzproben) erfolgte durch externe Firmen. Dabei wurden Routineverfahren angewandt, die eine qualitative Erhebung aller unterscheidbaren Pflanzenpollen mit einem Anteil über

Tabelle 21: Transgenscreening I (Belastungssituation in Pflanzen): Prüfpunkte, Parameter und mögliche Umsetzung von zentralen Belastungsfaktoren des GVO-Monitorings; aus Middelhoff *et al.* (2005), verändert.

Prüfpunkt	Verbreitung von GVO-Anbau	Verbreitung von Transgenen und Transgenkombinationen in:		
		Kulturpflanze und Kreuzungspartnern	Saatgut	Pollen
Parameter	Erhebung von GVO-Anbauflächen (Zeitpunkt, Lage, Geometrie, GVO)	Entnahme von Blattsammelproben und deren qualitative wie quantitative Analyse	Entnahme von Samen(sammel-)proben und deren qualitative und quantitative Analyse	Entnahme von Pollen(sammel-)proben und deren qualitative und quantitative Analyse
Raumbezug	Flächendeckend			
Frequenz	kontinuierlich	5 Jahre (gestaffelte Beprobung), ggf. jährlich	Jährlich 20-50 Proben pro Bundesland	Mindestens während Blühperiode der Kulturpflanzen, besser ganzjährig: 6-7 Proben
Methode	Mindestanforderungen werden gesetzlich festgelegt	Probenahme-protokoll NRW, Analytik: PCR, Chip-Technologie, Real time PCR	Probenahme-methoden*, Analytik: PCR, DNA-Chip-Technologie, Real time PCR	Pollensammler (Sigma-2 mit PMF), Analytik: PCR, DNA-Chip, Real time PCR, automatische Bildanalyse
Messnetz / mögliche Umsetzung im Rahmen von	GVO-Anbauregister	Floristische Kartierung der ÖFS	Überwachung des Saatgutverkehrsgesetzes	Pollenmessnetze: (z.B. Dt. Wetterdienst, Immissions-messnetz)

0,1% und eine automatische Analyse (Arten und Anzahl) vorsehen. Die Ergebnisse bestätigen die von Hofmann *et al.* (2005) gemachten Aussagen:

- Artansprache und Mengenauswertung der Pollen mittels automatischer Analyse der Sigma 2-Proben sind noch unbefriedigend,
- visuell sind Raps- und Maispollen in PMF und Sigma-2 nachweisbar,
- Vergleiche der Sammelergebnisse PMF / Sigma-2 und Honig zeigen Unterschiede zwischen Pollenfluss, –deposition und Sammelrate, so dass eine getrennte Erfassung sinnvoll erscheint,
- die qualitative PCR-Analytik ist ausreichend entwickelt, es konnten Transgenkonstrukte nachgewiesen werden.

Der Nachweis von Transgenkombinationen (mehrere Transgene in einem Individuum) ist nach Middelhoff *et al.* (2005) in Pollen im Gegensatz zu Blatt- und Samenproben nur mit hohem Aufwand zu führen.

Beim **Honig-Monitoring** gehen Hofmann *et al.* (2005) davon aus, dass durch das flächendeckende Netz der Imker ein effektives und kostengünstiges Monitoring möglich sein dürfte (zu Kosten vgl. 7.2.1.5). Sie schätzen aufgrund von statistischen Erwägungen, dass ein Pollenmonitoring aus einem Basismessnetz von ca. 500 bis 1000 Standorten bestehen müsste. Eine flächenhafte Umsetzung bei ganzjähriger Beprobung wäre sinnvoll, doch ist damit in absehbarer Zeit nicht zu rechnen. Die Möglichkeit, das Monitoring auf repräsentative

Tabelle 22: Belastungssituation von Vektoren: Prüfpunkte, Parameter und mögliche Umsetzung von zentralen Belastungsfaktoren des GVO-Monitorings im Modul – Transgenscreening II, aus Middelhoff et al. (2005), verändert.

Prüfpunkt	Verbreitung von Transgenen und Transgenkombinationen in Vektoren:		
	Honig	Kompost	Klärschlamm, Magen/Darminhalt bzw. Ausscheidungen von Wildtieren
Parameter	Qualitative und quantitative Analyse von Honig	Qualitative und quantitative Analyse von Kompost	Qualitative und quantitative Analyse von Klärschlämmen, Magen/Darminhalt bzw. Ausscheidungen von Wildtieren
Raumbezug	flächendeckend		
Frequenz	2 x jährlich	jährlich	jährlich
Methode	*PCR, DNA-Chip-technologie, Real time PCR (z.B. TaqMan™ – Assay)	PCR, DNA-Chip-technologie, Real time PCR (z.B. TaqMan™ – Assay)	PCR, DNA-Chip-technologie, Real time PCR (z.B. TaqMan™ – Assay)
Messnetz / mögliche Umsetzung im Rahmen von	Probenahme im Rahmen der Lebensmittelüberwachung, Aufbau eines „Imker-Netzes“	Probenahme im Rahmen der Klärwerksanalytik	Probenahme im Rahmen der Lebensmittelüberwachung, Fleischschau/Tierkörper-/Jagdanalytik

* Zur Eignung von Honig und Analytik für ein GVO-Monitoring siehe Hofmann et al. (2005)

Teilgebiete zu beschränken, untersucht derzeit ein Forschungs-Projekt in Bayern (Kuhlmann & Beismann 2004). Mit einer entsprechenden Methode wäre es möglich, Pollensammler bei räumlichen Vergleichen oder regionalen Fragestellungen einzusetzen.

Monitoring von Pflanzenmaterial mittels Transgen-Screening

Bisherige Konzepte sehen Sammelproben für ein **Pflanzen-Transgen-Screening** vor. Allerdings erschweren Sammelproben den Nachweis von Transgenkombinationen (Middelhoff *et al.* 2005). Deshalb wurden bei der in NRW angewandten Beprobungsmethode kleinere Sammelproben (100 Pflanzen) getrennt nach Population und Art genommen. Kommt es in Sammelproben zum Nachweis von ein (oder mehreren) Transgenkonstrukten, soll die DNA-Analyse zunächst getrennt nach Populationen und anschließend nach Individuen durchgeführt werden. Middelhoff *et al.* (2005) empfehlen die Beprobungsfrequenz von einem fünf-jährlichen auf einen jährlichen Turnus umzustellen, nachdem die ersten transgenen Wildpflanzen aufgetreten sind.

Der unzweifelhafte **Nachweis von Transgenkonstrukten** mittels PCR kann allerdings sehr **schwierig** sein, wie das Beispiel der in Mais-Landrassen nachgewiesenen Transgen-Promotoren zeigt (Quist & Chapela 2001). Diese Studie wurde wegen ihrer Methodik kritisiert, so dass der Herausgeber von *Nature* sich schließlich von den Ergebnissen distanzierte (Editor 2002, vgl. aber Quist & Chapela 2002). Neben dem Nachweis spezifischer DNA-Sequenzen mittels PCR gibt es eine Reihe weiterer Methoden, die zum qualitativen oder quantitativen Nachweis von Transgenen herangezogen werden können (Stewart 2005). Die gegenwärtig am weitesten entwickelte Methode ist die GFP-Markierung (*green fluorescent protein*); hierbei wird ein fluoreszierendes Protein gebildet, das nach UV-Bestrahlung fluoresziert. Die Methode ist zum Einsatz mittels Fernerkundung geeignet und daher für ein flächendeckendes Monitoring prädestiniert.

Beispiel 2: Umsetzungsmodul Fauna I (Brutvögel) und Fauna II (Tagfalter und Laufkäfer)

Aufbauend auf der Auswahl von potentiell geeigneten Tierarten und Artengruppen für ein Monitoring von Züghart & Breckling (2003) prüften Middelhoff *et al.* (2005) ausschließlich ganze Familien oder Ordnungen auf ihre Eignung als potentielle Indikatoren. Artenlisten potentieller Indikator-Arten und funktioneller Artengruppen im terrestrischen Bereich legten auch Hilbeck & Meier 2005 im F&E-Projekt „Biotische Wirkungsakkumulatoren und Erhebungsmethoden für das GVO-Monitoring“ vor.

Wirbeltier-Monitoring

Middelhoff *et al.* (2005) schlagen für das Umsetzungsmodul Fauna I die Erhebung der Artengruppe „**Brutvögel**“ vor. Da Brutvögel auch Bestandteil des Biodiversitätsmonitorings der ÖFS seien, biete sich eine Überwachung dieses Parameters im Rahmen der ÖFS an. 2004 begann der Dachverband deutscher Avifaunisten (DDA) und andere Verbände in ehrenamtlicher Arbeit in einem vom BfN geförderten Projekt ein bundesweites Vogel-Monitoring der Normallandschaft. Hier werden die Flächen der ÖFS genutzt. Bisher konnten ca. 60% der bundesweiten ÖFS-Flächen erstmals erfasst werden (mndl. Mitteilung Dröschmeister 2005). Nach Abschluss der Förderung 2006 wollen die Verbände das Monitoring dauerhaft weiterführen.

Hilbeck & Meier 2005 evaluierten einzelne Vogelarten auf ihre Eignung als potentielle Indikatoren für vier GVO-Kulturarten. Für ein deutschlandweites GVO-Monitoring eignet sich nur eine begrenzte Zahl von Vögeln als Indikatoren, die entweder kulturarten-unspezifisch (Sperber, Waldohreule, Mäusebussard) und/oder kulturarten-spezifisch (Feldlerche, Goldammer, Schafstelze, Feldsperling, Rebhuhn, Kiebitz) einsetzbar sind.

Wirbellosen-Monitoring, Tagfaltermonitoring

Das von Middelhoff *et al.* (2005) konzipierte Modul Fauna II bezieht sich auf Wirbellose und umfasst aus der Gruppe der Arthropoden die Artengruppen Tagfalter und Laufkäfer als potentielle Indikatoren für die Überwachung der Schutzziele „Nachhaltige Landwirtschaft“ und „Erhalt der Biodiversität“. Während das **Tagfalter-Monitoring** von mehreren Expertengruppen als relevant angesehen wird, werden Laufkäfer z.T. als ungeeignete Indikatorgruppe angesehen (Hilbeck & Meier 2005).

Tagfalter können im Rahmen des GVO-Monitorings von Wirbellosen vier Prüfpunkte abdecken:

- 1) direkte transgenvermittelte Wirkung auf Pollensammler und Pollenfresser,
- 2) direkte transgenvermittelte Wirkung auf Herbivore,
- 3) indirekte Wirkung der Herbizidresistenztechnik auf Pollenfresser und Blütenbesucher,
- 4) indirekte Wirkung auf Herbivore an Beikräutern.

Da sie als Adulte gleichzeitig einen hohen kulturellen Status aufweisen und im Vergleich gut erfasst werden können, haben sie einen hohen Stellenwert als Summenindikator. Für Tagfalter wäre die Erfassung von Populationsparametern (z.B. Altersstruktur, Populationsgröße) zwar am aussagekräftigsten, doch müssen sie aus

Kostengründen verworfen werden. Stattdessen empfehlen Hilbeck & Meier (2005) Häufigkeit von Arten, Individuensummen und Artenzahl zu erheben. Als Methode bietet sich z.B. im Messnetz der ÖFS-Flächen eine **flächenbezogene standardisierte Transektkartierung** der Adulten an, wie sie für das britische „Butterfly Monitoring Scheme“ oder das bundesweite Tagfalter-Monitoring (<http://www.tagfalter-monitoring.de/>) entwickelt wurde.

Empfehlungen

Prüfungsphase vorschalten. Nach der Entwicklung von Monitoring-Methoden müssen diese zuerst in Pilotstudien in geringer Wiederholungszahl auf bestimmte Prüfpunkte wie Methodik, Zeitaufwand oder Kostenkalkulation untersucht werden. Anschließend sollte in einer Pilotphase mit vollem Stichprobenumfang die Variabilität und die Ursachen der Variabilität (z.B. Mitarbeiterfehler) überprüft werden, um den Beprobungsumfang für die Monitoring-Phase zu optimieren.

Gestaffelte Erhebung. Eine Staffelung der Gesamtprobe auf vier bis fünf aufeinander folgende Jahre wird empfohlen. Damit würde die Variabilität der Daten aufgrund von Jahresunterschieden abschätzbar werden und sich der jährliche Kostenaufwand deutlich reduzieren.

Schwellenwerte. Bisher fehlt eine Definition von ökologisch (ökologischer Schaden) oder kulturell (z.B. naturschutzpolitisch, Beliebtheit) relevanten Schwellenwerten. Von der IUCN (2001) werden für die Einstufung von Einzelarten in Gefährdungskategorien Einschätzungen vorgenommen, die möglicherweise auch für ein GVO-Monitoring als Ausgangspunkt dienen können. Dabei wird ein Rückgang der Bestandesgröße einer Art um 30% innerhalb von 10 Jahren mit unbekannter Ursache als Schwellenwert für die Rote-Liste-Relevanz („Vulnerable“) von weit verbreiteten Arten angesehen. Zur Bestimmung der Stichprobenzahl ist eine Festlegung von Schwellenwerten, d.h. von nachzuweisenden Veränderungen, zu Beginn des Monitorings vorzunehmen, die mit zunehmendem Wissen angepasst werden muss. Eine Erweiterung des Monitoringkonzeptes auf andere gentechnische Pflanzenarten oder Tierarten fehlt noch völlig.

7.2.1.5 Kosten

Kostenschätzungen zu einzelnen Parametern im Rahmen eines kulturartenspezifischen GVO-Monitorings von Raps und Mais wurden von Hilbeck & Meier (2005) vorgestellt. Die Ad hoc-AG (2004) berechnete die Kosten erstmals für Teile eines ÖFS-Monitorings mit GVO-Erweiterungen. Middelhoff *et al.* (2005) stellten für die Durchführung eines GVO-Monitorings im Messnetz der ÖFS eine bundesweite Gesamtschätzung für einen Erhebungsdurchgang von 5 Jahren auf der Grundlage dieser und weiterer Quellen auf (Tabelle 23).

Tabelle 23: Kosten für eine Stichprobe und für einen vollständigen Erhebungsturnus von 5 Jahren von verschiedenen Elementen eines GVO-Monitorings. (aus Hilbeck & Meier 2005, Middelhoff *et al.* 2005, Hofmann, mndl. Mitteilung Juni 2005 - Pollenmonitoring).

Prüfpunkt / Messnetz	Parameter	Messgröße	Stichproben Gesamt (n)	Geographische Räume (n)	Kosten/ Wh (€)	Kosten/ 5 Jahre (€)	Startkosten (€)
Basisdaten, Landschafts- und Biotopqualität / ÖFS	Biotoptypen	Vorkommen, Abundanz	Σ 1000	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1375	1375000	1100000
Belastung mit Transgenen / ÖFS, DWD, eigenes Netz	Pollenmonitoring Luft	Nachweis des transgenen Konstrukts, Verbreitung, Dichte	Σ 1000	1 (Stratifizierung je nach Fragestellung)	1400	7000000	140000
Belastung mit Transgenen / Imker + Ergänzungen	Pollenmonitoring Honig	Nachweis des transgenen Konstrukts, Verbreitung, Dichte	Σ 1000	1 (Stratifizierung je nach Fragestellung)	400	1600000	40000
Belastung mit Transgenen / ÖFS	Kartierung von Kreuzungspartnern von Raps	Nachweis des transgenen Konstrukts, Verbreitung, Dichte	Σ 1000	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1250	1250000	30000-50000
Biodiversität, direkte Effekte der Herbizidtoleranztechnik / ÖFS	Blütenpflanzen ¹		Σ 1000	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1000	1000000	30000-50000
Biodiversität, direkte und indirekte Effekte auf Nahrungskette / ÖFS	Brutvögel	Abundanz, Artenzahl (auch Nahrungskettenendglieder, körnerfressende Herbivoren, etc.)	Σ 1000	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1875	1875000	30000-50000
Biodiversität, direkte und indirekte Effekte von Toxinen und Herbizidresistenztechnik / ÖFS	Laufkäfer	Artenzahl, Abundanz	Σ 840	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1120	940000	30000-50000
Biodiversität, direkte und indirekte Wirkungen von Toxinen und Herbizidresistenztechnik / ÖFS	Tagfalter	Abundanz, Artenzahl Tagfalter gesamt und funktionelle Gruppen	Σ 360	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1540	554000 ²	40000
Biodiversität, indirekte Effekte der Herbizidresistenztechnik / ÖFS	Perlmutterfalter	Vorkommen, Abundanz	Σ 760	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	1420	1080000	40000
Biodiversität, direkte Effekte auf herbivore Wirbellose an der Kulturart / ÖFS	Kohlschoten- & Rapsstängelrüssler	Vorkommen, Abundanz	Σ 1008	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	Unterschiedlich	1300000	50000
Biodiversität, direkte Effekte auf herbivore Wirbeltiere / ÖFS	Waldmaus	Abundanz	Σ 300	21 Standorttypen in 6 Landschaftsräumen	2340	700000	30000

¹ Basisvariante der ÖFS. Keine GVO-Fragestellung; ² Realisierung in 6 Landschaftsräumen in je 60 Flächen des bestehenden ÖFS-Netz. Middelhoff et al. (2005) berechneten eine Umsetzung in 21 Standorttypen mit je 40 Flächen, diese Zahl wird jedoch nur bei einer Ausweitung der ÖFS-Stichprobenzahl erreicht.

7.2.2 BBA – Konzept zum Monitoring im Agrarökosystem

7.2.2.1 Grundlagen

Das GVO-Monitoring im Konzept der BBA soll Datenmaterial liefern, das dem GVO-Risikomanagement bzw. der Risikobewertung nach Markteinführung dient. Es soll die Datenlücke schließen, die sich durch die Markteinführung aufgrund der sich dadurch ergebenden größeren räumlichen und zeitlichen Verbreitung ergeben. Seine Fragestellungen und seine Methoden leiten sich von solchen Aspekten ab, die bereits im Rahmen der UVP und in vorherigen Untersuchungen und Zulassungsverfahren behandelt wurden (Wilhelm *et al.* 2003a, 2003b).

Die Autoren dokumentieren hier eine klare Reduktion der Aufgaben v.a. des allgemeinen Monitorings auf den Bereich „**Optimierung des Anbaus zur Verminderung von Nebeneffekten**“, alle ökosystemaren Aspekte ohne Anbaubezug fehlen. Der Beobachtungsrahmen wird (unzulässigerweise, da dies nur für das fallspezifische Monitoring vorgesehen ist) auf schon vorher berücksichtigte „Problembereiche“ eingengt. Dabei ist zu bedenken, dass diese „Problembereiche“ im Vorfeld einer Genehmigung fast ausschließlich von den Entwicklern der GVO selbst festgelegt werden.

Insgesamt lässt sich erkennen, dass nicht eine wissenschaftliche Analyse aller Möglichkeiten, wie GVO im Ökosystem wirken können und die Einschätzung deren Relevanz die Grundlage der fachlichen Ausgestaltung des Monitoringkonzeptes bildet (top-down-Ansatz). Vielmehr werden vorgegebene Fragestellungen, Methoden und Messnetze auf ihre Relevanz für ein GVO-Monitoring überprüft (bottom-up-Ansatz) und dann eine Auswahl getroffen.

Einschätzung der Datenlage

Es ist anzunehmen, dass die Datenlage von BBA und der genehmigenden BVL durch die Genehmigung des Inverkehrbringens eines GVO jeweils als ausreichend angesehen wird, ansonsten wäre keine Genehmigung ausgesprochen worden. Mögliche Kenntnislücken zu schädlichen Auswirkungen werden dann durch das Monitoring abgedeckt. Eine kritische Auseinandersetzung mit folgenden Problembereichen fehlt:

- fehlende Standardisierung der Risikoprüfung und der Erstellung von Überwachungsplänen für das Genehmigungsverfahren besonders im Hinblick auf ökosystemare Effekte;
- Kenntnislücken (z.B. Biologie und Funktion potentiell betroffener Nicht-Zielorganismen, pleiotrope und Positionseffekte der Empfängerpflanzen, Wirkmechanismen des Genkonstruktes im Ökosystem, etc.).

Baseline of Comparison – Vergleichs- und Kontrolldaten

Im Bereich der Landwirtschaft wird als Vergleichssystem von GVP-Anbau der konventionelle Nicht-GVP-Anbau (räumlicher oder zeitparalleler Vergleich) angesehen. Im Eckpunktepapier der BBA (AGAM 2000) wird sogar darauf verwiesen, nur ein zeitparalleler und standortidentischer Vergleich führe zu aussagekräftigen Informationen. Bei besonderen

Fragestellungen können auch Flächen, die besonderen Standards entsprechen, z.B. Flächen des Ökolandbaus, einbezogen werden.

Der **Vergleich mit dem Ist-Zustand vor Inverkehrbringen** (zeitlicher Vergleich) wird besonders für die Beobachtung langfristiger Veränderungen **als bedeutungslos angesehen**. Als Begründung wird darauf verwiesen, dies habe nur Sinn, wenn die anderen Parameter zeitlich mehr oder weniger stabil seien, dies träfe jedoch nicht auf die Landwirtschaft zu. Auch hier wird eine Einengung der Monitoring-Basis vorgenommen. Gerade bei Langzeituntersuchungen müssen die Ausgangsdaten erhoben werden, ansonsten lässt sich keine Veränderung feststellen. Auch methodisch können heute Fragestellungen mit mehr als einem Parameter befriedigend bearbeitet werden. Da eine **Fokussierung auf das Agrarhabitat** vorgenommen wurde, ist es erklärlich, dass der räumliche Vergleich empfohlen wird. Umweltwirkungen, die kumulativ oder langfristig entstehen, können so nicht entdeckt werden.

Raumbezug

Schon durch den Namen der Arbeitsgruppe in der BBA und deren erstes Eckpunktepapier zum Monitoring (AGAM 2000) wird eine **Einengung** des GVO-Monitoringkonzeptes auf das „**Agrarökosystem**“ sichtbar. Auch inhaltlich werden bei Wilhelm *et al.* (2003) oder (AGAM 2000) nur Bezüge zu Habitaten (Randstrukturen) hergestellt, die an landwirtschaftliche Nutzflächen angrenzen oder davon beeinflusst werden. Die Gesamtlandschaft wird nicht einbezogen. Dies hat v.a. konzeptionelle Ursachen. Da die Autoren alle Parameter aus dem allgemeinen GVO-Monitoring ausschließen, die aufgrund multipler Einflussfaktoren keinen eindeutigen GVO-Einfluss aufweisen und nicht kleinräumig erfassbar sind (Wilhelm *et al.* 2003a), müssen auch keine Arten erfasst werden, die sich in der Gesamtlandschaft aufhalten.

Schutzziele, ökologischer Schaden, Schwellenwerte und Abbruchkriterien

Wilhelm *et al.* (2003) gehen von einer Schadensdefinition aus, die erst bei einer Beeinträchtigung von allgemein anerkannten, (rechtlich) geschützten Gütern zum Schaden führt, nicht jedoch dadurch, dass Auswirkungen direkt oder indirekt auf den GVO-Einsatz zurückzuführen sind. Das Wort „ökologisch“ wird vermieden. Nach der Benennung allgemeiner Schutzziele werden Handlungsfelder benannt, die überwiegend aber nicht konkretisiert werden. Eine weitere Diskussion um den Bedarf von Schwellenwerten oder Abbruchkriterien fehlt gänzlich.

7.2.2.2 Konzeptentwicklung

Die Arbeitsgruppe „Anbaubegleitendes Monitoring gentechnisch veränderter Pflanzen im Agrarökosystem“ (AGAM 2000, vgl. Kap. 7.3.) entwickelte im Jahr 2000 ein Eckpunktepapier zum „Anbaubegleitenden Monitoring gentechnisch veränderter Kulturpflanzen - Erfassung von Auswirkungen auf das Agrarökosystem“. Darin werden Parameter genannt, die im Rahmen eines anbaubegleitenden Monitorings die Wirkungen von GVO auf das Agrarökosystem erfasst werden sollen. Wilhelm *et al.* (2003) haben dieses Konzept inhaltlich konkretisiert, fokussieren aber stark auf die Organisation des Monitorings.

Ziel des Monitorings ist die Schaffung von Grundlagen, die sowohl eine Aufrechterhaltung der Genehmigung des Inverkehrbringens als auch Vorsorge und Schadensabwehr ermöglichen sollen. Ein GVO-Monitoring wird damit als Werkzeug des

(behördlichen) Risikomanagements aufgefasst. Die Umsetzung des Monitorings soll mit begrenztem Verwaltungs- und Kosten-Aufwand realisiert werden, indem vorhandene Beobachtungsprogramme genutzt werden. Der **Aufbau von Informationsnetzwerken** soll den Genehmigungsbehörden, Fachbehörden und Unternehmen den schnellen Austausch der Daten ermöglichen.

Anhand von Grundprinzipien soll es den Unternehmen ermöglicht werden, Monitoringpläne für einzelne transgene Pflanzen zusammenzustellen. Hierzu wurde von der AGAM ein Katalog mit Schutzziele, Handlungsfeldern und Kriterien zusammengestellt (Wilhelm *et al.* 2003).

Da den gentechnisch veränderten Organismen keine grundlegend andere Qualität als den mit Standardmethoden gezüchteten Organismen zugesprochen wird (vgl. Bartsch 2004a), ist eine Überwachung der Belastung, Verbreitung und Akkumulation ohne Hinweis auf eine schädliche Wirkung nicht notwendig. Allgemeine regionale und zeitliche GVO-Einflüsse seien durch das Anbauregister hinreichend abschätzbar (Wilhelm *et al.* 2003). Eine Einschränkung erfährt diese Einschätzung nur durch die gesetzlich vorgeschriebenen Schwellenwerte in Rahmen der Koexistenz, weshalb Bartsch (2004a) auch auf einer klaren Trennung zwischen Fragen der Koexistenz und der biologischen Sicherheit besteht (vgl. Abschnitt Raumbezug).

7.2.2.3 Ursachen-Wirkungshypothesen und Prüfpunkte

Im Konzept der AGAM (2000) werden eine Reihe von Effekten genannt, die durch sieben gentechnischen Veränderungen an den vier Hauptkulturarten verursacht werden (HR/*Bt*/, Fettsäuremuster/ männl.steril-Raps, HR/*Bt*-Mais, HR/VR-Zuckerrübe, *Bt*/VR/HR/stärkeveränderte-Kartoffel). Als **handlungsrelevante Bereiche im Agrarökosystem** werden jedoch nur vier direkte Wirkungen angesehen:

- der GVO kann verändert auf **Schaderreger** reagieren,
- bei Schadorganismen können sich **Resistenzen** entwickeln,
- der **Abbau von Pflanzenresten** im Boden kann sich verändern,
- **Pflanzenschutzmittel** können verändert auf GVO wirken.

Im Handlungsbereich „**Auskreuzung**“ werden zu den direkten Wirkungen bei Raps und Zuckerrübe die Genübertragung auf Wildarten und benachbarte Nicht-GVO als relevant eingestuft. Auch die Veränderung der **Ackerwildkrautflora** wird hier aufgeführt, obgleich diese eine indirekte Wirkung darstellt. Das Verwilderungspotential beider Arten wird nicht genannt. Zu den indirekten Wirkungen auf das Agrarökosystem zählen mögliche Veränderungen des Anbauverfahrens. Der **Fokus** des Konzeptes liegt deutlich auf der Untersuchung von Eigenschaften der GVO in ihren Wirkungen auf die **Anbaupraxis**.

Etwas erweitert und Schutzziele zugeordnet sind die Handlungsfelder im Konzept von Wilhelm *et al.* (2003). Beim Vergleich ihrer Handlungsfelder mit den Handlungsbereichen und Parametern von Züghart & Breckling (2003) (siehe Tabelle 24) zeigt sich aber weiterhin, dass das Konzept der BBA nur Teilaspekte in sehr allgemeiner Form abdeckt, und auf die komplexen potentiellen Wirkungen von GVO auf Umwelt und Gesundheit nur sehr begrenzt eingeht (Middelhoff *et al.* 2005).

Tabelle 24: Vergleich der Handlungsfelder des BBA-Konzeptes (aus Wilhelm et al. 2003, Schiemann et al. 2003) mit den Handlungsbereichen des BfN-Konzeptes von Züghart & Breckling (2003) aus Middelhoff et al. (2005).

Schutzziel	Handlungsbereich (Züghart & Breckling 2003)	Prüfpunkte	Handlungsfeld (Wilhelm 2003)
Menschl. Gesundh.	Umweltwirkung: Allergien über Atemwege	Belastung: Verbreitung von Transgenen in Pollen Status: Frequenz und Verbreitung von Atemwegsallergien	Allergie-Potentiale
Biodiversität, nachhalt. Landwirtschaft	Horizontaler Gentransfer (Mikroorganismen, Viren) Verwilderungs- und Ausbreitungspotential der Kulturpflanze	Belastung: Verbreitung von GVO-Anbau Verbreitung von Transgenen in Kulturpflanzen, Kreuzungspartnern, in Pollen, im Boden, in Gewässersedimenten, in Wirbeltierkot und Kläranlagen Status: Verhalten (Verwilderung, Ausbreitung und Etablierung) der transgenen Kulturpfl. u. Hybride	Invasivität, Ausbreitung, funktionelle Lebensgemeinschaften, Artenvielfalt Pflanzliche Schädlinge
Nachhaltige Landwirtschaft, Biodiversität	Allgemein	Belastung: Landschaftsstrukturelle Diversität Anbautechnik	Düngebilanz, PSM-Bilanz, GVO-Persistenz, Anbaumeth., Eigenschaften der GVO
	Erhaltung von Kulturarten (Saatgutreinheit)	Belastung: Verbreitung von Transgenen und Transgenkombinationen im Saatgut Status: Anzahl und Zusammensetzung verwendeter Kulturarten und Sorten	--
	Verlust von Kulturarten- und Sortenvielfalt	Flora Ackerbegleiter, Ackerrand, Diasporenbank Indirekte Wirkung auf Pollenfresser/ Blütenbesucher unter den Wirbellosen	--
	Verlust der pflanzlichen Artenvielfalt	Transgen- oder herbizidvermittelte Wirkung auf phytophage Zielarten an der Kulturart und an Beikräutern bzw. auf pollenfressende Wirbellose. Indirekte Wirkungen auf Antagonisten unter den Wirbellosen.	--
Herbizidresistenztechnik	Wirkung des durch Reduktion der Begleitflora reduzierten Samenangebotes bzw. der durch Pflanzeninhaltsstoffe oder Herbizide veränderten Wirbellosenfauna	Artenvielfalt	
Terrestrische Wirbellosenfauna	auf Wirbeltiere (verschiedene Stufen der Nahrungskette)	Artenvielfalt	
Bodenfunktion	Belastung: Rückstandanalysen	Belastung: Gehalt von Genprodukten bzw. Bioziden im Boden	--
	Wirkung: Bodenerosion	Wirkung der reduzierten Beikrautflora auf Bodenerosion	--

	Bodenphysikalische und –chemische Parameter Bodenmikrobiologische Parameter Bodenzoologische Parameter	Status: Indirekte Wirkungen bzw. Wirkung der HR-Strategie auf Bodenphysik und Chemie Transgen- bzw. biozidvermittelte toxische oder andere Auswirkungen oder durch veränderte genetische Ausstattung herbeigeführte Änderung von Zusammensetzung und Funktionen von Mikroorganismen Transgen- bzw. Herbizidvermittelte toxische oder andere Auswirkungen auf Zusammensetzung und Funktionen	Bodenfruchtbarkeit, Mineralisation Bodenbiologie
Gewässer	Oberflächengewässer und Grundwasser	Belastung: Gehalt von Genprodukten bzw. Bioziden in Gewässern Status: Wirkung von Genprodukten bzw. Bioziden in Gewässern auf in Gewässern lebende Organismen	--
Pflanzenschutz	Phytopathogene Wirbellose	Befall der Kulturpflanze mit phytopathogenen Wirbellosen	Tierische Schädlinge
	Virale Phytopathogene	Befall durch virale Phytopathogene und Befallsausprägungen an Kulturpflanze und Kreuzungspartnern	Pflanzenkrankheiten

Anmerk.: Aspekte der Tiergesundheit werden hier nicht gesondert aufgeführt, da sie unter dem allgemeineren Prüfpunkt „direkte und indirekte Wirkungen auf Wirbeltiere“ abgedeckt werden können. Aspekte der Lebensmittel- und Therapeutika-Qualität werden nicht als Umweltwirkung angesehen und unterliegen der Kontrolle der Lebensmittel- und Arzneimittelüberwachung.

Inhaltlich werden schon seit Ende der 1990iger Jahre in verschiedenen Forschungsverbänden z.B. zur „Methodenentwicklung für ein anbaubegleitendes Monitoring“ Untersuchungen zu möglichen Effekten von GVO durchgeführt (www.biosicherheit.de). Sehr viele Fragestellungen waren dabei eher der Risikoforschung oder der Produktprüfung zuzuordnen als einer Monitoring-Entwicklung. Auch lag der räumliche Schwerpunkt fast ausschließlich im Agrarhabitat. Sogar bei Problembereichen, die sich mit Ausbreitung und Auskreuzung von transgenem Raps beschäftigten, wurde auf Agrarhabitate und angrenzende Flächen fokussiert. So kategorisierten Neemann *et al.* (2004) Biotypen der Agrarlandschaft hinsichtlich ihres Lebensraumpotentials für verwildernde Kulturpflanzen. Eine ihrer Schlussfolgerungen war, Störstellen in repräsentativen Landschaftsausschnitten (d.h. in Gebieten mit hohem Rapsanteil) in ein Monitoring von Raps einzubeziehen. Der Schluss, dies flächendeckend (zumindest entlang von Transportwegen) in Deutschland durchzuführen, da transgener Raps oder Hybride durch Transportverluste und erheblichen Pollenaustrag auch außerhalb von Anbaugebieten zu erwarten sind, zogen sie nicht.

Bemerkenswert ist, dass trotz der vielen Projekte, in denen Parameter und Methoden entwickelt und überprüft werden, **keine differenzierte Darstellung** im Monitoringkonzept der BBA (Wilhelm *et al.* 2003a, Schiemann *et al.* 2004, www.biosicherheit.de) erfolgt.

7.2.2.4 Stand der Umsetzung

Im Konzept der BBA ist, wie auch beim Konzept der BLAG (2003), die modulare Trennung der Zuständigkeiten in Landwirtschaft, Umwelt und Gesundheit geplant. Eine Konkretisierung, wie dies inhaltlich und organisatorisch bei den sich stark überschneidenden Modulen Landwirtschaft und Umwelt durchzuführen sei, liegt jedoch in keinem Konzept vor.

Definition der Prüfpunkte

Auch im Konzept der BBA ist ersichtlich, dass die ersten Schritte eines GVO-Monitorings mit der Definition von relevanten Prüfpunkten / Handlungsfeldern als abgeschlossen gelten können.

Erstellung eines Monitoringplans

Eine Liste von Prüf- und Vergleichskriterien ermöglicht die Erstellung eines konkreten Monitoringplans. Je nach GVO kann die Einordnung und die Auswahl von Prüfpunkten und geeigneten Parametern bzw. Indikatoren durchgeführt werden. Als Prüf- und Vergleichskriterien nennen sie:

- Relevanz; Bezug des Parameter zum Schutzziel/ Handlungsfeld/ Fragestellung, zu GVO-Eigenschaften und zu potentiellen Wirkketten,
- Rahmenbedingungen,
- Messmethodik,
- Aufwandsschätzung,
- Risikobewertung und –Management.

Schiemann *et al.* (2004) erläutern: „Zur Erstellung des Monitoringplans kann auf einer solchen Basis erörtert werden, in welchem Bezug der GVO zum Handlungsfeld steht, ob repräsentative Parameter bzw. Indikatoren ausgewählt werden können, ob eine Erhebung eine sinnvolle Aussage ermöglicht und ob mit anderen Erhebungsprogrammen / Akteuren kooperiert werden könnte“. Dies entspricht in etwa dem Umfang, den auch Middelhoff *et al.* (2005) für die Erstellung eines Monitoringplans anführen.

Eine Datenbankstruktur wurde im Rahmen des am ZALF in Müncheberg durchgeführten Projektes „Konzept für ein anbaubegleitendes Monitoring gentechnisch veränderter Pflanzen am Beispiel Brandenburgs“ entwickelt (www.biosicherheit.de/projekte/70.proj.html). Dabei wurden folgende Daten berücksichtigt:

- GV-Pflanzen,
- Umweltwirkungen beim Anbau (Parameter der BBA-Arbeitstagung 2002),
- Untersuchungsmethoden,
- relevante Merkmale,
- Anbaupraxis,
- Landschaftsräume,
- Messnetze.

Bisher dient diese Datenbank nur der Auswahl von Messpunkten. Eine strukturierte Ableitung und Entwicklung von Parameter und Methoden scheint damit nicht durchführbar. Somit fehlt die Datenbasis und eine praktikable nachvollziehbare Ausführungs- und Bewertungsgrundlage. Dies wird von Wilhelm *et al.* (2003) bestätigt und eine systematische Dokumentation von Erfahrungen im GVO-Monitoring (nach Beginn des Monitorings) gewünscht. Eine Standardisierung von Überwachungsplänen und Methoden lehnen sie zumindest zum jetzigen Zeitpunkt ab, da zu wenig Erfahrungen vorlägen. Eine zu frühe

Fixierung könnte die rasche Einbindung von neuen Erkenntnissen und die einzelfallspezifische Bewertung übermäßig einschränken.

In den Texten von Wilhelm *et al.* (2003) finden sich dagegen andere Angaben darüber, wie die **Auswahl von relevanten Fragestellungen und Parametern** zu erreichen sei. Sie führen aus, dass im Allgemeinen nur solche Fragestellungen in das Monitoring übernommen werden sollten, die eine erhebliche Aussage zur verbesserten Einschätzung von GVO-Risiken ermöglichen. Daten unklarer Bedeutung böten wenig Anhaltspunkte für rechtlich durchsetzbare Handlungsoptionen. Bei komplexen Zusammenhängen z.B. bei vielfältigen Einflussfaktoren neben dem GVO sollte die Datenerhebung und Bewertung (und Bezahlung) öffentlichen, ggf. behördlichen Institutionen überlassen werden.

„Fragestellungen der allgemeinen Beobachtung sollen sich auf unvorhergesehene Ereignisse fokussieren“ (Wilhelm *et al.* 2003a). Jedoch wird dies wieder zurückgenommen, indem postuliert wird, dass Aussagen zu Art und Eintritt eines unerwarteten negativen Ereignisses nicht a priori gemacht werden können, sondern konkrete Nachweise dann zielgerichtet und hypothesengeleitet erbracht werden müssen. Hier wird die grundlegende Aufgabe eines Monitorings in Frage gestellt und stattdessen an die Risikoforschung weitergegeben. Erstaunlich ist auch die Hypothese, den Prüfpunkten des allgemeinen Monitorings würden Ursachen-Wirkungshypothesen fehlen. Wie im Konzept des BfN gezeigt werden konnte, müssen diese auch dort wissenschaftlich begründbar vorliegen, da sonst keinerlei Monitoringpläne aufstellbar wären (Middelhoff *et al.* 2005). „Unvorhergesehen“ bedeutet dann, dass es zwar in der Risikoprüfung keine erkennbaren Anhaltspunkte für eine Umweltwirkung gab, diese jedoch trotzdem vorstellbar sind.

Einbindung anderer Beobachtungsprogramme

Nach dem Konzept der BBA sollen der Hauptteil der GVO-relevanten Daten für das allgemeine Monitoring in **bestehenden Beobachtungsprogrammen** bei minimaler Erweiterung erhoben werden (Wilhelm *et al.* 2003a, Schiemann *et al.* 2004). Entsprechend besteht eine wesentliche Aufgabe des allgemeinen Monitorings darin, den Informationsaustausch zwischen unterschiedlichen Institutionen und dem Anmelder aufzubauen und zu organisieren.

Im Konzept der BfN sind vorhandene Messnetze ebenfalls eingebunden als ein Instrument um relevante GVO-Daten oder Hintergrunddaten effizient und kostengünstig zu erlangen. Für nicht erhobene Parameter ist dort geplant, ein methodenspezifisches eigenes Messnetz aufgebaut werden.

Am Beispiel von Brandenburg wurde am ZALF/Müncheberg ein GIS-gestütztes System entwickelt, mit dem innerhalb bestehender GVO-relevanter Messnetze, jeweils die optimalen Messstandorte anhand von wissensbasierten Kriterien ausgewählt werden können (www.biosicherheit.de/projekte/70.proj.html). Räumliche Bezugsgröße sind neu definierte ökologische Raumklassen (in Anlehnung an Schröder & Schmidt (2001)). Sie bilden die homogenen Einheiten, in die das repräsentative Messnetz eingebettet ist (Graef *et al.* 2004).

Grundsätzlich ist diese Art der Messnetzanalyse zu begrüßen. Da sich aber gezeigt hat, dass in den Netzen, die über eine ausreichende räumliche Verteilung verfügen (Bodendauerbeobachtungsflächen, Sortenversuche) nur eine eingeschränkte Anzahl GVO-

Tabelle 25: Fragenkomplexe im Fragebogen für Landwirte „Monitoring zum Anbau gentechnisch veränderter (GV-)Maissorten“ (aus Schiemann *et al.* 2003, verändert)

Schutzziele/Fragenkomplex	Bezug zu GVO-Monitoring	Anzahl von Fragen im Fragebogen
Pflanzenschutz/ Produktprüfung		
Pflanzenentwicklung	Auffälligkeiten der Sorte	2
Maiskrankheiten	Auswirkungen auf Pflanzenschutz/Verwendung	1
Auftreten von Ziel-Organismen (Maiszünsler)	Auswirkungen auf Pflanzenschutz (Resistenzentwicklung)	2
Anwendungskritik	Beurteilung der Anbaupraxis, Auffälligkeiten	6
Umwelt/Belastung/Anbautechnik		
Anbaupraxis		11
Nachhaltige Landwirtschaft/Biodiversität		
Auftreten von Nützlingen	Auswirkungen auf Biodiversität, Nachhaltigkeit der Landwirtschaft	1/3
Auftreten von Schädlingen	--	1/3
Wildverbiss	Hinweis auf mögliche Nebeneffekte	1/3
Unkrautpopulationen (nur HR-Mais)	Auswirkungen auf Pflanzenschutz (Resistenzentwicklung), Biodiversität	1 (Abfrage der 5 häufigsten Beikräuter)

relevanter Parameter erhoben wird, erfüllen auch diese Messnetze ihre Aufgabe nicht, wenn nicht weitere Parameter aufgenommen werden.

Ein weiteres Problem bildet die vergleichsweise geringe Zahl geeigneter Standorte pro Landschaftsraum. Im Gegensatz zur geplanten ÖFS, die mittlerweile über 1000 Standorte bundesweit umfassen soll (im Mittel 47 pro Standorttyp), sind die Optimierungen für je drei bzw. 6 Wiederholungen pro Landschaftsraum und Kulturpflanze durchgeführt worden. Die von den Autoren erwähnte Zahl von 60-70 Standorte pro transgener Kulturart aus der Farm Scale Evaluation (Perry *et al.* 2003) müsste für Deutschland erst noch evaluiert werden und bezieht sich auf die ganze Fläche Großbritanniens ohne Stratifizierung. Hilbeck & Meier (2005) gehen je nach Parameter von 40 bis 120 Wiederholungen pro Landschaftseinheit aus.

Fragebogen

Neben den Beobachtungsnetzen stellen Landwirte eine wichtige Informationsquelle von Informationen zu negativen GVO-Effekten dar (Schiemann *et al.* 2004). Sie sollen über Fragebogen, die von Anmeldern und Biometrikern entwickelt werden, erfasst werden. Über eine Datenbank können Verwaltung und statistische Auswertung gewährleistet werden. Ein Fragebogen zum GV-Mais ist entwickelt und in der Erprobung (www.biosicherheit.de/gentechnik/bbaarbeitsgruppe/ Fragebogen, Stand Ende 2004). Für eine statistische Auswertung wird je nach Fragebogen ein Erhebungsumfang von ca. 500 Fragebögen erwartet (Schiemann *et al.* 2004). Damit liegen die Wiederholungszahlen ungefähr im Bereich, den auch das BfN für viele seiner Fragestellungen ermittelt hat. Die Fragenkomplexe umfassen hauptsächlich Informationen zur Produktüberwachung und zur Anbaupraxis. Auswirkungen auf Herbivore an der Kulturpflanze oder deren Prädatoren (Nützlinge) sind nur am Rande erfasst (Tabelle 25).

Datenverwaltung, Datenbank

Als letzter Schritt eines umsetzbaren GVO-Monitorings ist im Konzept der BBA eine bundesweite **Datenbank** geplant. Ihre Funktionen sind:

- Datenverwaltung: globale Daten z.B. aus der zusätzlichen Überwachung,
- Datenverwaltung: Ergebnisse aus dem Überwachungsplan,
- Datenverwaltung: Zusätzliche Informationen für die Bewertung der erhobenen Daten und
- Datenverwaltung: Anbauregister,
- Auswertung und Bewertung der Ergebnisse,
- Monitoring-Vollzug (Berichte an Behörden, Öffentlichkeit),
- Schnittstellen für verschiedene Benutzer (Behörden, Anmelder, EU etc),
- Geographisches Informations System.

Das Anbauregister ist beim BVL und den Landesbehörden umgesetzt, über den Stand der übrigen Datenbankentwicklung liegen keine Informationen vor.

7.2.2.5 Kosten

Zu Kostenkalkulationen einzelner Monitoring-Parameter oder Monitoring-Teile liegen keine Angaben vor.

7.3 Praktische Erfahrungen mit GVO-Monitoringkonzepten

GVO-Monitoringkonzepte werden derzeit nur in **Nordrhein-Westfalen** praktisch erprobt. Im „Handlungskonzept für ein Monitoring von gentechnisch veränderten Pflanzen im Rahmen der ÖFS-NRW“ des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (MUNLV-NRW 2003) sind methodische Details dargestellt. Grundlage vieler Erhebungen ist die ökologische Flächenstichprobe (ÖFS) mit einem Messnetz von 170 Stichproben, die durch Referenzflächen in ökologisch sensiblen Gebieten (n=25) ergänzt wurden. Das seit 1997 durchgeführte Biodiversitätsmonitoring beinhaltet die Erfassung von Biotop- und Strukturtypen, alle Brutvogelarten innerhalb einer ÖFS-Stichprobenfläche sowie die halbquantitative Erfassung der Flora in verschiedenen Biototypen.

Als GVO-Erweiterungen innerhalb einer ÖFS sollen GVO-Kulturarten und deren Kreuzungspartner floristisch kartiert und Pflanzenmaterial einem Transgenscreening unterzogen werden. In (Haupt-)Anbaugebieten soll das Messnetz verdichtet werden. Zur Kosteneinsparung könnte das Monitoring auch auf diese Gebiete eingegrenzt werden.

2004 wurde das Konzept in einer Pilotphase erstmals in 10 ÖFS in potenziellen Hauptanbaugebieten von Raps praktisch erprobt. Wildraps- und Durchwuchsraps-Vorkommen und deren potenziellen Kreuzungspartner wurden flächendeckend kartiert und auch von Populationen außerhalb der Anbauflächen wurden Pflanzenproben auf Transgene untersucht. Außerhalb der ÖFS wurde zusätzlich ein Pollenmonitoring von technischen und

biologischen Pollensammlerproben (Pollen in der Luft, Honig) mittels Transgenscreening durchgeführt. Die Ergebnisse, die im Februar 2005 erstmals vorgestellt wurden, ergaben Hinweise auf das Vorhandensein von Transgenen in allen drei untersuchten Medien. 2005 sollte die Beprobung aller ÖFS erstmals durchgeführt werden, doch Schwierigkeiten bei der Information der Landwirte führten zu Verzögerungen (mdl. Mitteilung Fiebig MUNLV-NRW 2005).

Ein weiteres wichtiges Projekt, das Anhaltspunkte für die Entwicklung und Umsetzung von GVO-Monitoringkonzepten liefert, ist die **FSE in Großbritannien** (z.B. Firbank *et al.* 2003a, Bohan *et al.* 2005). Sie wurde in 3 Jahren zwischen 2000 und 2002 in insgesamt 60 Schlägen je transgener Kulturart (20-30 pro Jahr) durchgeführt.

7.4 Organisation des Monitorings

Neben der inhaltlichen Ausgestaltung eines Monitorings spielt die organisatorische Umsetzung der Überwachung eine wichtige Rolle. In den unterschiedlichen organisatorischen Vorstellungen der Beteiligten spiegelt sich wider, wie das Risikopotenzial der Agrotechnik und der Bedarf an öffentlicher Kontrolle eingeschätzt werden.

7.4.1 Aufgabenverteilung

Die Zuständigkeit für die Erstellung eines konkreten Überwachungsplans für jeden neu freizusetzenden Organismus ist in der EU-Freizetzungsrichtlinie 2001/18/EG geregelt, wonach der Anmelder bei der Anmeldung einen Überwachungsplan gemäß des Anhangs VII beizufügen hat. Er muss darin festlegen, wer die verschiedenen vorgeschriebenen Aufgaben übernimmt, und wer für die Einrichtung und ordnungsgemäße Durchführung verantwortlich ist. Da keine Angaben zur Organisation des Vollzugs definiert sind, ist bis heute national wie EU-weit umstritten, welche Aufgaben von welchen Akteuren übernommen werden sollten.

Aktuell gibt es auf nationaler wie auf EU-Ebene keine verbindlichen Vorschriften darüber, welche Prüfpunkte innerhalb der Risikoprüfung und des Monitorings berücksichtigt werden müssen, und auch nicht darüber, wer sie festzusetzen hat. Somit besteht die Möglichkeit, dass im Antrag auf Freisetzung potentielle Umweltwirkungen oder die ihrer Beobachtung dienenden Prüfpunkte und Parameter nicht umfassend behandelt werden. Für Umweltbehörden erscheint es deshalb besonders schwierig, umweltrelevante GVO-Parameter, die indirekte, komplexere oder langfristige Wirkungen dokumentieren könnten, in einem bundesweiten kulturartenspezifischen wie unspezifischen allgemeinen Monitoring umzusetzen, auch wenn dies die Leitlinien 2002/811/EG vorsehen.

Übereinstimmung herrscht darin, das **fallspezifische Monitoring** in den Zuständigkeitsbereich der Anmelder zu stellen (BLAG 2003, Wilhelm *et al.* 2003a, SRU 2004). Die Inhalte und Parameter ergeben sich aus den Anhaltspunkten der (vom Anmelder definierten) Risikoprüfung auf schädliche Wirkungen. Die Durchführung des fallspezifischen Monitorings liegt gänzlich beim Inhaber der Zustimmung zum Inverkehrbringen des GVO, das er nach rechtlichen und behördlichen Vorgaben (Zulassungsrelevante Behörden) und unter Kontrolle (Länder-Behörde) auszuführen hat.

Die im BLAG (2003) geforderte Abprüfung eines kulturarten und sortenspezifischen Kernparametersatzes, der vorher behördlich vorzugeben sei, kann nicht Inhalt des fallspezifischen Monitorings sein, sondern bildet die Grundlage eines kulturartenspezifischen allgemeinen Monitorings.

Im Bereich des **allgemeinen Monitorings** wird in allen Konzepten von einer Teilung der Aufgaben ausgegangen. Die Vorstellungen über das „wie“ klaffen jedoch weit auseinander, da Definitionsgewalt und Verteilung der Kosten hiervon abhängen.

Die BLAG (2003) schlägt eine Aufgabenverteilung zwischen Bund, Ländern und Anmelder/Betreiber vor, in der die Anmelder/Betreiber bei der Umsetzung nur Teilaufgaben des allgemeinen Monitorings übernehmen und ansonsten über eine Gebührenabgabe daran beteiligt sind. Die Einrichtung einer Koordinationsstelle wird als wichtiger Bestandteil angesehen, um die Daten effektiv verwalten und auswerten zu können. Alle organisatorischen und inhaltlichen Aufgaben bei der Durchführung des Monitorings werden dieser Zentralstelle zugewiesen.

Im Konzept der BBA (Wilhelm *et al.* 2003a) werden die organisatorischen Koordinationsaufgaben von der Genehmigungsbehörde übernommen, während inhaltliche Abstimmungen nicht nötig scheinen oder dann den Fachbehörden zugeordnet werden. In der alleinigen Zuständigkeit des Anmelders bei den zentralen Aufgaben „Erstellen des Überwachungsplans“ und „Auswertung der Ergebnisse“ liegt der größte Unterschied zum Konzept der B/LAG.

Der Aufbau einer **zentralen Koordinationsstelle** wurde von fast allen Beteiligten begrüßt (BLAG 2003). Ihre Einführung wird jedoch aktuell als gescheitert angesehen, da nicht geklärt werden konnte, ob sie an das Umweltressort oder die Genehmigungsbehörde angebunden werden sollte und mit welchen Kompetenzen sie auszustatten sei. Zusätzlich kam eine unklare Finanzsituation hinzu. Der Sachverständigenrat für Umweltfragen bekräftigte in seinem Gutachten (SRU 2004) dennoch die Forderung der Einrichtung einer nationalen Koordinationsstelle und forderte gleichzeitig eine EU-weite Koordinationsstelle.

Die im Genehmigungsverfahren vorgeschriebenen Aufgaben werden nun von den Betreibern und der Genehmigungsbehörde übernommen, während wirkliche Koordinationsaufgaben wie Harmonisierung, Bewertung und Bewertungskriterien, Monitoringkonzepte und deren Optimierungen, etc. vorerst nicht innerhalb des GVO-Monitorings stattfinden werden. Optional ist jedoch eine dezentrale und zusätzliche Bearbeitung dieser Aufgaben durch die Fachbehörden möglich und nötig. So werden z.B. dem BfN als Benehmensbehörde anfallende Roh-Daten zur Verfügung gestellt, die es mit dem zu entwickelnden Informationssystem verwalten und entsprechend den anstehenden Fragestellungen auswerten wird.

7.5 Fazit Monitoring

Hauptverantwortlich für die Ausgestaltung eines GVO-Monitoringkonzeptes in Deutschland sind derzeit die BBA und das BfN.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Position des BfN relativ schwach ist, da es zwar Konzepte für ein bundesweites Monitoring entwerfen soll, jedoch keine Kompetenzen für die Implementierung hat. Auf der einen Seite kann es den Überwachungsplan im Genehmigungsverfahren nur beschränkt beeinflussen, da es als Benehmensbehörde gehört aber nicht berücksichtigt werden muss, gleichzeitig überwachen die Landesbehörden die Durchführung des Monitorings. Da Umweltbeobachtung Ländersache ist, können sie darüber hinausgehende eigene Beobachtungen durchführen, auf die das BfN nur beratend Einfluss hat.

Die Position der BBA ist allein deshalb günstiger einzuschätzen, da sie im gleichen Geschäftsbereich wie die zuständige Genehmigungsbehörde BVL liegt.

Beiden Bundesoberbehörden gemein ist, dass sie ihre Vorstellung zum Monitoring erst innerhalb von einzelnen Genehmigungsverfahren, d.h. nachdem der Anmelder seinen Antrag mit Überwachungsplan eingereicht hat, in ihren Stellungnahmen einbringen können. Da keine verbindlichen EU-Vorschriften für die Ausgestaltung der Risikoprüfung vor Zulassung einer GV-Sorte und den daraus abzuleitenden Überwachungsplan existieren, die von den Antragstellern bei Antragstellung vorzulegen sind, fehlt es den Behörden an wirklichen Möglichkeiten, eine Beseitigung von fachlichen Mängeln im Monitoringplan einzufordern. Aktuell bleibt es fast vollständig den Antragstellern überlassen, was die Risikoprüfung umfasst und welche Parameter in das fallspezifische bzw. allgemeine Monitoring aufgenommen werden.

Das GMO-Panel der EFSA versucht momentan Standards für die Risikoprüfung und den Monitoringplan durch einen unverbindlichen Anleitungsentwurf (EFSA GMO Panel 2004c) zu schaffen. Konkrete Monitoringvorschläge fehlen in der aktuellen Version. Die in einer älteren Version enthaltenen Vorgaben (EFSA GMO Panel 2004b) entsprechen inhaltlich weitgehend den Vorschlägen der BBA (vgl. Wilhelm *et al.* 2003). Gleichzeitig erklärt sich das GMO-Panel der EFSA als Teil der Lebensüberwachungsbehörde in einer Stellungnahme zum Freisetzungsantrag von Bt1507-Mais für die Umsetzung und Kontrolle des allgemeinen Monitorings nicht für zuständig, möchte aber weitere Stellungnahmen und Empfehlungen geben (EFSA GMO Panel 2004a). Wichtig zu vermerken ist, dass auch hier Aufgaben aus dem allgemeinen Monitoring ausgeschlossen werden sollen, die sie dem „general environmental monitoring“ zuordnen. Dazu gehören komplexere Zusammenhänge (z.B. Nahrungsketteneffekte) oder großräumige Überwachungen. Der Schwerpunkt müsse auf dem transgenen Organismus liegen und später auf den Interaktionen verschiedener transgener Organismen und ihren Anbaubedingungen. Als bisher unbekanntes Element in den deutschen Konzepten wird für den Fall einer schrittweisen Einführung in begrenzte Regionen innerhalb Europas anstatt einer allgemeinen Überwachung eine lokal begrenzte Überwachung empfohlen. Eine größere Anzahl von Parametern solle in den ersten Jahren des Anbaus im split plot design erfasst werden geben (EFSA GMO Panel 2004b).

7.6 Offene Fragen

Soll ein aussagekräftiges Umweltmonitoring der GVO-Belastungen und -Wirkungen durchgeführt werden, werden hierzu benötigt:

- eine ökosystemare Umweltbeobachtung (z.B. über das Biodiversitätsmonitoring), die Basisdaten für einen Vorher-Nachher-Vergleich erhebt und als GVO-Messnetz genutzt werden kann;
- Vernetzung der bestehenden Messprogramme (BDF, Naturschutz, Pflanzenschutzdienste, Bundessortenamt, etc.) mit ÖFS als Hauptnetz: Integration und ggf. harmonisierende GVO-Erweiterung zu integrierten Dauerbeobachtungsflächen mit paralleler Erfassung möglichst vieler Umweltparameter;
- eine Harmonisierung des Monitorings zwischen den (Umweltbehörden der) Länder (Festlegung eines Mindestkanons an GVO-relevanten Parametern und Methoden), um eine statistisch abgesicherte bundesweite Auswertung und Bewertung durchführen zu können;
- eine Harmonisierung des Monitorings unter den EU-Staaten;
- die Umsetzung des geplanten GVO-Informationssystems;
- eine unabhängige Risikoforschung, die sich mit der Schließung der Wissenslücken beschäftigt;
- eine EU-weite Festlegung von verbindlichen Vorgaben von kulturartenspezifischen Prüfpunkten / Parametern, die bei Durchführung der Risikoprüfung abzuklären und in einem Monitoringplan zu überwachen sind.

Insgesamt werden derzeit weltweit an 41 einjährigen und 32 mehrjährigen Kulturpflanzenarten gentechnische Veränderungen vorgenommen (Lheureux *et al.* 2003, www.trangen.de). Mit der Vielzahl von neu implementierten Eigenschaften kommen neue potentielle Umweltwirkungen zum tragen.

- ein erhöhte Ausbreitungs- und Verwilderungspotential – Invasivität - aufgrund veränderter ökologischer Eigenschaften (z.B. Salztoleranz, Trockentoleranz) und
- Nahrungsketteneffekte durch veränderte Inhaltsstoffe (z.B. Proteingehalte).

Durch das Inverkehrbringen neuer transgener Arten erhöht sich rein statistisch die Gefahr der Kombination transgener Konstrukte in einer Hybride oder Kulturart mit unvorhergesehenen pleiotropen und Positionseffekten. Grundsätzlich neue Risiken sind in der EU vorerst nicht zu erwarten. Trotzdem müssen jeweils im Vorfeld von Risikoprüfungen vor Zulassung die vorhandenen Ursachen-Wirkungshypothesen der angestrebten Eigenschaften überprüft und ergänzt werden.

TEIL III: SCHLUSSFOLGERUNGEN

8 Schlussfolgerungen

Trotz einer Fülle von Fallstudien und Regelungen bleibt sowohl grundsätzliches wie viele Einzelheiten mit Unsicherheit behaftet. Bei den naturgemäß komplexen Zusammenhängen, dem globalen Ausmaß und den gleichzeitig regional bzw. lokal variierenden Bedingungen der Anbausituation und der ökologischen wie ökonomischen Situation darf Unsicherheit allerdings nicht überraschen. Einzelne offene Fragen und Forschungsbedarf in den verschiedenen Bereichen wurde in den vorangegangenen Kapiteln benannt. Ein Abbau der Unsicherheit, die sowohl die naturwissenschaftliche Seite als auch die Wahrnehmung der Materie auf Verbraucherseite betrifft, ist nur durch Vorgehen auf verschiedenen Ebenen möglich:

- Formulierung von **Hypothesen** potentieller Schäden (z.B. Züghart & Breckling 2003) und methodischer Werkzeuge, diese zu quantifizieren.
- Quantifizierung der jeweiligen **Risiken**, d.h. der potentiellen Schadensausmaße und Eintrittswahrscheinlichkeiten durch Monitoring und Experimente – damit wird es mittelfristig möglich, Prioritäten zu setzen für den effizienten Einsatz von Mitteln für das Monitoring.

Langfristig und breit angelegte Monitoringanstrengungen werden nur dann Erfolg haben, wenn potentieller Schaden klar zu erkennen ist und effiziente Methoden zur Erkennung zur Verfügung stehen. Somit ist **Methodenentwicklung** für das Monitoring weiterhin nötig. Allerdings erfordert eine stringent quantitative Bestimmung der Risiken eine enorme Datenmenge und Entwicklung von theoretischen Konzepten. Es ist fraglich, in welchen Fällen dies zu leisten ist. Somit wird auf absehbare Zeit die Risiko-Analyse mit großer Unsicherheit verbunden bleiben.

Es besteht weiterhin ein **Mangel an empirischen Daten**, z.B. im Bezug auf das Potential für Genfluss und Hybridisierung und daraus folgende Effekte für die entsprechenden Lebensgemeinschaften. Dieser Mangel kann nur durch weitere Einzelfalluntersuchungen verringert werden. Die Flora und Fauna von Agrarflächen sind vergleichsweise schlecht untersucht, und die Ökologie der dort wild lebenden Tier- und Pflanzenarten sind zum Großteil wenig bekannt.

- **Schwellenwerte** sind zu definieren in Bezug auf akzeptable bzw. nicht akzeptable Risiken. Diese ergeben sich allerdings nicht aus der Risiko-Analyse selbst, sondern müssen von Entscheidungsträgern gesetzt werden (Raybould & Wilkinson 2005). Dabei sind sowohl Schwellenwerte für ökologische Belange (z.B. Naturschutz, ökosystemare Leistungen) als auch für ökonomische Belange (z.B. Sortenreinheit, Koexistenz) zu setzen. Darüber hinaus muss die Verantwortlichkeit geklärt werden, falls Schäden für Umwelt oder Landwirtschaft entstehen.

Literatur

- Aaziz R & Tepfer M** (1999) Recombination in RNA viruses and in virus-resistant transgenic plants. *Journal of General Virology*, **80**, 1339-1346
- Ad hoc-AG** (2004) (*Ad hoc* - „Arbeitsgruppe Naturschutz und Gentechnik“ der LANA, LAG und der Bundesländer-AG „Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen“). Arbeitsauftrag der vACK der 61. UMK Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Organismen - insbesondere Monitoring von GVO und seine Finanzierung vom 17. Juni 2004. Unveröff. Manuskript.
- Adler LS, Wikler K, Wyndham FS, Linder CR, Schmitt J** (1993) Potential for persistence of genes escaped from canola - Germination cues in crop, wild, and crop-wild hybrid *Brassica rapa*. *Functional Ecology*, **7**, 736-745
- AGAM** 2000. (BBA-Arbeitsgruppe "Anbaubegleitendes Monitoring gentechnisch veränderter Pflanzen im Agrärkosystem") Anbaubegleitendes Monitoring gentechnisch veränderter Pflanzen im Agrärkosystem. Mitteilungen aus der BBA-Arbeitsgruppe, erweiterte Fassung der Veröffentlichung im Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes (Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 52 (9)). <http://www.bba.de/abm-gvp/abm-mitteil1.pdf>
- Ahrenholtz I, Harms K, De Vries J, Wackernagel W** (2000) Increased killing of *Bacillus subtilis* on the hair roots of transgenic T4 lysozyme-producing potatoes. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**, 1862-1865
- Akhurst RJ, James W, Bird L, Beard C** (2003) Resistance to the Cry1Ac d-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, **96**, 1290-1299
- Al-Kaff NS, Kreike MM, Covey SN, Pitcher R, Page AM, Dale PJ** (2000) Plants rendered herbicide-susceptible by cauliflower mosaic virus-elicited suppression of a 35S promoter-regulated transgene. *Nature Biotechnology*, **18**, 995-999
- Alexander HM, Cummings CL, Kahn L, Snow AA** (2001) Seed size variation and predation of seeds produced by wild and crop-wild sunflowers. *American Journal of Botany*, **88**, 623-627. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~asnowlab/alexanderetal01.pdf>
- Ammann K, Jacot Y, Al Mazyad PR** (2000) Weediness in the light of new transgenic crops and their potential hybrids. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, Sp. Iss. **S7**, 19-29. <http://www.botanischergarten.ch/debate/weeds1.pdf>
- Anderson PL, Hellmich RL, Sears MK, Sumerford DV, Lewis LC** (2004) Effects of Cry1Ab-expressing corn anthers on monarch butterfly larvae. *Environmental Entomology*, **33**, 1109-1115
- Andow DA & Hilbeck A** (2004) Science-based risk assessment for nontarget effects of transgenic crops. *BioScience*, **54**, 637-649
- Anonymus** (2003) Position Paper: The safety of genetically modified foods produced through biotechnology. *Toxicology Sciences*, **72**, 2-8
- Anonymus** (2005) Proceedings of the 8th international symposium on the biosafety of genetically modified organisms. September 26-30, 2004, Montpellier, France. Institut National de la Recherche Agronomique. http://www.isbr.info/document/proceedings_montpellier2004.pdf
- Arias DM & Rieseberg LH** (1994) Gene flow between cultivated and wild sunflowers. *Theoretical and Applied Genetics*, **89**, 655-660
- Arnold ML** (1997) *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press, Oxford.
- Arpaia S** (1996) Ecological impact of *Bt*-transgenic plants: 1. Assessing possible effects of CryIIIB toxin on honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Journal of Genetic Breeding*, **50**, 315-319
- Arriola PE & Ellstrand NC** (1996) Crop-to-weed gene flow in the genus *Sorghum* (Poaceae): Spontaneous interspecific hybridization between johnsongrass, *Sorghum halepense*, and crop sorghum, *S. bicolor*. *American Journal of Botany*, **83**, 1153-1159
- Arriola PE & Ellstrand NC** (1997) Fitness of interspecific hybrids in the genus *Sorghum*: Persistence of crop genes in wild populations. *Ecological Applications*, **7**, 512-518
- Assuncao AGL, Martins PD, De Folter S, Vooijs R, Schat H, Aarts MGM** (2001) Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell and Environment*, **24**, 217-226
- Badosa E, Moreno C, Montesinos E** (2004) Lack of detection of ampicillin resistance gene transfer from Bt176 transgenic corn to culturable bacteria under field conditions. *Fems Microbiology Ecology*, **48**, 169-178
- Baker AJM & Brooks RR** (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, **1**, 126
- Bakker H, Bardor M, Molthoff JW, Gomord V, Elbers I, Stevens LH, Jordi W, Lommen A, Faye L, Lerouge P, Bosch D** (2001) Galactose-extended glycans of antibodies produced by transgenic plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 2899-2904
- Bakshi A** (2003) Potential adverse health effects of genetically modified crops. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **6**, 211-25

- Banuelos G, Terry N, Leduc DL, Pilon-Smits EAH, Mackey B** (2005) Field trial of transgenic Indian mustard plants shows enhanced phytoremediation of selenium-contaminated sediment. *Environmental Science and Technology*, **39**, 1771-1777
- Barac T, Taghavi S, Borremans B, Provoost A, Oeyen L, Colpaert JV, Vangronsveld J, van der Lelie D** (2004) Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nature Biotechnology*, **22**, 583-588
- Baranger A, Chevre AM, Eber F, Renard M** (1995) Effect of oilseed rape genotypes on the spontaneous hybridization rate with a weedy species: An assessment of transgene dispersal. *Theoretical and Applied Genetics*, **91**, 956-963
- Bartsch D** (2004a) Umweltbeobachtung (Monitoring) und Überwachung von gentechnisch veränderten Pflanzen - Rahmenbedingungen für das Land Brandenburg. In: Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen. *Studien und Tagungsberichte des Landesumweltamtes*, **48**, 10-13.
http://www.mlur.brandenburg.de/cms/media.php/2320/luabd_48.pdf
- Bartsch D, Cuguen J, Biancardi E, Sweet J** (2003) Environmental implications of gene flow from sugar beet to wild beet - Current status and future research needs. *Environ. Biosafety Res.*, **2**, 105-115
- Bartsch D & Ellstrand NC** (1999) Genetic evidence for the origin of Californian wild beets (genus *Beta*). *Theor Appl Genet*, **99**, 1130
- Bartsch D, Lehnen M, Clegg J, Pohl-Orf M, Schuphan I, Ellstrand NC** (1999) Impact of gene flow from cultivated beet on genetic diversity of wild sea beet populations. *Molecular Ecology*, **8**, 1733-1741
- Bartsch D & Pohl-Orf M** (1996) Ecological aspects of transgenic sugar beet: Transfer and expression herbicide resistance in hybrids with wild beets. *Euphytica*, **91**, 55-58
- Bartsch D, Schmidt M, Pohl-Orf M, Haag C, Schuphan I** (1996) Competitiveness of transgenic sugar beet resistant to beet necrotic yellow vein virus and potential impact in wild beet populations. *Molecular Ecology*, **5**, 199-205
- Bartsch D** (2004b) Schadensbegriffe in Zusammenhang mit europäischen Regelungen zu gentechnisch veränderten Pflanzen. In: *Ökologische Schäden. Begriffliche, methodologische und ethische Aspekte* (Hg. Potthast T), Theorie in der Ökologie Band 10. Peter Lang Verlag, Frankfurt/M.
http://www.biosicherheit.de/pdf/aktuell/oekoscha_bartsch.pdf
- Bartz R, Heink U, Kowarik I** (2005) Ökologische Schäden durch Anwendungen der Agro-Gentechnik: zum Schadensbegriff und dessen Operationalisierung. *Natur und Landschaft*, **7**, 320-322
- Bates SL, Zhao J-Z, Roush RT, Shelton AM** (2005) Insect resistance management in GM crops: Past, present and future. *Nature Biotechnology*, **23**, 57-62
- Baur ME & Boethel DJ** (2003) Effect of *Bt*-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biological Control*, **26**, 325-332
- Bavage AD, Buck E, Dale P, Moyes C, Senior I** (2002) Analysis of a backcross population from a multi-copy transgenic *Brassica napus* line. *Euphytica*, **124**, 333-340
- Becher M, Talke IN, Krall L, Kramer U** (2004) Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant Journal*, **37**, 251-268
- Beckie HJ, Warwick SI, Nair H, Seguin-Swartz GS** (2003) Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). *Ecological Applications*, **13**, 1276-1294
- Belanger FC, Meagher TR, Day PR, Plumley K, Meyer WA** (2003) Interspecific hybridization between *Agrostis stolonifera* and related *Agrostis* species under field conditions. *Crop Science*, **43**, 240-246
- Benkert D, Fukarek F, Korsch H** (1996) *Verbreitungsatlas der Farn- und Blütenpflanzen Ostdeutschlands*. Fischer, Jena.
- Bensasson, D, Boore, JL, AND Nielsen, KM** 2004. Genes without frontiers? *Scholarship Repository, University of California*. <http://repositories.cdlib.org/lbnl/LBNL-53614>
- Benzler A** (2004) Anforderungen an das Monitoring der Auswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen. In: *NABU-Tagungsband: Auswirkungen der grünen Gentechnik auf die Biodiversität. Anforderungen an eine ökologische Sicherheitsforschung*. 2.12.2004, Berlin (
- Bergelson J, Purrington CB, Palm CJ, LopezGutierrez JC** (1996a) Costs of resistance: A test using transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **263**, 1659-1663
- Bergelson J, Purrington CB, Wichmann G** (1998b) Promiscuity in transgenic plants. *Nature*, **395**, 25
- Berhorn F, Seitz H, Finck M** (2005) Methodenstandards für ein Monitoring gentechnisch veränderter Organismen. *Natur und Landschaft*, **7**, 324-327
- Bernal CC, Aguda RM, Cohen MB** (2002a) Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **102**, 21-28
- Bernal JS, Griset JG, Gillogly PO** (2002b) Impacts of developing on *Bt* maize-intoxicated hosts on fitness parameters of a stem borer parasitoid. *J. Entomol. Sci.*, **37**, 27-40

- Bernstein IL, Bernstein JA, Miller M, Tierzieva S, Bernstein DI, Lummus Z, Selgrade MJK, Doerfler DL, Seligy VL** (1999) Immune responses in farm workers after exposure to *Bacillus thuringiensis* pesticides. *Environmental Health Perspectives*, **107**, 575-582
- Bernstein JA, Bernstein IL, Bucchini L, Goldman LR, Hamilton RG, Lehrer S, Rubin C, Sampson HA** (2003) Clinical and laboratory investigation of allergy to genetically modified foods. *Environmental Health Perspectives*, **111**, 1114-1121
- Bertolla F, Frostesard A, Brito B, Nesme X, Simonet P** (1999) During infection of its host, the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* naturally develops a state of competence and exchanges genetic material. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **12**, 467-472
- Bertolla F, Pepin R, Passelegue-Robe E, Paget E, Simkin A, Nesme X, Simonet P** (2000) Plant genome complexity may be a factor limiting in situ the transfer of transgenic plant genes to the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**, 4161-4167
- Bing DJ, Downey RK, Rakow GFW** (1996) Hybridizations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the fields. *Plant Breeding*, **115**, 470-473
- Birch ANE, Geoghegan IE, Griffiths DW, McNicol JW** (2001) The effect of genetic transformations for pest resistance on foliar solanidine-based glycoalkaloids of potato (*Solanum tuberosum*). *Annals of Applied Biology*, **140**, 143-149
- Bizily SP, Rugh CL, Meagher RB** (2000) Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. *Nature Biotechnology*, **18**, 213-217
- BLAG** (2003) (Bund/Länderarbeitsgruppe "Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen") Entwurf eines Konzepts für das Monitoring von gentechnisch veränderten Organismen (GVO). 23/03: 169-209 (Umweltbundesamt). Monitoring von gentechnisch veränderten Pflanzen: Instrument einer vorsorgenden Umweltpolitik. Dokumentation des Symposiums vom 13. Juni 2002, Berlin.
- Blennow A, Nielsen TH, Baunsgaard L, Mikkelsen R, Engelsen SB** (2002) Starch phosphorylation: A new front line in starch research. *Trends Plant Sci*, **7**, 445-450
- Boerjan W** (2005) Biotechnology and the domestication of forest trees. *Current Opinion in Biotechnology*, **16**, 159-166
- Bohan DA, Boffey CWH, Brooks DR, Clark SJ, Dewar AM, Firbank LG, Haughton AJ, Hawes C, Heard MS, May MJ, Osborne JL, Perry JN, Rothery P, Roy DB, Scott RJ, Squire GR, Woiod IP, Champion GT** (2005) Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide management in genetically modified herbicide-tolerant winter-sown oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **272**, 463-474
- Boothe JG, Saponja JA, Parmenter DL** (1997) Molecular farming in plants: Oilseeds as vehicles for the production of pharmaceutical proteins. *Drug Development Research*, **42**, 172-181
- Boudry P, Morchen M, Saumitoulaprade P, Vernet P, Vandijk H** (1993) The origin and evolution of weed beets - Consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beets. *Theoretical and Applied Genetics*, **87**, 471-478
- Bourguet D** (2004) Resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in the European corn borer: What chance for *Bt* maize? *Physiological Entomology*, **29**, 251-256
- Brauner R, Moch K, Christ H** (2004) *Aufbereitung des Wissensstandes zu Auskreuzungsdistanzen*. Öko-Institut, Freiburg. 72 S. http://www.bioland.de/bioland/aktuell/download/gentechnik_auskreuzung.pdf
- Breckling B, Middelhoff U, Borgmann P, Menzel G, Brauner R, Born A, Laue H, Schmidt G, Schröder W, Wurbs A, Glemnitz M** (2003) Biologische Risikoforschung zu gentechnisch veränderten Pflanzen in der Landwirtschaft: Das Beispiel Raps in Norddeutschland. In: *GfÖ Arbeitskreis Theorie in der Ökologie 2003: Gene, Bits und Ökosysteme* (Hg. Reuter H, Breckling B, Mittwollen A), S. 19-45. P. Lang Verlag, Frankfurt.
- Breckling B & Verhoeven, R** (Hg.) (2004) *Risk, Hazard, Damage: Specification of criteria to assess environmental impact of genetically modified organisms*. Naturschutz und Biologische Vielfalt.
- Breckling B & Züghart W** (2001) Die Etablierung einer ökologischen Langzeitbeobachtung beim großflächigen Anbau transgener Nutzpflanzen. In: *Bewertung von Umweltwirkungen von gentechnisch veränderten Organismen im Zusammenhang mit naturschutzbezogenen Fragestellungen* (Hg. Lemke M & Winter G), S. 319-340. Umweltbundesamt-Berichte.
- Breckling B & Menzel G** (2004) Self-organized pattern in oilseed rape distribution - An issue to be considered in risk analysis. In: *Risk Hazard Damage - Specification of Criteria to Assess Environmental Impact of Genetically Modified Organisms* (Hg. Breckling B & Verhoeven R), S. 73-87. Naturschutz und Biologische Vielfalt 1.
- Breckling B & Potthast T** (2004) Der ökologische Schadensbegriff - Eine Einführung. In: *Ökologische Schäden. Begriffliche, methodologische und ethische Aspekte* (Hg. Potthast T), S. 1-15. Theorie in der Ökologie, Band 10. Peter Lang, Frankfurt/M.
- Bretagnolle F & Thompson JD** (1995) Gametes with the somatic chromosome number: Mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. *New Phytologist*, **129**, 1-22
- Brill WJ** (1985) Safety concerns and genetic engineering in agriculture. *Science*, **227**, 381-384

- Brimner TA, Gallivan GJ, Stephenson GR** (2005) Influence of herbicide-resistant canola on the environmental impact of weed management. *Pest Management Science*, **61**, 47-52
- Broothaerts W, Mitchell HJ, Weir B, Kaines S, Smith LMA, Yang W, Mayer JE, Roa-Rodriguez C, Jefferson RA** (2005) Gene transfer to plants by diverse species of bacteria. *Nature*, **433**, 629-633
- Bruinsma M, Kowalchuk GA, Van Veen JA** (2002) Effects of genetically modified plants on soil ecosystems. *COGEM Report*. http://www.cogem.net/pdfdb/rapport/Effects_of_gm-plants_on_soil_ecosystems.pdf
- Brunet YFX, Audran A, Garrigou D, Dayau.S., Tardieu.L.** (2003) Evidence for long-range transport of viable maize pollen grains. In: *Proceedings of the 1st European Conference on the Co-existence of Genetically Modified Crops with Conventional and Organic Crops* (Hg. Boelt B), S. 74-76. Danish Institute of Agricultural Sciences, Slagelse, Denmark.
- Brunner E & Millstone E** (1999) Health risks of genetically modified foods. *Lancet*, **354**, 71
- Bucchini L & Goldman LR** (2002) Starlink corn: A risk analysis. *Environmental Health Perspectives*, **110**, 5-13
- Bundestag** (1997) Gesetz zu dem Übereinkommen vom 5. Juni 1992 über die biologische Vielfalt. In der Fassung vom 30. August 1993. *Bundesgesetzblatt 1993 Teil II*, S. 1741. <http://www.jura.uni-sb.de/BGBl/TEIL2/1993/19931741.2.HTML>
- Bundestag** (2002) Gesetz über Naturschutz und Landschaftspflege. Bundesnaturschutzgesetz (BNatSchG). Zuletzt geändert durch Art. 2 G v. 21.12.2004. *BGBl I 2002* 1193:
- Bundestag** (2004) Gesetz zur Neuordnung des Gentechnikrechts (GenTNeuordG). Vom 21. Dezember 2004. *Bundesgesetzblatt 2005 Teil I*, Nr. 8, S. 186-196. <http://www.jura.uni-sb.de/BGBl/TEIL2/1993/19931741.2.HTML>
- Burgess EPJ, Malone LA, Christeller JT, Lester MT, Murray C, Philip BA, Phung MM, Tregidga EL** (2002) Avidin expressed in transgenic tobacco leaves confers resistance to two noctuid pests, *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. *Transgenic Research*, **11**, 185-198
- Burke JM & Rieseberg LH** (2003) Fitness effects of transgenic disease resistance in sunflowers. *Science*, **300**, 1250. <http://www.botanischergarten.ch/Geneflow/Burke-Riesenberg-Science-2003.pdf>
- Burke JM, Voss TJ, Arnold ML** (1998) Genetic interactions and natural selection in *Louisiana iris* hybrids. *Evolution*, **52**, 1304-1310
- Burke M** (2003) GM crops. Effects on farmland wildlife (Summary of the scientific papers published in the Philosophical Transactions of the Royal Society (Biological Sciences), Vol. 358 (149): 1775-1889). (Farmscale Evaluations Research Team and the Scientific Steering Committee). <http://www.defra.gov.uk/environment/gm/fse/results/fse-summary.pdf>
- Burken JG & Schnoor JL** (1997) Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environmental Science & Technology*, **31**, 1399-1406
- Carrière Y & Tabashnik BE** (2001) Reversing insect adaptation to transgenic insecticidal plants. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **268**, 1475-1480
- Celis C, Scurrah M, Cowgill S, Chumbiauca S, Green J, Franco J, Main G, Kiezebrink D, Visser RGF, Atkinson HJ** (2004) Environmental biosafety and transgenic potato in a centre of diversity for this crop. *Nature*, **432**, 222-225
- Cellini F, Chesson A, Colquhoun I, Constable A, Davies HV, Engel KH, Gatehouse AMR, Kärenlampi S, Kok EJ, Leguay JJ, Lehesranta S, Noteborn HPJM, Pedersen J, Smith M** (2004) Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 1089-1125
- Chadoeuf R, Darmency H, Maillet J, Renard M** (1998) Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crops Research*, **58**, 197-204
- Chambers PA, Duggan PS, Heritage J, Forbes JM** (2002) The fate of antibiotic resistance marker genes in transgenic plant feed material fed to chickens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **49**, 161-164
- Chaney RL, Li YM, Brown SL, Homer FA, Malik M, Angle JS, Baker AJM, Reeves RD, Chin M** (2000) Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. In: *Phytoremediation of contaminated soil and water* (Hg. Terry N & Banuelos G), S. 129-158. CRC Press, Boca Raton.
- Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown SL, Brewer EP, Angle JS, Baker AJM** (1997) Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, 279-284
- Chassy B, Hlywka Jason J., Kleter GA, Kok EJ, Kuiper HA, McGloughlin M, Munro IC, Phipps RH, Reid JE** (2004) Nutritional and safety assessments of foods and feeds nutritionally improved through biotechnology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **3**, 1-104. <http://www.ift.org/pdfs/crfsfs/crfsfsv3n2p0035-0104ms20040106.pdf>
- Chen I & Dubnau D** (2004) DNA uptake during bacterial transformation. *Nature Reviews Microbiology*, **2**, 241-249
- Chen LJ, Lee DS, Song ZP, Suh HS, Lu BR** (2004) Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Annals of Botany*, **93**, 67-73
- Chevre AM, Eber F, Baranger A, Boucherie R, Brouqsault LM, Bouchet Y, Renard M** (1998a) Risk assessment on crucifer species. *Acta Horticulturae*, **459**, 219-224

- Chevre AM, Eber F, Baranger A, Hureau G, Barret P, Picault H, Renard M** (1998b) Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape wild radish F-1 interspecific hybrids: An assessment of transgene dispersal. *Theoretical and Applied Genetics*, **97**, 90-98
- Chevre AM, Eber F, Baranger A, Renard M** (1997) Gene flow from transgenic crops. *Nature*, **389**, 924
- Chevre AM, Eber F, Darmency H, Fleury A, Picault H, Letanneur JC, Renard M** (2000) Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theoretical and Applied Genetics*, **100**, 1233-1239
- Chilcutt CF & Tabashnik BE** (2004) Contamination of refuges by *Bacillus thuringiensis* toxin genes from transgenic maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 7526-7529
- Chilton M-D** (2005) Adding diversity to plant transformation. *Nature Biotechnology*, **23**, 309-310
- Claessen D, Gilligan CA, Lutman PJW, Van den Bosch F** (2005a) Which traits promote persistence of feral GM crops? Part 1: Implications of environmental stochasticity. *Oikos*, **110**, 20-29
- Claessen D, Gilligan CA, Van den Bosch F** (2005b) Which traits promote persistence of feral GM crops? Part 2: Implications of metapopulation structure. *Oikos*, **110**, 30-42
- Clausen M, Kräuter R, Schachermayr G, Potrykus I, Sautter C** (2000) Antifungal activity of a virally encoded gene in transgenic wheat. *Nature Biotechnology*, **18**, 446-449
- Clemens S** (2001) Developing tools for Phytoremediation: Towards a molecular understanding of plant metal tolerance and accumulation. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, **14**, 235-239
- Colwell RK, Norse EA, Pimentel D, Sharples FE, Simberloff D** (1985) Genetic- engineering in agriculture. *Science*, **229**, 111-112
- Conner AJ, Glare TR, Nap JP** (2003) The release of genetically modified crops into the environment - Part II. Overview of ecological risk assessment. *Plant Journal*, **33**, 19-46
- Conner AJ, Williams MK, Abernathy DJ** (1994) Field performance of transgenic potatoes. *NZJ Crop Hortic. Sci.*, **22**, 361-371
- Crawley MJ & Brown SL** (1995) Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 motorway. *Proceedings of the Royal Society London. Series B*, **259**, 49-54
- Crawley MJ, Hails RS, Rees M, Kohn D, Buxton J** (1993) Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature*, **363**, 620-623
- Cresswell JE, Davies TW, Patrick MA, Russell F, Pennel C, Vicot M, Lahoubi M** (2004) Aerodynamics of wind pollination in a zoophilous flower, *Brassica napus*. *Functional Ecology*, **18**, 861-866
- Cresswell JE & Osborne JL** (2004) The effect of patch size and separation on bumblebee foraging in oilseed rape: Implications for gene flow. *Journal of Applied Ecology*, **41**, 539-546
- Cuguen J, Arnaud JF, Delescluse M, Viard F** (2004) Crop-wild interaction within the *Beta vulgaris* complex: A comparative analysis of genetic diversity between sea beet and weed beet populations within the french sugar beet production area. In: *Introgression from Genetically Modified Crops into Wild Relatives* (Hg. Den Nijs JCM, Bartsch D, Sweet J), S. 183-202. CAB International Press, Oxon, UK.
- Dale EC & Ow DW** (1991) Gene transfer with subsequent removal of the selection gene from the host genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **88**, 10558-10562
- Dale PJ, Clarke B, Fontes EMG** (2002) Potential for the environmental impact of transgenic crops. *Nature Biotechnology*, **20**, 567-574
- Damgaard C & Kjellsson G** (2005) Gene flow of oilseed rape (*Brassica napus*) according to isolation distance and buffer zone. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **108**, 291-301
- Daniell H, Datta R, Varma S, Gray S, Lee SB** (1998) Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome. *Nature Biotechnology*, **16**, 345-348
- Daniell H, Khan MS, Allison L** (2002) Milestones in chloroplast genetic engineering: An environmentally friendly era in biotechnology. *Trends Plant Sci.*, **7**, 84-91
- Daniell H, Chebolu S, Kumar S, Singleton M, Falconer R** (2005) Chloroplast-derived vaccine antigens and other therapeutic proteins. *Vaccine*, **23**, 1779-1783
- Darmency H, Lefol E, Fleury A** (1998) Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. *Molecular Ecology*, **7**, 1467-1473
- Darvill B, Knight ME, Goulson D** (2004) Use of genetic markers to quantify bumblebee foraging range and nest density. *Oikos*, **107**, 471-478
- Datta A, Hendrix M, Lipsitch M, JinksRobertson S** (1997) Dual roles for DNA sequence identity and the mismatch repair system in the regulation of mitotic crossing-over in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 9757-9762
- Davison J** (2005) Risk mitigation of genetically modified bacteria and plants designed for bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **23**; [Epub ahead of print]
- De Faria RT, Destro D, Besspalhok JC, Illg RD** (2002) Introgression of in vitro regeneration capability of *Lycopersicon pimpinellifolium* Mill. into recalcitrant tomato cultivars. *Euphytica*, **124**, 59-63
- De Vries FR, Van der Meijden R, Brandenburg WA** (1992) Botanical files - A study of the real chances for spontaneous gene flow from cultivated plants to the wild flora of the Netherlands. *Gorteria, Suppl.*, **1**, 1-100

- De Vries IM** (1990) Crossing experiments of lettuce cultivars and species (*Lactuca* sect. *Lactuca*, Compositae). *Plant Systematics and Evolution*, **171**, 233-248
- De Vries J & Wackernagel W** (2002) Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 2094-2099
- De Vries J, Heine M, Harms K, Wackernagel W** (2003) Spread of recombinant DNA by roots and pollen of transgenic potato plants, identified by highly specific biomonitoring using natural transformation of an *Acinetobacter* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 4455-4462
- De Vries J, Meier P, Wackernagel W** (2001) The natural transformation of the soil bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Acinetobacter* sp. by transgenic plant DNA strictly depends on homologous sequences in the recipient cells. *Fems Microbiology Letters*, **195**, 211-215
- De Wet JMJ & Harlan JR** (1975) Weeds and domesticates: Evolution in man-made habitat. *Economic Botany*, **29**, 99-107
- Deblock M & Debrouwer D** (1991) 2 T-DNAs co-transformed into *Brassica napus* by a double *Agrobacterium tumefaciens* infection are mainly integrated at the same locus. *Theoretical and Applied Genetics*, **82**, 257-263
- Delourme R, Foisset N, Horvais R, Barret P, Champagne G, Cheung WY, Landry BS, Renard M** (1998) Characterisation of the radish introgression carrying the *Rfo* restorer gene for the Ogu-INRA cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **97**, 129-134
- Den Nijs CJM, Bartsch D, Sweet J** (2004) *Introgression from genetically modified plants into wild relatives*. CABI International, Oxon. 432 S.
- Depicker A, Herman L, Jacobs A, Schell J, Vanmontagu M** (1985) Frequencies of simultaneous transformation with different T-DNAs and their relevance to the *Agrobacterium* plant cell interaction. *Molecular & General Genetics*, **201**, 477-484
- Devine MD** (2005) Why are there not more herbicide-tolerant crops? *Pest Management Science*, **61**, 312-317
- Devine MD & Shukla A** (2000) Altered target sites as a mechanisms of herbicide resistance. *Crop Protection*, **19**, 881-889
- Di Giovanni GD, Watrud LS, Seidler RJ, Widmer F** (1999) Comparison of parental and transgenic alfalfa rhizosphere bacterial communities using biog GN metabolic fingerprinting and enterobacterial repetitive intergenic consensussequence-PCR (ERIC-PCR). *Microbial Ecology*, **37**, 129-139
- Dietz-Pfeilstetter A & Kirchner M** (1998) Analysis of gene inheritance and expression in hybrids between transgenic sugar beet and wild beets. *Molecular Ecology*, **7**, 1693-1700
- Dietz-Pfeilstetter A & Zwerger P** (2004) Dispersal of herbicide resistance genes during the large scale cultivation of different transgenic, herbicide resistant oilseed rape varieties. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Sp. Iss.* **19**, 831-838
- DiFazio SP** (2005) Measuring and modeling gene flow from hybrid poplar plantations: Implications for transgenic risk assessment. (Oregon Statue University). http://www.fsl.orst.edu/tgerc/dif_thesis/difaz_thesis.pdf
- DiFazio SP, Leonardi S, Cheng S, Strauss SH** (1999) Assessing potential risks of transgenic crops. In: *BCPC Symposium Proceedings No 72* (Hg. Lutman PJW), S. 171-176. British Crop Protection Council, Farnham, UK.
- DiFazio SP, Slavov GT, Burczyk J, Leonardi S, Strauss SH** (2004) Gene flow from tree plantations and implications for transgenic risk assessment. In: *Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century* (Hg. Walter C & Carson M), S. 405-422. <http://wwwdata.forestry.oregonstate.edu/tgbb/publications/RS%20Walter%202023.pdf>
- Dill GM** (2005) Glyphosate-resistant crops: history, status and future. *Pest Management Science*, **61**, 219-224
- Dingha BN, Moar WJ, Appel AG** (2004) Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry1C toxin on the metabolic rate of Cry1C resistant and susceptible *Spodoptera exigua* (Lepidoptera : Noctuidae). *Physiological Entomology*, **29**, 409-418
- Dively GP, Rose R, Sears MK, Hellmich RL, Stanley-Horn DE, Calvin DD, Russo JM, Anderson PL** (2004) Effects on monarch butterfly larvae (Lepidoptera : Danaidae) after continuous exposure to Cry1Ab-expressing corn during anthesis. *Environmental Entomology*, **33**, 1116-1125
- Doebley J** (1990) Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. Genes transformed into maize through genetic-engineering could be transferred to its wild relatives, the teosintes. *BioScience*, **40**, 443-448
- Donegan KK, Seidler RJ, Fieland VJ, Schaller DL, Palm CJ, Ganio LM, Cardwell DM, Steinberger Y** (1997) Decomposition of genetically engineered tobacco under field conditions: Persistence of the proteinase inhibitor I product and effects on soil microbial respiration and protozoa, nematode and microarthropod populations. *Journal of Applied Ecology*, **34**, 767-777
- Doolittle WF** (1999) Phylogenetic classification and the universal tree. *Science*, **284**, 2124-2128
- Doran PM** (2000) Foreign protein production in plant tissue cultures. *Current Opinion in Biotechnology*, **11**, 199-204
- Doty SL, Shang TQ, Wilson AM, Tangen J, Westergreen AD, Newman LA, Strand SE, Gordon MP** (2000) Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P450 2E1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 6287-6291

- dpa 1999. Strengere EU-Zulassung für genmanipulierte Nahrungsmittel. <http://www.netlink.de/gen/Zeitung/1999/990625c.htm>
- Drager DB, Desbrosses-Fonrouge AG, Krach C, Chardonens AN, Meyer RC, Saumitou-Laprade P, Kramer U** (2004) Two genes encoding *Arabidopsis halleri* MTP1 metal transport proteins co-segregate with zinc tolerance and account for high *MTP1* transcript levels. *Plant Journal*, **39**, 425-439
- Dröschmeister R** (2001) Bundesweites Naturschutzmonitoring in der „Normallandschaft“ mit der Ökologischen Flächenstichprobe. *Natur und Landschaft*, **76**, 58-69
- Du JP, Foissac X, Carss A, Gatehouse AMR, Gatehouse JA** (2000) Ferritin acts as the most abundant binding protein for snowdrop lectin in the midgut of rice brown planthoppers (*Nilaparvata lugens*). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **30**, 297-305
- Duan JJ, Head G, McKee MJ, Nickson TE, Martin JW, Sayegh FS** (2002) Evaluation of dietary effects of transgenic corn pollen expressing Cry3Bb1 protein on a non-target ladybird beetle, *Coleomegilla maculata*. *Entomol. Exp. Appl.*, **104**, 271-280
- Duggan PS, Chambers PA, Heritage J, Forbes JM** (2000) Survival of free DNA encoding antibiotic resistance from transgenic maize and the transformation activity of DNA in ovine saliva, ovine rumen fluid and silage effluent. *Fems Microbiology Letters*, **191**, 71-77
- Duke SO** (2005) Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest Management Science*, **61**, 211-218
- Duke SO** (2003) Weeding with transgenes. *Trends in Biotechnology*, **21**, 192-195
- Dunfield KE & Germida JJ** (2001) Diversity of bacterial communities in the rhizosphere and root interior of field-grown genetically modified *Brassica napus*. *Fems Microbiology Ecology*, **38**, 1-9
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F** (2002) Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology*, **27**, 441-447
- Eapen S & D'Souza SF** (2005) Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnology Advances*, **23**, 97-114
- Eastham K & Sweet J** (2002) Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. *Environmental issue report*, **28**.
http://reports.eea.eu.int/environmental_issue_report_2002_28/en/GMOs%20for%20www.pdf
- Eber F, Boucherie R, Broucsault LM, Bouchet Y, Chevre AM** (1998) Spontaneous hybridisation between vegetable crops and weeds. 1: Garden radish (*Raphanus sativus* L.) and wild mustard (*Sinapis arvensis* L.). *Agronomie*, **18**, 489-497
- Eber F, Chevre AM, Baranger A, Vallée P, Tanguy X, Renard M** (1994) Spontaneous hybridization between a male-sterile oilseed rape and two weeds. *Theoretical and Applied Genetics*, **88**, 362-368
- Editor** (2002) Editorial note. *Nature*, **416**, 601
- EFSA GMO Panel** 2004b. Draft guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. <http://www.efsa.eu.int>
- EFSA GMO Panel** (2004c) Guidance document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. *The EFSA Journal*, **99**, 1-94
- EFSA GMO Panel** (2004a) Opinion of the GMO-Panel related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically maize 1507 for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International / Mycogen Seeds. *The EFSA Journal*, **124**, 1-33
- Einspanier R, Klotz A, Kraft J, Aulrich K, Poser R, Schwägele F, Jahreis G, Flachowsky G** (2001) The fate of forage plant DNA in farm animals: A collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. *European Food Research and Technology*, **212**, 129-134
- Einspanier R, Lutz B, Rief S, Berezina O, Zverlov V, Schwarz W, Mayer J** (2004) Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize. *European Food Research and Technology*, **218**, 269-273
- Eizaguirre M, Lopez C, Albajes R** (2004) Dispersal capacity in the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **113**, 25-34
- Ellis DR, Sors TG, Brunk DG, Albrecht C, Orser C, Lahner B, Wood KV, Harris HH, Pickering IJ, Salt DE** (2004) Production of Se-methylselenocysteine in transgenic plants expressing selenocysteine methyltransferase. *BMC Plant Biology*, **4**, 1-11
- Ellstrand NC** (1992) Gene flow by pollen - Implications for plant conservation genetics. *Oikos*, **63**, 77-86
- Ellstrand NC** (2001) When transgenes wander, should we worry? *Plant Physiology*, **125**, 1543-1545
- Ellstrand NC** (2003a) *Dangerous liaisons? When cultivated plants mate with their wild relatives*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Ellstrand NC, Devlin B, Marshall DL** (1989) Gene flow by pollen into small populations: Data from experimental and natural stands of wild radish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **86**, 9044-9047
- Ellstrand NC & Hoffman CA** (1990) Hybridization as an avenue of escape for engineered genes - Strategies for risk reduction. *BioScience*, **40**, 438-442

- Ellstrand NC** (2003b) Current knowledge of gene flow in plants: Implications for transgene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London (Biology)*, **358**, 1163-1170.
<http://www.cpb.ucdavis.edu/bioinv/downloads/core2004/Transgene%20flow%20Ellstrand%202003.pdf>
- Ellstrand NC, Prentice HC, Hancock JF** (1999) Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **30**, 539-563
- Escher N, Käch B, Nentwig W** (2000) Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Procellio scaber* (Crustacea : Isopoda). *Basic and Applied Ecology*, **1**, 161-169
- Europäische Kommission** (2003a) For the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. *Quelle?*, **1**
- Europäische Kommission** (2001) Richtlinie 2001/18/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. März 2001 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt und zur Aufhebung der Richtlinie 90/220/EWG des Rates. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, **L106**, 1-38.
http://europa.eu.int/eur-lex/pri/de/oj/dat/2001/l_106/l_10620010417de00010038.pdf
- Europäische Kommission** (2002) Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. *Official Journal of the European Communities*, **L 31**, 1-24
- Europäische Kommission** (2003b) Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über genetisch veränderte Lebensmittel und Futtermittel. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, **L268**, 1-23. http://europa.eu.int/eur-lex/pri/de/oj/dat/2003/l_268/l_26820031018de00010023.pdf
- Europäische Kommission** (2003c) Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von genetisch veränderten Organismen und über die Rückverfolgbarkeit von aus genetisch veränderten Organismen hergestellten Lebensmitteln und Futtermitteln sowie zur Änderung der Richtlinie 2001/18. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, **L268**, 24-28. http://europa.eu.int/eur-lex/pri/de/oj/dat/2001/l_106/l_10620010417de00010038.pdf
- Ewen SWB & Pusztai A** (1999a) Health risks of genetically modified foods. *Lancet*, **354**, 684
- Ewen SWB & Pusztai A** (1999b) Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *The Lancet*, **354**, 1353-1354
- Fan X, Zhao J-Z, Fan Y, Shi X** (2000) Inhibition of transgenic *Bt* plants to the growth of cotton bollworm. *Plant Protection*, **26**, 3-5
- FAO & WHO** (2001) Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Rome (FAO/WHO).
- FAO & WHO** (2003) Evaluation of allergenicity of genetically modified foods.
- Farinos GP, De la Poza M, Hernandez-Crespo P, Ortego F, Castanera P** (2004) Resistance monitoring of field populations of the corn borers *Sesamia nonagrioides* and *Ostrinia nubilalis* after 5 years of *Bt* maize cultivation in Spain. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **110**, 23-30
- Felix H** (1997) Field trials for in situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, **160**, 525-529
- Ferré J, Real MD, Van Rie J, Jansens S, Peferoen M** (1991) Resistance to the *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field population of *Plutella xylostella* is due to a change in a midgut membrane receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **88**, 5119-5123
- Ferré J & Van Rie J** (2002) Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, **47**, 501-533
- Firbank LG, Dewar AM, Hill MO, May MJ, Perry JN, Rothery P, Squire GR, Woiwod IP** (1999) Farm-scale evaluation of GM crops explained. *Nature*, **399**, 727-728
- Firbank LG, Heard MS, Woiwod IP, Hawes C, Haughton AJ, Champion GT, Scott RJ, Hill MO, Dewar AM, Squire GR, May MJ, Brooks DR, Bohan DA, Daniels RE, Osborne JL, Roy DB, Black HJ, Rothery P, Perry JN** (2003a) An introduction to the farm-scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 2-16
- Firbank LG, Perry JN, Squire GR, Bohan DA, Brooks DR, Champion GT, Clark SJ, Daniels RE, Dewar AM, Haughton AJ, Hawes C, Heard MS, Hill MO, May MJ, Osborne JL, Rothery P, Roy DB, Scott RJ, Woiwod IP** (2003b) The implications of spring-sown genetically modified herbicide-tolerant crops for farmland biodiversity: A commentary on the farm scale evaluations of spring sown crops. 2-3-2005b
<http://www.defra.gov.uk/environment/gm/fse/results/fse-commentary.pdf>
- Fischer R, Stoger E, Schillberg S, Christou P, Twyman RM** (2004) Plant-based production of biopharmaceuticals. *Current Opinion in Biotechnology*, **7**, 152-158
- Forsman A, Ushameckis D, Bindra A, Yun Z, Blomberg J** (2003) Uptake of amplifiable fragments of retrotransposon DNA from the human alimentary tract. *Molecular Genetics and Genomics*, **270**, 362-368
- Frankel OM, Brown AHD, Burdon JJ** (1995) *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge University Press, Cambridge. 299 S.
- Frederick, RJ** 2002. Environmental implications of plants modified to contain insecticidal genes.
<http://cfpubl.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=51930>

- Frederick, RJ** (2005). Non-target and ecosystem impacts from genetically modified crops containing plant incorporated protectants (pips). <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?PrintVersion=True&deid=56547>
- French CE, Rosser SJ, Davies GJ, Nicklin S, Bruce NC** (1999) Biodegradation of explosives by transgenic plants expressing pentaerythritol tetranitrate reductase. *Nature Biotechnology*, **17**, 491-494
- Freudling C** (2004) The circumstances surrounding glyphosate resistant horseweed in more than nine US States. In: *Risk Hazard Damage - Specification of Criteria to Assess Environmental Impact of Genetically Modified Organisms* (Hg. Breckling B & Verhoeven R), S. 61-71. Naturschutz und Biologische Vielfalt. Bundesamt für Naturschutz, Bonn.
- Friends of the Earth Europe** (2004) Throwing caution to the wind. <http://www.foeeurope.org/GMOs/publications/EFSAreport.pdf>
- Fuchs M, Chirco EM, Gonsalves D** (2004a) Movement of coat protein genes from a commercial virus-resistant transgenic squash into a wild relative. *Environ. Biosafety Res.*, **3**, 5-16
- Fuchs M, Chirco EM, McFerson JR, Gonsalves D** (2004b) Comparative fitness of a wild squash species and three generations of hybrids between wild x virus-resistant transgenic squash. *Environmental Biosafety Research*, **3**, 17-28
- Gebhard F & Smalla K** (1998) Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**, 1550-1554
- Gebhard F & Smalla K** (1999) Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *Fems Microbiology Ecology*, **28**, 261-272
- Gerdemann-Knörck M & Tegeder M** (1997) Kompendium der für Freisetzen relevanten Pflanzen; hier: Brassicaceae, *Beta vulgaris*, *Linum usitatissimum*. *UBA-Texte*, **38/97**
- Germida JJ, Siciliano SD, De Freitas R, Seib AM** (1998) Diversity of root-associated bacteria associated with field-grown canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Fems Microbiology Ecology*, **26**, 43-50
- Gianessi G** (2005) Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, **61**, 241-245
- Giddings GD** (2000) Modelling the spread of pollen from *Lolium perenne*. The implications for the release of wind-pollinated transgenics. *Theoretical and Applied Genetics*, **100**, 971-974
- Giddings GD, Sackville Hamilton NR, Hayward MD** (1997a) The release of genetically modified grasses. Part 2: The influence of wind direction on pollen dispersal. *Theor Appl Genet*, **94**, 1007-1014
- Giddings GD, Sackville Hamilton NR, Hayward MD** (1997b) The release of genetically modified grasses. Part 1: Pollen dispersal to traps in *Lolium perenne*. *Theor Appl Genet*, **94**, 1000-1006
- Giddings G, Allison G, Brooks D, Carter A** (2000) Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals. *Nature Biotechnology*, **18**, 1151-1155
- Glaser JA & Matten SR** (2003) Sustainability of insect resistance management strategies for transgenic *Bt* corn. *Biotechnology Advances*, **22**, 45-69
- Gleba Y, Klimyuk V, Marillonnet S** (2005) Magniflection - A new platform for expressing recombinant vaccines in plants. *Vaccine*, **23**, 2042-2048
- Gliddon C** (1994) The impact of hybrids between genetically-modified crop plants and their related species - Biological models and theoretical perspectives. *Molecular Ecology*, **3**, 41-44
- Godfree RC, Woods MJ, Young AG, Burdon JJ, Higgins TJV** (2004a) Growth, fecundity and competitive ability of transgenic *Trifolium subterraneum* subsp *subterraneum* cv. Leura expressing a sunflower seed albumin gene. *Hereditas*, **140**, 229-244
- Godfree RC, Young AG, Lonsdale WM, Woods MJ, Burdon JJ** (2004b) Ecological risk assessment of transgenic pasture plants: A community gradient modelling approach. *Ecology Letters*, **7**, 1077-1089
- Goldsbrough AP, Lastrella CN, Yoder JI** (1993) Transposition mediated repositioning and subsequent elimination of marker genes from transgenic tomato. *Bio-Technology*, **11**, 1286-1292
- Goldstein DA, Tinland B, Gilbertson LA, Staub JM, Bannon GA, Goodman RE, McCoy RL, Silvanovich A** (2005) Human safety and genetically modified plants: A review of antibiotic resistance markers and future transformation selection technologies. *Journal of Applied Microbiology*, **99**, 7-23
- Gomord V, Sourrouille C, Fitchette A-C, Bardor M, Pagny S, Lerouge P, Faye L** (2004) Production and glycosylation of plant-made pharmaceuticals: The antibodies as a challenge. *Plant Biotechnology Journal*, **2**, 83-100
- Gorbunova V & Levy AA** (2000) Analysis of extrachromosomal Ac/Ds transposable elements. *Genetics*, **155**, 349-359
- Gordon M, Choe N, Duffy J, Ekuan G, Heilman P, Muiznieks I, Ruszaj M, Shurtleff BB, Strand S, Wilmoth J, Newman LA** (1998) Phytoremediation of trichloroethylene with hybrid poplars. *Environmental Health Perspectives*, **106**, 1001-1004
- Götz R & Ammer F** (2000) Ergebnisse der Anwendung von Liberty in transgenem Winterraps in Thüringen. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **Sp. Iss. S7**, 397-401
- Gould F** (2003) *Bt*-resistance management - Theory meets data. *Nature Biotechnology*, **21**, 1450-1451

- Gould F, Anderson A, Reynolds A, Bumgarner L, Moar W** (1995) Selection and genetic analysis of a *Heliothis virescens* (Lepidoptera : Noctuidae) strain with high levels of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Economic Entomology*, **88**, 1545-1559
- Gould F** (1998) Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology*, **43**, 701-726
- Graef F, Züghart W, Hommel B, Heinrich U, Werner A, Stachow U** (2004) Integration und Bewertung regionaler Flächen- und Messnetzinformationen für die räumliche Planung des GVP-Monitoring in Brandenburg. In: Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen. *Studien und Tagungsberichte des Landesumweltamtes Brandenburg*. 48.
- Groot MHM, Van de Wiel CCM, Van Tienderen PH, Den Nijs JCM** (2003) Hybridisation and introgression between crops and wild relatives. Current knowledge and research priorities in lieu of impending introductions of GM crops. *COGEM Report*, **2003-2**. <http://www.cogem.net/pdfdb/rapport/CGM2003-02.pdf>
- Gruber S, Pekrun C, Claupein W** (2005) Life cycle and potential gene flow of volunteer oilseed rape in different tillage systems. *Weed Research*, **45**, 83-93
- Gruber S, Pekrun C, Claupein W** (2004c) Seed persistence of oilseed rape (*Brassica napus*): Variation in transgenic and conventionally bred cultivars. *Journal of Agricultural Science*, **142**, 29-40
- Gruber S, Pekrun C, Claupein W** (2004b) Reducing oilseed rape (*Brassica napus*) volunteers by selecting genotypes with low seed persistence. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **Sp. Iss. 19**, 151-159
- Gruber S, Pekrun C, Claupein W** (2004a) Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy*, **20**, 351-361
- Guadagnuolo R, Savova-Bianchi D, Felber F** (2001a) Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.), as revealed by RAPD and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**, 1-8
- Guadagnuolo R, Savova-Bianchi D, Keller-Senften J, Felber F** (2001b) Search for evidence of introgression of wheat (*Triticum aestivum* L.) traits into sea barley (*Hordeum marinum* s.str. Huds.) and bearded wheatgrass (*Elymus caninus* L.) in central and northern Europe, using isozymes, RAPD and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**, 191-196
- Guertaine G, Sester M, Eber F, Chevre AM, Darmency H** (2002) Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Molecular Ecology*, **11**, 1419-1426
- Gulden RH, Shirliffe SJ, Thomas AG** (2003) Harvest losses of canola (*Brassica napus*) cause large seedbank inputs. *Weed Science*, **51**, 83-86
- Gurian-Sherman D** (2003) *Holes in the Biotech Safety Net: FDA Policy Does Not Assure the Safety of Genetically Engineered Foods*. Center for Science in the Public Interest, http://www.cspinet.org/new/pdf/fda_report_final.pdf
- Haeupler H & Schönfelder P** (1988) *Atlas der Farn- und Blütenpflanzen der Bundesrepublik Deutschland*. Ulmer, Stuttgart. 768 S.
- Hails RS** (2000) Genetically modified plants - The debate continues. *Trends in Ecology and Evolution*, **15**, 14-18
- Haldane JBS** (1930) A mathematical theory of natural and artificial selection. Part IV: Isolation. *Proc. Cambridge Philos. Soc.*, **26**, 20-30
- Halfhill MD, Richards HA, Mabon SA, Stewart CN** (2001) Expression of GFP and *Bt*-transgenes in *Brassica napus* and hybridization with *Brassica rapa*. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**, 659-667
- Halfhill MD, Zhu B, Warwick SI, Raymer PL, Millwood RJ, Weissinger AK, Stewart CN Jr** (2004) Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. *Environmental Biosafety Research*, **3**, 73-81
- Hall L, Topinka K, Huffman J, Davis L, Good A** (2000) Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science*, **48**, 688-694
- Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhöft HC, Jørgensen SE** (1998) Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review. *Chemosphere*, **36**, 357-393
- Hancock JF** (2003) A framework for assessing the risk of transgenic crops. *BioScience*, **53**, 512-519
- Hannink N, Rosser SJ, French CE, Basran A, Murray JAH, Nicklin S, Bruce NC** (2001) Phytodetoxification of TNT by transgenic plants expressing a bacterial nitroreductase. *Nature Biotechnology*, **19**, 1168-1172
- Hanson B, Engler D, Moy Y, Newman B, Ralston E, Gutterson N** (1999) A simple method to enrich an *Agrobacterium*-transformed population for plants containing only T-DNA sequences. *Plant Journal*, **19**, 727-734
- Harlan JR** (1992) *Crops and man*. American Society of Agronomy, Madison.
- Harrison RG** (1990) Hybrid zones: Windows on evolutionary processes. In: *Oxford surveys in Evolutionary Biology* (S. 69-128. Oxford University Press, Oxford.

- Hauser TP** (2002) Frost sensitivity of hybrids between wild and cultivated carrots. *Conservation Genetics*, **3**, 75-78
- Hauser TP & Bjorn GK** (2001) Hybrids between wild and cultivated carrots in Danish carrot fields. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **48**, 499-506
- Hauser TP, Jorgensen RB, Ostergard H** (1998a) Fitness of backcross and F-2 hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, **81**, 436-443
- Hauser TP, Jorgensen RB, Ostergard H** (1997) Preferential exclusion of hybrids in mixed pollinations between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, **84**, 756-762
- Hauser TP, Shaw RG, Ostergard H** (1998b) Fitness of F-1 hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, **81**, 429-435
- Hawes C, Houghton AJ, Osborne JL, Roy DB, Clark SJ, Perry JN, Rothery P, Bohan DA, Brooks DR, Champion GT, Dewar AM, Heard MS, Woiwod IP, Daniels RE, Young MW, Parish AM, Scott RJ, Firbank LG, Squire GR** (2003) Responses of plants and invertebrate trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **358**, 1899-1913
- Haygood R, Ives AR, Andow DA** (2003) Consequences of recurrent gene flow from crops to wild relatives. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **270**, 1879-1886
- Haygood R, Ives AR, Andow DA** (2004) Population genetics of transgene containment. *Ecology Letters*, **7**, 213-220
- He K, Wang Z, Bai S, Zheng L, Wang Y** (2004) Field efficacy of transgenic cotton containing single and double toxin genes against the Asian corn borer (Lepidoptera : Pyralidae). *Journal of Applied Entomology*, **128**, 710-715
- Heap, I** 2005. The international survey of herbicide resistant weeds. <http://www.weedscience.org>
- Heap IM** (1997) The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pesticide Science*, **51**, 235-243
- Heaton ACP, Rugh CL, Wang NJ, Meagher RB** (1998) Phytoremediation of mercury- and methylmercury-polluted soils using genetically engineered plants. *Journal of Soil Contamination*, **7**, 497-509
- Heinemann JA & Traavik T** (2004) Problems in monitoring horizontal gene transfer in field trials of transgenic plants. *Nature Biotechnology*, **22**, 1105-1109
- Heissenberger A, Traxler A, Dolezel M, Miklau M, Kasal V, Gaugitsch H** (2004) *Monitoring von mit gentechnisch verändertem Mais kontaminierten Maisfeldern*. Bundesministerium für Gesundheit und Frauen, Wien.
- Helmich RL, Siegfried BD, Sears MK, Stanley-Horn DE, Daniels RE, Mattila HR, Spencer T, Bidne KG, Lewis LC** (2001) Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis* purified proteins and pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**, 11925-11930
- Herbers K & Sonnwald U** (1999) Production of new/modified proteins in transgenic plants. *Current Opinion in Biotechnology*, **10**, 163-168
- Heritage J** (2005) Transgenes for tea? *Trends in Biotechnology*, **23**, 17-21
- Herrero S, Oppert B, Ferre J** (2001) Different mechanisms of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in the indianmeal moth. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**, 1085-1089
- Herve C, Rouan D, Guerche P, Montane MH, Yot P** (1993) Molecular analysis of transgenic rapeseed plants obtained by direct transfer of 2 separate plasmids containing, respectively, the Cauliflower Mosaic Virus coat protein gene and a selectable marker gene. *Plant Science*, **91**, 181-193
- Hesse H** (2004) Umweltschäden und ökologisches Wissen - Kleine Zwischenbetrachtung aus philosophischer Sicht. In: *Ökologische Schäden. Begriffliche, methodologische und ethische Aspekte* (Hg. Potthast T), Theorie in der Ökologie Band 10. Peter Lang, Frankfurt/M.
- Heyer AG, Lloyd JR, Kossmann J** (1999) Production of modified polymeric carbohydrates. *Current Opinion in Biotechnology*, **10**, 169-174
- Hiatt ACCR & Bowdish K** (1998) Production of antibodies in transgenic plants. *Nature*, **342**, 76-78
- Hilbeck A** (2001) Implications of transgenic, insecticidal plants for insect and plant biodiversity. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **4**, 43-61
- Hilbeck A & Meier MS** (2005) Verfahren zur Beurteilung und Auswahl von Indikatoren für das GVO-Monitoring. *Naturschutz und Biologische Vielfalt, in Vorb.*
- Hilbeck A, Moar WJ, Pusztai-Carey M, Filippini A, Bigler F** (1999) Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **91**, 305-316
- Hirschberg J** (1999) Production of high-value compounds: Carotenoids and vitamin E. *Current Opinion in Biotechnology*, **10**, 186-191
- Ho M-W, Ryan A, Cummins J** (1999) Cauliflower mosaic viral promoter - A recipe for disaster? *Microbial Ecology in Health and Disease*, **11**
- Hodges SA, Burke JM, Arnold ML** (1996) Natural formation of *Iris* hybrids: Experimental evidence on the establishment of hybrid zones. *Evolution*, **50**, 2504-2509

- Hofmann F, Schlechtriemen U, Wosniok W, Foth M** (2005) GVO-Pollenmonitoring - Technische und biologische Pollenakkumulatoren und PCR-Screening für ein Monitoring von gentechnisch veränderten Organismen. *BfN-Skripte*, **139**. <http://www.bundesamt.de/09/skript139.pdf>
- Höfte H & Whiteley HR** (1989) Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, **53**, 242-255
- Hokanson SC, Hancock JF, Grumet R** (1997) Direct comparison of pollen-mediated movement of native and engineered genes. *Euphytica*, **96**, 397-&
- Hommel B & Pallutt B** (2004) Evaluation of glufosinate-resistant volunteer oilseed rape within a crop-rotation. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **Sp. Iss. 19**, 887-894
- Hooykaas PJJ & Schilperoort RA** (1992) *Agrobacterium* and plant genetic-engineering. *Plant Molecular Biology*, **19**, 15-38
- Hopkins DW, Marinari S, Tilston EL, Halpin C** (2005) *Lumbricus terrestris* counteract the effects of modified lignin biosynthesis on the decomposition of tobacco plant residues. *Soil Biology & Biochemistry*, **37**, 1141-1144
- Horvath H, Jensen LG, Wong OT, Kohl E, Ullrich SE, Cochran J, Kannangara CG, von Wettstein D** (2001) Stability of transgene expression, field performance and recombination breeding of transformed barley lines. *Theoretical and Applied Genetics*, **102**, 1-11
- Hu WJ, Harding SA, Lung J, Popko JL, Ralph J, Stokke DD, Tsai CJ, Chiang VL** (1999) Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. *Nature Biotechnology*, **17**, 808-812
- Huang F, Buschman LL, Higgins RA, McGaughey WH** (1999) Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dispel ES) in the European corn borer. *Science*, **284**, 965-967
- Hunt AG & Maiti IB** (2001) Strategies for expressing multiple foreign genes in plants as polycistronic constructs. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, **37**, 313-320
- Huschek G & Krengel D** (2004) Länderübergreifende Auswertung von Daten der Bodendauerbeobachtung der Länder. *UBA-Texte*. 50/04. Umweltbundesamt, Berlin.
- Iardi V & Barba M** (2002) Assessment of functional transgene flow in tomato fields. *Molecular Breeding*, **8**, 311-315
- Ip C & Ganther HE** (1992) Comparison of selenium and sulfur analogs in cancer prevention. *Carcinogenesis*, **13**, 1167-1170
- IUCNIUCN** (2001) The IUCN Red List of Threatened Species. *2001 IUCN Red List Categories and Criteria version 3.1*.
- Jaglo-Ottosen KR, Gilmour SJ, Zarka DG, Schabenberger O, Thomashow MF** (1998) *Arabidopsis CBF1* overexpression induces *COR* genes and enhances freezing tolerance. *Science*, **280**, 104-106
- James C** (2004) Preview: Global status of commercialized Biotech/GM crops 2004. No. 32: Ithaca, NY (ISAAA). ISAAA Briefs. [http://www.isaaa.org/kc/CBTNews/press_release/briefs32/ESummary/Executive%20Summary%20\(English\).pdf](http://www.isaaa.org/kc/CBTNews/press_release/briefs32/ESummary/Executive%20Summary%20(English).pdf)
- James MG, Denyer K, Myers AM** (2003) Starch synthesis in the cereal endosperm. *Current Opinion in Plant Biology*, **6**, 215-222
- Jasinski JR, Eislely JB, Young ce, Kovach J, Willson H** (2003) Select nontarget arthropod abundance in transgenic and nontransgenic field crops in Ohio. *Environ. Entomol.*, **32**, 407-413
- Jauhar PP** (1993) *Cytogenetics of the Festuca-Lolium complex. Relevance to plant breeding*. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Jayaraman KS** (2005) Indian *Bt* gene monoculture, a potential time bomb. *Nature Biotechnology*, **23**, 158
- Jenczewski E, Prospero JM, Ronfort J** (1999) Evidence for gene flow between wild and cultivated *Medicago sativa* (Leguminosae) based on allozyme markers and quantitative traits. *American Journal of Botany*, **86**, 677-687
- Jenczewski E, Ronfort J, Chevre A-M** (2003) Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. *Environmental Biosafety Research*, **2**, 9-24
- Jesse LCH & Obrycki JJ** (2000) Field deposition of *Bt* transgenic corn pollen: Lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*, **125**, 241-248
- Jobling SA, Westcott RJ, Tayal A, Jeffcoat R, Schwall GP** (2002) Production of a freeze-thaw-stable potato starch by antisense inhibition of three starch synthase genes. *Nature Biotechnology*, **20**, 295-299
- Jobling S** (2004) Improving starch for food and industrial applications. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**, 210-218
- Johnson E** (1996) Edible plant vaccines. *Nature Biotechnology*, **14**, 1532-1533
- Jones OA, Lester JN, Voulvoulis N** (2005) Pharmaceuticals: A threat to drinking water? *Trends in Biotechnology*, **23**, 163-167
- Jorgensen R** (1990) Altered gene expression in plants due to transinteractions between homologous genes. *Trends of Biotechnology*, **8**, 340-344

- Jørgensen RB & Andersen B** (1994) Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae): A rise of growing genetically modified oilseed rape. *American Journal of Botany*, **81**, 1620-1626
- Jurat-Fuentes JL, Gould Fred L., Adang MJ** (2003) Dual resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Aa toxins in *Heliothis virescens* suggests multiple mechanisms of resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 5898-5906
- Kaplinsky N, Braun D, Lisch D, Hay A, Hake S, Freeling M** (2002) Biodiversity (communications arising): Maize transgene results in Mexico are artefacts. *Nature*, **416**, 601
- Kapusta J, Modelska A, Figlerowicz M, Pniewski T, Letellier M, Lisowa O, Yusibov V, Koprowski H, Plucienniczak A, Legocki AB** (1999) A plant-derived edible vaccine against hepatitis B virus. *Federation of American Societies of Experimental Biology*, **13**, 1799
- Kareiva P, Morris W, Jacobi CM** (1994) Studying and managing the risk of cross-fertilization between transgenic crops and wild relatives. *Molecular Ecology*, **3**, 15-21
- Kay E, Vogel TM, Bertolla F, Nalin R, Simonet P** (2002) In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastomic) tobacco plants to bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 3345-3351
- Kerlan MC, Chevre AM, Eber F, Baranger A, Renard M** (1992) Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed to related species: I. Interspecific hybrid production under optimale conditions with emphasis on pollination and fertilization. *Euphytica*, **62**, 145-153
- Kharazmi M, Sczesny S, Blaut M, Hammes WP, Hertel C** (2003) Marker rescue studies of the transfer of recombinant DNA to *Streptococcus gordonii* in vitro, in foods and gnotobiotic rats. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**, 6121-6127
- Kim SC & Rieseberg LH** (1999) Genetic architecture of species differences in annual sunflowers: Implications for adaptive trait introgression. *Genetics*, **153**, 965-977
- Kimura T, Otani M, Noda T, Ideta O, Shimada T, Saito A** (2001) Absence of amylose in sweet potato (*Ipomea batatas* (L.) Lam.) following the introduction of granule-bound starch synthase I cDNA. *Plant Cell Rep*, **20**, 663-666
- Kirkpatrick KJ & Wilson HD** (1988) Interspecific gene flow in *Cucurbita*: *Cucurbita texana* vs. *Cucurbita pepo*. *American Journal of Botany*, **75**, 519-527
- Kjellson, G & Simonsen, V** (Hg.) (1994) *Methods for risk assessment of transgenic plants. I. Competition, establishment and ecosystem effects*. Birkhäuser-Verlag, Basel.
- Kjellson, G, Simonsen, V, Ammann, K** (Hg.) (1997) *Methods for risk assessment of transgenic plants. II. Pollination, gene-transfer and population impacts*. Birkhäuser-Verlag, Basel.
- Klinger T, Arriola PE, Ellstrand NC** (1992) Crop-weed hybridization in radish (*Raphanus sativus*) - Effects of distance and population-size. *American Journal of Botany*, **79**, 1431-1435
- Klinger T, Elam DR, Ellstrand NC** (1991) Radish as a model system for the study of engineered gene escape rates via crop-weed mating. *Conservation Biology*, **5**, 531-535
- Klinger T & Ellstrand NC** (1994) Engineered genes in wild populations - Fitness of weed-crop hybrids of *Raphanus sativus*. *Ecological Applications*, **4**, 117-120
- Klotz A, Mayer J, Einspanier R** (2002) Degradation and possible carry over of feed DNA monitored in pigs and poultry. *European Food Research and Technology*, **214**, 275
- Kohli A, Griffiths S, Palacios N, Twyman RM, Vain P, Laurie DA, Christou P** (1999) Molecular characterization of transforming plasmid rearrangements in transgenic rice reveals a recombination hotspot in the CaMV 35S promoter and confirms the predominance of microhomology mediated recombination. *The Plant Journal*, **17**, 591-601
- Kong Q, Richter L, Yang YF, Arntzen CJ, Mason HS, Thanavala Y** (2001) Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 11539-11544
- König A, Cockburn A, Crevel RWR, Debruyne E, Grafstroem R, Hammerling U, Kimber I, Knudsen I, Kuiper HA, Peijnenburg AACM, Penninks AH, Poulsen M, Schauzu M, Wal JM** (2004) Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 1047-1088
- Koprek T, Rangel S, McElroy D, Louwerse JD, Williams-Carrier RE, Lemaux PG** (2001) Transposon-mediated single-copy gene delivery leads to increased transgene expression stability in barley. *Plant Physiology*, **125**, 1354-1362
- Kowalchuk GA, Bruinsma M, Van Veen JA** (2003) Assessing responses of soil microorganisms to GM plants. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 403-410
- Koziel MG, Beland GL, Bowman C, Carozzi NB, Crenshaw R, Crossland L, Dawson L, Desai N, Hill M, Kadwell S, Launis K, Lewis K, Maddox D, McPherson K, Meghji MR, Merlin E, Rhodes R, Warren GW, Wright M, Evola SV** (1993) Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio-Technology*, **11**, 194-200
- Krämer U** (2005) Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. *Current Opinion in Biotechnology*, **16**, 1-9

- Krämer U & Chardonens AN** (2001) The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **55**, 661-672
- Kuhlmann M & Beismann H** (2004) Raumrepräsentativität technischer Pollensammler für ein Monitoring von transgenen Pollen auf regionaler Ebene. *Gefahrstoffe - Reinhaltung der Luft*, **64**, 7-12
- Kuiper HA, Kleter GA, Noteborn HPJM, Kok EJ** (2001) Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. *Plant Journal*, **27**, 503-528
- Kuiper HA, Noteborn HPJM, Peijnenburg AACM** (1999) Adequacy of methods for testing the safety of genetically modified foods. *The Lancet*, **354**, 1315-1316
- Kwon YW & Kim D-S** (2001) Herbicide-resistant genetically-modified crops: its risks with an emphasis on gene flow. *Weed Biology and Management*, **1**, 42-52
- Lachmann P** (1999) Health risks of genetically modified foods. *Lancet*, **354**, 69
- Lack G, Chapman M, Kalsheker N, King V, Robinson C, Venables K** (2002) Report on the potential allergenicity of genetically modified organisms and their products. *Clin Exp Allergy*, **32**, 1131-1143
- Landbo L & Jørgensen RB** (1997) Seed germination in weedy *Brassica campestris* and its hybrids with *B. napus*: Implications for risk assessment of transgenic oilseed rape. *Euphytica*, **97**, 209-216
- Landesumweltamt Brandenburg** (2004) Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen - Koexistenz und Umweltbeobachtung im Agrarraum. *Studien und Tagungsberichte des Landesumweltamtes*, **48**. http://www.mlur.brandenburg.de/cms/media.php/2320/luabd_48.pdf
- Lang A, Ludy C, Vojtech E** (2004) Dispersion and deposition of *Bt* maize pollen in field margins. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **111**, 417-428
- Langevin SA, Clay K, Grace JB** (1990) The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red rice (*Oryza sativa* L.). *Evolution*, **44**, 1000-1008
- Lappe MA, Bailey EB, Childress C, Setchel KDR** (1999) Alterations in clinically important phytoestrogens in genetically modified herbicide-tolerant soybeans. *Journal of Medicinal Food*, **1**, 241-245
- Larrick JW, Yu L, Naftzger C, Jaiswal S, Wycoff K** (2001) Production of secretory IgA antibodies in plants. *Biomolecular Engineering*, **18**, 87-94
- Lavigne C, Klein EK, Vallee P, Pierre J, Godelle B, Renard M** (1998) A pollen-dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theoretical and Applied Genetics*, **96**, 886-896
- Lecoq H, Ravelonandro M, Wipfscheibel C, Monsion M, Raccach B, Dunez J** (1993) Aphid transmission of a non-aphid transmissible strain of zucchini yellow mosaic potyvirus from transgenic plants expressing the capsid protein of plum pox potyvirus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **6**, 403-406
- Lee TN & Snow AA** (1998) Pollinator preferences and the persistence of crop genes in wild radish populations (*Raphanus raphanistrum*, Brassicaceae). *American Journal of Botany*, **85**, 333-339
- Lefol E, Fleury A, Darmency H** (1996) Gene dispersal from transgenic crops. II. Hybridization between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Sexual Plant Reproduction*, **9**, 189-196
- Legere A** (2005) Risks and consequences of gene flow from herbicide-resistant crops: Canola (*Brassica napus* L.) as a case study. *Pest Management Science*, **61**, 292-300
- Letourneau,DK & Burrows,BE** (Hg.) (2002) *Genetically engineered organisms: Assessing environmental and human health effects*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Lheureux K, Libeau-Dulos M, Nilsagard H, Rodriguez-Cerezo EI-J, Menard K, Menard M, Vorgrimler D** (2003) Review of GMOs under research and development and in the pipeline in Europe. *IPTS, JRC, European Commission*
- Li ZK, Pinson SRM, Paterson AH, Park WD, Stansel JW** (1997) Genetics of hybrid sterility and hybrid breakdown in an interspecific rice (*Oryza sativa* L.) population. *Genetics*, **145**, 1139-1148
- Linder CR & Schmitt J** (1995) Potential persistence of escaped transgenes: Performance of transgenic, oil-modified *Brassica* seeds and seedlings. *Ecological Applications*, **5**, 1056-1068
- Linder CR & Schmitt J** (1994) Assessing the risks of transgene escape through time and crop-wild hybrid persistence. *Molecular Ecology*, **3**, 23-30
- Linder CR, Taha I, Seiler GJ, Snow AA, Rieseberg LH** (1998) Long-term introgression of crop genes into wild sunflower populations. *Theoretical and Applied Genetics*, **96**, 339-347. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~asnowlab/linderetal98.pdf>
- Liu YB, Tabashnik BE, Dennehy TJ, Patin AL, Bartlett AC** (2001a) Effects of *Bt* cotton and Cry1Ac toxin on survival and development of pink bollworm (Lepidoptera : Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, **94**, 1237-1242
- Liu YB, Tabashnik BE, Dennehy TJ, Patin AL, Bartlett AC** (1999) Development time and resistance to *Bt* crops. *Nature*, **400**, 519
- Liu YB, Tabashnik BE, Meyer SK, Carrière Y, Bartlett AC** (2001b) Genetics of pink bollworm resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac. *Journal of Economic Entomology*, **94**, 248-252
- Loos C, Seppelt R, Meier-Bethke S, Schiemann J, Richter O** (2003) Spatially explicit modelling of transgenic maize pollen dispersal and cross-pollination. *Journal of Theoretical Biology*, **225**, 241-255
- Lorenz MG & Wackernagel W** (1994) Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiological Reviews*, **58**, 563-602

- Losey JE, Rayor LS, Carter ME** (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, **399**, 214
- Lottmann J, Heuer H, Smalla K, Berg G** (1999) Influence of transgenic T4-lysozyme-producing potato plants on potentially beneficial plant-associated bacteria. *Fems Microbiology Ecology*, **29**, 365-377
- Lu CM, Kato M, Kakihara F** (2002) Destiny of a transgene escape from *Brassica napus* into *Brassica rapa*. *Theoretical and Applied Genetics*, **105**, 78-84
- Luby JJ & Mcnicol RJ** (1995) Gene flow from cultivated to wild raspberries in Scotland - Developing a basis for risk assessment for testing and deployment of transgenic cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, **90**, 1133-1137
- Ludy, C & Lang, A** 2004. Sicherheitsforschung und Monitoring-Methoden zum Anbau von Bt-Mais. *Poster für das Status-Seminar "Sicherheitsforschung und Monitoring" am 16.6.2004 in Berlin.*
<http://www.biosicherheit.de>
- Lukaszewski AJ** (1995) Physical distribution of translocation breakpoints in homoeologous recombinants induced by the absence of the *Ph1* gene in wheat and triticale. *Theoretical and Applied Genetics*, **90**, 714-719
- Lukow T, Dunfield PF, Liesack W** (2000) Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants. *Fems Microbiology Ecology*, **32**, 241-247
- Lundgren JG & Wiedenmann RN** (2002) Coleopteran-specific Cry3Bb toxin from transgenic corn pollen does not affect the fitness of a nontarget species, *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera : Coccinellidae). *Environ. Entomol.*, **31**, 1213-1218
- Lutman PJW, Freeman SE, Pekrun C** (2003) The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *Journal of Agricultural Science*, **141**, 231-240
- Lynch JM, Benedetti A, Insam H, Nuti MP, Smalla K, Torsvik V, Nannipieri P** (2004) Microbial diversity in soil: Ecological theories, the contribution of molecular techniques and the impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. *Biol Fertil Soils*, **40**, 363-385
- Ma JKC, Drake PMW, Christou P** (2003) The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nature Reviews Genetics*, **4**, 794-805
- Ma LQ, Komar KM, Tu C, Zhang WH, Cai Y, Kennelley ED** (2001) A fern that hyperaccumulates arsenic - A hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils. *Nature*, **409**, 579
- Maeser S & Kahmann R** (1991) The *Gin* recombinase of phage Mu can catalyze site-specific recombination in plant-protoplasts. *Molecular & General Genetics*, **230**, 170-176
- Maliga P** (2004) Plastid transformation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*, **55**, 289-313
- Malone LA, Burgess EPJ, Stefanovic D** (1999) Effects of a *Bacillus thuringiensis* toxin, two *Bacillus thuringiensis* biopesticide formulations, and a soybean trypsin inhibitor on honey bee (*Apis mellifera* L.) survival and food consumption. *Apidologie*, **30**, 465-473
- Malone LA & Pham-Delègue M-H** (2001) Effects of transgene products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie*, **32**, 1-18
- Manasse RS** (1992) Ecological risks of transgenic plants - Effects of spatial-dispersion on gene flow. *Ecological Applications*, **2**, 431-438
- Martin-Orue SM, O'Donnell AG, Arino J, Netherwood T, Gilbert HJ, Mathers JC** (2002) Degradation of transgenic DNA from genetically modified soya and maize in human intestinal simulations. *British Journal of Nutrition*, **87**, 533-542
- Marvier M & Van Acker RC** (2005) Can crop transgenes be kept on a leash? *Frontiers in Ecology and the Environment*, **3**, 99-106
- McGaughy WH, Gould F, Gelernter W** (1998) Bt resistance management. *Nature Biotechnology*, **16**, 144-146
- McGrath SP, Dunham SJ, Correll RL** (2000) Potential for phytoextraction of zinc and cadmium from soils using hyperaccumulator plants. In: *Phytoremediation of contaminated soil and water* (Hg. Terry N & Banuelos G), S. 109-128. CRC Press, Boca Raton.
- McGrath SP & Zhao FJ** (2003) Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, **14**, 277-282
- Mcknight TD, Lillis MT, Simpson RB** (1987) Segregation of genes transferred to one plant cell from 2 separate *Agrobacterium* strains. *Plant Molecular Biology*, **8**, 439-445
- Meagher RB, Rugh CL, Kandasamy MK, Gragson G, Wang NJ** (2000) Engineered phytoremediation of mercury pollution in soil and water using bacterial genes. In: *Phytoremediation of contaminated soil and water* (Hg. Terry N & Banuelos G), S. 201-221. Lewis, Boca Raton.
- Medina D, Thompson H, Ganther H, Ip C** (2001) Se-methylselenocysteine: A new compound for chemoprevention of breast cancer. *Nutrition and Cancer-An International Journal*, **40**, 12-17
- Meier MS & Hilbeck A** (2001) Influence of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on prey preference of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera : Chrysopidae). *Basic and Applied Ecology*, **2**, 35-44
- Meier P & Wackernagel W** (2003) Monitoring the spread of recombinant DNA from field plots with transgenic sugar beet plants by PCR and natural transformation of *Pseudomonas stutzeri*. *Transgenic Research*, **12**, 293-304

- Meissle M & Lang A** (2005) Comparing methods to evaluate the effects of *Bt* maize and insecticide on spider assemblages. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **107**, 359-370
- Melander M** (2004) Transgenic resistance to pathogens and pests. (Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Crop Science, Alnarp). http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000687/01/M_Melander_sammanfattning.pdf
- Menzel G, Lünsmann I, Middelhoff U, Breckling B, Schmidt G, Tillmann J, Schröder W, Filser J, Reuter H** (2005) Gentechnisch veränderte Pflanzen und Schutzgebiete - Wirksamkeit von Abstandsregelungen. *Naturschutz und Biologische Vielfalt*, **10**, 1-164
- Messeguer J, Fogher C, Guiderdoni E, Marfa V, Catala MM, Baldi G, Mele E** (2001) Field assessments of gene flow from transgenic to cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using a herbicide resistance gene as tracer marker. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**, 1151-1159
- Metcalfe DD** (2003) Introduction: What are the issues in addressing the allergenic potential of genetically modified foods? *Environmental Health Perspectives*, **111**, 1110-1113
- Metz M & Futterer J** (2002) Biodiversity (communications arising) - Suspect evidence of transgenic contamination. *Nature*, **416**, 600-601
- Metz PLJ, Jacobsen E, Nap JP, Pereira A, Stiekema WJ** (1997) The impact on biosafety of the phosphinothricin-tolerance transgene in inter-specific *B. rapa* x *B. napus* hybrids and their successive backcrosses. *Theoretical and Applied Genetics*, **95**, 442-450
- Middelhoff, U** 2004. Ausbreitungsverhalten von gentechnisch verändertem (GV-) Raps - Eine Studie für Schleswig-Holstein. Zwischenergebnisse. http://www.keine-gentechnik.de/bibliothek/naturschutz/studien/uni_kiel_ausbreitung_gvraps_040201.pdf
- Middelhoff U, Hildebrandt J, Breckling B** (2005) *Die Ökologische Flächenstichprobe als Instrument eines GVO-Monitoring. F&E-Vorhaben Nr.40200196: Analyse des Vorschlags der Ad-hoc-AG hinsichtlich der Anforderungen an ein GVO-Monitoring. Unveröffentlichte Studie im Auftrag des BfN, Bonn.*
- Miki B & McHugh S** (2004) Selectable marker genes in transgenic plants: Applications, alternatives and biosafety. *Journal of Biotechnology*, **107**, 193-232
- Mikkelsen TR, Andersen B, Jørgensen RB** (1996) The risk of crop transgene spread. *Nature*, **380**, 31
- Millstone E, Brunner E, Mayer S** (1999) Beyond substantial equivalence. *Nature*, **401**, 525-526
- Momma K, Hashimoto W, Ozawa S, Kawai S, Katsube T, Takaiwa T, Kito M, Utsumi S, Murata K** (1999) Quality and safety evaluation of genetically engineered rice with soybean glycinin: Analyses of the grain composition and digestibility of glycinin in transgenic rice. *Biosci Biotechnol Biochem*, **63**, 314-318
- Moore G, AragonAlcaide L, Roberts M, Reader S, Miller T, Foote T** (1997) Are rice chromosomes components of a holocentric chromosome ancestor? *Plant Molecular Biology*, **35**, 17-23
- Morell MK, Kosar-Hashemi B, Cmiel M, Samuel MS, Chandler P, Rahman S, Buleon A, Batey IL, Li Z** (2003) Barley *sex6* mutants lack starch synthase IIa activity and contain a starch with novel properties. *Plant Journal*, **34**, 173-185
- Morin S, Biggs RW, Sisterson MS, Shriver L, Ellers-Kirk C, Higginson D, Holley D, Gahan JJ, Heckel G, Carrière Y, Dennehy TJ** (2003) Three cadherin alleles associated with resistance to *Bacillus thuringiensis* in pink bollworm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**, 5004-5009
- Morris WF, Kareiva PM, Raymer PL** (1994) Do barren zones and pollen traps reduce gene escape from transgenic crops? *Ecological Applications*, **4**, 157-165
- Moyes CL, Lilley JM, Casais CA, Cole SG, Haeger PD, Dale PJ** (2002) Barriers to gene flow from oilseed rape (*Brassica napus*) into populations of *Sinapis arvensis*. *Molecular Ecology*, **11**, 103-112
- Muller MH, Proserpi JM, Santoni S, Ronfort J** (2001) How mitochondrial DNA diversity can help to understand the dynamics of wild-cultivated complexes. The case of *Medicago sativa* in Spain. *Molecular Ecology*, **10**, 2753-2763
- Munkvold GP, Hellmich RL, Showers WB** (1997) Reduced fusarium Ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology*, **87**, 1071-1077
- MUNLV-NRW** (2003) (*Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz NRW*) *Handlungskonzept für ein Monitoring von gentechnisch veränderten Pflanzen im Rahmen der ÖFS-NRW*. Institut für Vegetationskunde, Ökologie und Raumplanung. Unveröffentlichter Bericht,
- Murphy DJ** (1999) Production of novel oils in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, **10**, 175-180
- Musser FR & Shelton AM** (2003) *Bt* sweet corn and selective insecticides: Impacts on pests and predators. *Journal of Economic Entomology*, **96**, 71-80
- Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Pietramellara G, Renella G** (2003) Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, **54**, 655-670
- Neemann G, Karwasz M, Weitemeier M** (2004) Umweltbeobachtung der Ausbreitung von Raps (*Brassica napus* L., ssp. *oleifera*) in ausgewählten Flächenstrukturen. In: Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen. *Studien und Tagungsberichte des Landesumweltamtes Brandenburg*. 48.
- Netherwood T, Martin-Orue SM, O'Donnell AG, Gockling S, Graham J, Mathers JC, Gilbert HJ** (2004) Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nature Biotechnology*, **22**, 204-209

- Neuroth B** (1997) Kompendium der für Freisetzungen relevanten Pflanzen; hier: Solanaceae, Poaceae, Leguminosae. *UBA-Texte*, **62/97**
- Nielsen KM & Townsend JP** (2004) Monitoring and modeling horizontal gene transfer. *Nature Biotechnology*, **22**, 1110-1114
- Nielsen KM, Bones AM, Smalla K, Van Elsas J** (1998) Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria - A rare event? *Federation of European Microbiological Societies - Microbiology Reviews*, **22**, 79-103
- Ning XZ, Song QP, Kong XH, Chen H, Meng JW, et al.** (2001) A preliminary research on the regularity of population fluctuations of major insects and natural enemies in the field of *Bt* transgenic cotton in the Xinjiang region. *China Cotton*, **28**, 12-13
- Nishikawa T** (2005) GE crop continues to be found around ports all over Japan. *Mainichi Shimbun, Tokyo morning edition*. <http://www.mainichi-msn.co.jp/kagaku/science/news/20050117ddm016040076000c.htm>
- Noda T, Kimura T, Otani M, Ideta O, Shimada T, Saito A, Suda I** (2002) Physicochemical properties of amylose-free starch from transgenic sweet potato. *Carbohyd Polym*, **49**, 253-260
- Nordlee JA, Taylor SL, Townsend JA, Thomas LA, Bush RK** (1996) Identification of a brazil-nut allergen in transgenic soybeans. *The New England Journal of Medicine*, **334**, 688-692
- O'Callaghan M, Glare TR, Burgess EPJ, Malone LA** (2005) Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. *Annual Review of Entomology*, **50**, 271-292
- Oard J, Cohn MA, Linscombe S, Gealy D, Gravois K** (2000) Field evaluation of seed production, shattering, and dormancy in hybrid populations of transgenic rice (*Oryza sativa*) and the weed, red rice (*Oryza sativa*). *Plant Science*, **157**, 13-22
- Oberhauser KS, Prysby MD, Mattila HR, Stanley-Horn DE, Sears MK, Dively G, Olson E, Pleasants JM, Lam WKF, Hellmich RL** (2001) Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 11913-11918
- OECD** 1993. Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology - Concepts and principles. <http://www.oecd.org/dataoecd/57/3/1946129.pdf>
- Ogawa HI, Tolle CL, Summers AO** (1984) Physical and genetic-map of the organomercury resistance (*Omr*) and inorganic mercury resistance (*Hgr*) loci of the Incm Plasmid R831B. *Gene*, **32**, 311-320
- Oger P, Mansouri H, Dessaux Y** (2000) Effect of crop rotation and soil cover on alteration of the soil microflora generated by the culture of transgenic plants producing opines. *Molecular Ecology*, **9**, 881-890
- Ow DW** (2002) Recombinase-directed plant transformation for the post-genomic era. *Plant Molecular Biology*, **48**, 183-200
- Owen MDK & Zelaya IA** (2005) Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science*, **61**, 301-311
- Paget E, Lebrun M, Freyssinet G, Simonet P** (1998) The fate of recombinant plant DNA in soil. *European Journal of Soil Biology*, **34**, 81-88
- Pallett DW, Thurston MI, Cortina-Borja M, Edwards ML, Alexander M, Mitchell E, Raybould AF, Cooper JI** (2002) The incidence of viruses in wild *Brassica rapa* ssp. *sylvestris* in southern England. *Annals of Applied Biology*, **141**, 163-170
- Panetos CA & Baker H** (1967) The origin of variation in "wild" *Raphanus sativus* in California. *Genetica*, **38**, 243-274
- Papa R & Gepts P** (2004) Asymmetric gene flow and introgression between domesticated and wild populations. In: *Introgression from Genetically Modified Crops into Wild Relatives and its Consequences* (Hg. Den Nijs JCM, Bartsch D, Sweet J), CAB International Press, Oxon, UK.
- Papa R & Gepts P** (2003) Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*, **106**, 239-250
- Papoyan A & Kochian LV** (2004) Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance. Characterization of a novel heavy metal transporting ATPase. *Plant Physiology*, **136**, 3814-3823
- Parales RE & Haddock JD** (2004) Biocatalytic degradation of pollutants. *Current Opinion in Biotechnology*, **15**, 374-379
- Parker IM** (1996) Assessing the risks of invasion for genetically engineered plants: Acceptable evidence and reasonable doubt. *Biological Conservation*, **78**, 193-203
- Pascher K & Gollmann G** (1999) Ecological risk assessment of transgenic plant releases: An Austrian perspective. *Biodiversity and Conservation*, **8**, 1139-1158
- Paterson AH, Schertz KF, Lin YR, Liu SC, Chang YL** (1995) The weediness of wild plants - Molecular analysis of genes influencing dispersal and persistence of johnsongrass, *Sorghum halepense* (L.) Pers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**, 6127-6131
- Pawlowski WP & Somers DA** (1998) Transgenic DNA integrated into the oat genome is frequently interspersed by host DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**, 12106-12110

- Pedersen JF, Vogel KP, Funnell DL** (2005) Impact of reduced lignin on plant fitness. *Crop Science*, **45**, 812-819
- Pekrun C, Hewitt JDJ, Lutman PJW** (1998) Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Journal of Agricultural Science*, **130**, 155-163
- Pekrun C, Lane PW, Lutman PJW** (2005) Modelling seedbank dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Agricultural Systems*, **84**, 1-20
- Perez A & Kogan M** (2003) Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. *Weed Research*, **43**, 12-19
- Perry JN, Rothery P, Clark SJ, Heard MS, Hawes C** (2003) Design, analysis and statistical power of the farm-scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 17-31
- Pessel D, Lecomte J, Emeriau V, Krouti M, Messean A, Gouyon PH** (2001) Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theoretical and Applied Genetics*, **102**, 841-846
- Pietramellara G** (2004) DNA binding to clay minerals. *Geophysical Research Abstracts*, **6**
- Pilon-Smits EAH** (2005) Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, **56**, 15-39
- Pilson D, Snow AA, Rieseberg LH, Alexander HM** (2004) A protocol for evaluating the ecological risks associated with gene flow from transgenic crops into their wild relatives: The case of cultivated sunflower and wild *Helianthus annuus*. In: *Introgression from Genetically Modified Crops into Wild Relatives* (Hg. Den Nijs JCM, Bartsch D, Sweet J), S. 219-234. CAB International Press, Oxon, UK.
- Pilson D & Prendeville HR** (2004) Ecological effects of transgenic crops and the escape of transgenes into wild populations. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, **35**, 149-174
- Pimentel DS & Raven PH** (2000) *Bt* corn pollen impacts on nontarget Lepidoptera: Assessment of effects in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 8198-8199
- Pleasants JM, Hellmich RL, Dively GP, Sears MK, Stanley-Horn DE, Mattila HR, Foster JE, Clark P, Jones GD** (2001) Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 11919-11924
- Pohl-Orf M, Brand U, Driessen S, Hesse PR, Lehnen M, Morak C, Mucher T, Saeglitz C, Von Soosten C, Bartsch D** (1999) Overwintering of genetically modified sugar beet, *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*, as a source for dispersal of transgenic pollen. *Euphytica*, **108**, 181-186
- Poncet V, Lamy F, Devos KM, Gale MD, Sarr A, Robert T** (2000) Genetic control of domestication traits in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L., Poaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, **100**, 147-159
- Ponsard S, Gutierrez AP, Mills NJ** (2002) Effect of *Bt*-toxin (Cry1Ac) in transgenic cotton on the adult longevity of four heteropteran predators. *Environ. Entomol.*, **31**, 1197-1205
- Poppy GM & Wilkinson MJ** (Hg.) (2005) *Gene flow from GM plants*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Potrykus I** (2001) Golden rice and beyond. *Plant Physiology*, **125**, 1157-1161
- Potthast T** (2004) Ökologische Schäden - Eine Synopse begrifflicher, methodologischer und ethischer Aspekte. In: *Ökologische Schäden. Begriffliche, methodologische und ethische Aspekte* (Hg. Potthast T), Theorie in der Ökologie Band 10. Peter Lang, Frankfurt/M.
- Poulsen LK** (2004) Allergy assessment of foods or ingredients derived from biotechnology, gene-modified organisms, or novel foods. *Mol. Nutr. Food Res.*, **48**, 413-423
- Prakash NS, Combes MC, Somanna N, Lashermes P** (2002) AFLP analysis of introgression in coffee cultivars (*Coffea arabica* L.) derived from a natural interspecific hybrid. *Euphytica*, **124**, 265-271
- Prasad MNV & Freitas HMD** (2003) Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, **6**, 285-321
- Prudhomme M, Libante V, Claverys J** (2002) Homologous recombination at the border: Insertion-deletions and the trapping of foreign DNA in *Streptococcus pneumoniae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 2100-2105
- Puchta H** (2003) Towards the ideal GMP: Homologous recombination and marker gene excision. *Journal of Plant Physiology*, **160**, 743-754
- Quist D & Chapela IH** (2002) Maize transgene results in Mexico are artefacts - Reply. *Nature*, **416**, 602
- Quist D & Chapela IH** (2001) Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature*, **414**, 541-543
- Ramachandran S, Buntin GD, All JN, Tabashnik BE, Raymer PL, Adang MJ, Pulliam DA, Stewart CN** (1998) Survival, development, and oviposition of resistant diamondback moth (Lepidoptera : Plutellidae) on transgenic canola producing a *Bacillus thuringiensis* toxin. *Journal of Economic Entomology*, **91**, 1239-1244
- Ramsay G** (2005) Pollen dispersal vectored by wind and insects. In: *Gene flow from GM plants* (Hg. Poppy GM & Wilkinson MJ), S. 43-77. Blackwell Publishing, Oxford.
- Ramsey J & Schemske DW** (1998) Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **29**, 467-501
- Raps A, Kehr J, Gugerli P, Moar WJ, Bigler F, Hilbeck A** (2001) Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera : Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Molecular Ecology*, **10**, 525-533

- Raskin I, Smith RD, Salt DE** (1997) Phytoremediation of metals: Using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, 221-226
- Raybould AF & Gray AJ** (1993) Genetically-modified crops and hybridization with wild relatives - A UK perspective. *Journal of Applied Ecology*, **30**, 199-219
- Raybould AF, Jones AE, Alexander M, Gray AJ, Pallett D, Thurston M, Crawford J** (2004) The impact of transgenes for herbivore and virus resistance on the weediness of crop relatives. Dorset (Defra). http://www.defra.gov.uk/environment/gm/research/pdf/epg_1-5-132.pdf
- Raybould AF, Maskell LC, Edwards ML, Cooper JI, Gray AJ** (1999) The prevalence and spatial distribution of viruses in natural populations of *Brassica oleracea*. *New Phytologist*, **141**, 265-275
- Raybould AF & Wilkinson MJ** (2005) Assessing the environmental risks of gene flow from GM crops to wild relatives. In: *Gene flow from GM plants* (Hg. Poppy GM & Wilkinson MJ), S. 169-185. Blackwell Publishing, Oxford.
- Raybould AF & Gray AJ** (1994) Will hybrids of genetically modified crops invade natural communities? *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 85-89
- Reese G, Vieths S, Becker W-M** (2004) Gentechnik und Lebensmittel. *Mensch & Umwelt Spezial*, **17**, 51-58
- Regal PJ** (1994) Scientific principles for ecologically based risk assessment of transgenic organisms. *Molecular Ecology*, **3**, 5-13
- Rensing C, Sun Y, Mitra B, Rosen BP** (1998) Pb(II)-translocating P-type ATPases. *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 32614-32617
- Rhymer JM & Simberloff D** (1996) Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **27**, 83-109
- Richter O & Seppelt R** (2004) Flow of genetic information through agricultural ecosystems: A generic modelling framework with application to pesticide-resistance weeds and genetically modified crops. *Ecological Modelling*, **174**, 55-66
- Rieger MA, Lamond M, Preston C, Powles SB, Roush RT** (2002) Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science*, **296**, 2386-2388
- Rieger MA, Potter TD, Preston C, Powles SB** (2001) Hybridisation between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. *Theoretical and Applied Genetics*, **103**, 555-560
- Rieseberg LH** (1997) Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **28**, 359-389
- Rieseberg LH, Arias DM, Ungerer MC, Linder CR, Sinervo B** (1996a) The effects of mating design on introgression between chromosomally divergent sunflower species. *Theoretical and Applied Genetics*, **93**, 633-644
- Rieseberg LH & Carney SE** (1998) Plant hybridization. *New Phytologist*, **140**, 599-624
- Rieseberg LH, Desrochers AM, Youn SJ** (1995) Interspecific pollen competition as a reproductive barrier between sympatric species of *Helianthus* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, **82**, 515-519
- Rieseberg LH, Kim MJ, Seiler GJ** (1999) Introgression between the cultivated sunflower and a sympatric wild relative, *Helianthus petiolaris* (Asteraceae). *International Journal of Plant Sciences*, **160**, 102-108
- Rieseberg LH, Sinervo B, Linder CR, Ungerer MC, Arias DM** (1996b) Role of gene interactions in hybrid speciation: Evidence from ancient and experimental hybrids. *Science*, **272**, 741-745
- Rieseberg LH & Wendel JF** (1993) Introgression and its consequences in plants. In: *Hybrid Zones and the Evolutionary Process* (Hg. Harrison RG), S. 70-109. Oxford University Press, Oxford.
- Riley R** (1963) The genetic regulation of meiotic behaviour in wheat and its relatives. *Hereditas*, **suppl. 2**, 395-408
- Ritala A, Nuutila AM, Aikasalo R, Kauppinen V, Tammissola J** (2002) Measuring gene flow in the cultivation of transgenic barley. *Crop Science*, **42**, 278-285
- Robert T, Lespinasse R, Pernes J, Sarr A** (1991) Gametophytic competition as influencing gene flow between wild and cultivated forms of pearl millet (*Pennisetum typhoides*). *Genome*, **34**, 195-200
- Roller A, Beismann H, Albrecht H** (2004) Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape in soils of former release sites in South Germany. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **Sp. Iss. 19**, 847-853
- Romeis J, Dutton A, Bigler F** (2004) *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, **50**, 175-183
- Romeis J, Babendreier D, Wäckers FL** (2003) Consumption of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin) causes direct effects on adult parasitic wasps. *Oecologia*, **134**, 528-536
- Röper H** (2002) Renewable raw materials in Europe - Industrial utilization of starch and sugar. *Starch - Stärke*, **54**, 89-99
- Roush RT & Shelton AM** (1997) Assessing the odds: The emergence of resistance to *Bt* transgenic plants. *Nature Biotechnology*, **15**, 816-817
- Rufener Al Mazyad P & Ammann K** (1999) The *Medicago falcata/sativa* complex, crop-wild relative introgression in Switzerland. In: *Proceedings of the VIIth international IOPB symposium 'Plant evolution in man-made habitats'* (Hg. Van Raamsdonk LWD & Den Nijs CJM), S. 271-286. Amsterdam.

- Rugh CL, Senecoff JF, Meagher RB, Merkle SA** (1998) Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation. *Nature Biotechnology*, **16**, 925-928
- Rugh CL, Wilde HD, Stack NM, Thompson DM, Summers AO, Meagher RB** (1996) Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 3182-3187
- Ruhland M, Engelhardt G, Pawlizki K** (2004) Distribution and metabolism of D/L-, L- and D-glufosinate in transgenic, glufosinate-tolerant crops of maize (*Zea mays* L. ssp. *mays*) and oilseed rape (*Brassica napus* L. var *napus*). *Pest Management Science*, **60**, 691-696
- Ruiz ON, Hussein HS, Terry N, Daniell H** (2003) Phytoremediation of organomercurial compounds via chloroplast genetic engineering. *Plant Physiology*, **132**, 1344-1352
- Salt DE, Blaylock M, Kumar NPBA, Dushenkov V, Ensley BD, Chet I, Raskin I** (1995) Phytoremediation - A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio-Technology*, **13**, 468-474
- Salt DE, Smith RD, Raskin I** (1998) Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **49**, 643-668
- Sanderson H, Brain RA, Johnson DJ, Wilson CJ, Solomon KR** (2004) Toxicity classification and evaluation of four pharmaceutical classes: Antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology*, **203**, 27-40
- SAP** (2000) Food allergenicity of Cry9C endotoxin and other-non-digestible proteins. Arlington (Environmental Protection Agency).
- Saxena D, Stewart CN, Altosaar I, Shu QY, Stotzky G** (2004) Larvicidal cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton and tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, **42**, 383-387
- Saxena D & Stotzky G** (2001a) *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) toxin released from root exudates and biomass of *Bt* corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria and fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **33**, 1230
- Saxena D & Stotzky G** (2001b) *Bt* corn has a higher lignin content than non-*Bt* corn. *American Journal of Botany*, **88**, 1704-1706
- SBC** (2001) GM food crops and application of substantial equivalence in the European Union. Leiden (Schenkelaars Biotechnology Consultancy).
- Schauzu M** (2000) The concept of substantial equivalence in safety assessment of foods derived from genetically modified organisms. *AgBiotechNet*, **2**, 1-4
- Scheffler JA, Parkinson R, Dale PJ** (1995) Evaluating the effectiveness of isolation distances for field plots of oilseed rape (*Brassica napus*) using a herbicide-resistance transgene as a selectable marker. *Plant Breeding*, **114**, 317-321
- Schenkelaars P** (2002) Rethinking substantial equivalence. *Nature Biotechnology*, **20**, 119
- Schiemann J, Beißner L, Wilhelm R** (2004) Erfordernisse der Umweltbeobachtung in der Agrarlandschaft. In: Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen. *Studien und Tagungsberichte des Landesumweltamtes Brandenburg*. 48.
- Schlee M** (2004) Probleme der Erhaltung biologischer Vielfalt in der Kulturlandschaft - Ökologische Schäden durch verfehlte Pflegekonzepte. In: *Ökologische Schäden. Begriffliche, methodologische und ethische Aspekte* (Hg. Potthast T), Theorie in der Ökologie Band10. Peter Lang Verlag, Frankfurt/M.
- Schlink S** (1994) Ökologie der Keimung und Dormanz von Körnerraps (*Brassica napus* L.) und ihre Bedeutung für eine Überdauerung der Samen im Boden. *Dissertationes Botanicae Band 222*. Cramer, Berlin, Stuttgart.
- Schmalenberger A & Tebbe CC** (2002) Bacterial community composition in the rhizosphere of a transgenic, herbicide-resistant maize (*Zea mays*) and comparison to its non transgenic cultivar Bosphore. *Fems Microbiology Ecology*, **40**, 29-37
- Schmalenberger A & Tebbe CC** (2003) Bacterial diversity in maize rhizospheres: Conclusions on the use of genetic profiles based on PCR-amplified partial small subunit rRNA genes in ecological studies. *Molecular Ecology*, **12**, 251-262
- Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH** (1998) *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**, 775-806
- Schoelz JE & Wintermantel WM** (1993) Expansion of viral host range through complementation and recombination in transgenic plants. *The Plant Cell*, **5**, 1669-1679
- Schönthaler K, Meyer U, Pokorny D, Reichenbach M, Schuller D, Windhorst W** (2003) *Ökosystemare Umweltbeobachtung - Vom Konzept zur Umsetzung*. Erich Schmidt Verlag.
- Schröder W & Schmidt G** (2001) Defining ecoregions as framework for the assessment of ecological monitoring networks in Germany by means of GIS and classification and regression trees (CART). *Gate Environmental and Health Sciences*, **3**, 1-9
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 961-966

- Schubert D** (2002) A different perspective on GM foods. *Nature Biotechnology*, **20**, 969
- Schütte G, Stachow U, Werner A** (2004) Agronomic and environmental aspects of the cultivation of transgenic herbicide resistant plants. *Texte 11/04*. <http://www.umweltbundesamt.org/fpdf-k/2636.pdf>
- Scriber M** (2004) Non-target impacts of forest defoliator management options: Decision for no spraying may have worse impacts on non-target Lepidoptera than *Bacillus thuringiensis* insecticides. *Journal of Insect Conservation*, **8**, 241-261
- Sears MK** (2004) Impact of *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Agricultural Biotechnology: Challenges and Prospects*, **866**, 125-137
- Sears MK, Hellmich RL, Stanley-Horn DE, Oberhauser KS, Pleasants JM, Mattila HR, Siegfried BD, Dively GP** (2001) Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 11937-11942
- Seefeldt SS, Zemetra R, Young FL, Jones SS** (1998) Production of herbicide-resistant jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) x wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization. *Weed Science*, **46**, 632-634
- Shaw LJ & Burns RG** (2003) Biodegradation of organic pollutants in the rhizosphere. *Advances in Applied Microbiology*, **53**, 1-60
- Shewmaker CK, Sheehy JA, Daley M, Colburn S, Ke DY** (1999) Seed-specific overexpression of the phytoene synthase: Increase in carotenoids and other metabolic effects. *The Plant Journal*, **20**, 401-412
- Shou H, Bordallo P, Fan J-B, Yeakley JM, Bibikova M, Sheen J, Wang K** (2004) Expression of an active tobacco mitogen-activated protein kinase enhances freezing tolerance in transgenic maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**, 3298-3303
- Siciliano SD & Germida JJ** (1999) Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of field-grown transgenic *Brassica napus* cv. Quest, compared to the non-transgenic *B. napus* cv. Excel and *B. rapa* cv. Parkland. *Fems Microbiology Ecology*, **29**, 263-272
- Simmonds NW** (1995) *Evolution of crop plants*. Longman Scientific, New York.
- Slavov GT, DiFazio SP, Strauss SH** (2004) Gene flow in forest trees: Gene migration patterns and landscape modelling of transgene dispersion in hybrid poplar. In: *Introgression from Genetically Modified Crops into Wild Relatives* (Hg. Den Nijs JCM, Bartsch D, Sweet J), S. 89-106. CAB International Press, Oxon, UK.
- Small E** (1984) Hybridization in the domesticated weed-wild complex. In: *Plant Biosystematics* (Hg. Grant FW), S. 195-220. Academic Press, Toronto.
- Smalla K, Borin S, Heuer H, Gebhard F, Van Elsas JD, Nielsen K** (2000) Horizontal transfer of antibiotic resistance genes from transgenic plants to bacteria - Are there new data to fuel the debate? In: *Proceedings of the 6th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms, July 2000, Saskatoon, Canada* (Hg. Fairbairn C, Scoles G, McHughen A), S. 146-154. University Extension Press, Saskatoon.
- Smith MD & Glick BR** (2000) The production of antibodies in plants: An idea whose time has come? *Biotechnology Advances*, **18**, 85-89
- Snow A** (2003) Unnatural selection. *Nature*, **424**, 619. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~asnowlab/unnatural.pdf>
- Snow AA** (2002) Transgenic crops - Why gene flow matters. *Nature Biotechnology*, **20**, 542. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~asnowlab/snowcomment02.pdf>
- Snow AA, Andersen B, Jørgensen RB** (1999) Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Molecular Ecology*, **8**, 605-615
- Snow AA, Andow DA, Gepts P, Hallerman EM, Power A, Tiedje JM, Wolfenbarger LL** (2005) Genetically engineered organisms and the environment: current status and recommendations. *Ecological Applications*, **15**, 377-404. <http://www.biosci.ohio-state.edu/%7Easnowlab/snowetal05.pdf>
- Snow AA & Moran-Palma P** (1997) Commercialization of transgenic plants: Potential ecological risks. *BioScience*, **47**, 86-96. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~asnowlab/snowmoran97.pdf>
- Snow AA, Moran-Palma P, Rieseberg LH, Wszelaki A, Seiler GJ** (1998) Fecundity, phenology, and seed dormancy of F-1 wild-crop hybrids in sunflower (*Helianthus annuus*, Asteraceae). *American Journal of Botany*, **85**, 794-801
- Snow AA, Pilson D, Rieseberg LH, Paulsen MJ, Pleskac N, Reagon MR, Wolf DE, Selbo SM** (2003) A *Bt* transgene reduces herbivory and enhances fecundity in wild sunflowers. *Ecological Applications*, **13**, 279-286
- Snow AA, Uthus KL, Culley TM** (2001) Fitness of hybrids between weedy and cultivated radish: Implications for weed evolution. *Ecological Applications*, **11**, 934-943
- Society of Toxicology** (2003) Position Paper: The safety of genetically modified foods produced through Biotechnology. *Toxicological Sciences*, **71**, 2-8
- Song ZP, Lu BR, Zhu YG, Chen JK** (2003) Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. *New Phytologist*, **157**, 657-665
- Sonoki T, Kajita S, Ikeda S, Uesugi M, Tatsumi K, Katayama Y, Iimura Y** (2005) Transgenic tobacco expressing fungal laccase promotes the detoxification of environmental pollutants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **67**, 138-142

- Speirs J, Lee E, Holt K, Yong-Duk K, Scott NS, Loveys B, Schuch W** (1998) Genetic manipulation of alcohol dehydrogenase levels in ripening tomato fruit affects the balance of some flavor aldehydes and alcohols. *Plant Physiology*, **117**, 1047-1058
- Spencer LJ & Snow AA** (2001) Fecundity of transgenic wild-crop hybrids of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae): Implications for crop-to-wild gene flow. *Heredity*, **86**, 694-702
- SRU** (1987) (Rat von Sachverständigen für Umweltfragen) Umweltgutachten. *Bundestag Drucksache*, **11/1568**
- SRU** (2004) (Rat von Sachverständigen für Umweltfragen) Umweltgutachten. *Bundestag Drucksache*, **15/3600**. http://www.umweltrat.de/02gutach/download02/umweltg/UG_2004.lf.pdf
- Stanhope MJ, Lupas A, Italia MJ, Koretke KK, Volker C, Brown JR** (2001) Phylogenetic analyses do not support horizontal gene transfers from bacteria to vertebrates. *Nature*, **411**, 940-944
- Stewart CN, All JN, Raymer PL, Ramachandran S** (1997) Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Molecular Ecology*, **6**, 773-779
- Stewart CN, Halfhill MD, Warwick SI** (2003) Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics*, **4**, 806-817
- Stewart J** (2005) Monitoring the presence and expression of transgenes in living plants. *Trends in Plant Science*, **10**, 390-396
- Summers AO** (1986) Organization, expression and evolution of genes for mercury resistance. *Annual Review of Microbiology*, **40**, 607-634
- Sun CG, Xu J, Zhang QW, Feng HB, Wang F, Song R** (2002) Effect of transgenic *Bt* cotton on population of cottonpests and their natural enemies in Xinjiang. *Chin. J. Biol. Control*, **18**, 106-110
- Tabashnik B, Finson N, Schwartz JM, Caprio MA, Johnson MW** (1991) Diamondback moth resistance to *Bacillus thuringiensis* in Hawaii. In: *Diamondback moth management: Proceedings of the second international workshop* (Hg. Talekar NS), <http://www.avrc.org/dbm90.html>
- Tabashnik BE, Carrière Y, Dennehy TJ, Morin S, Sisterson MS, Roush RT, Shelton AM, Zhao J-Z** (2003) Insect resistance to transgenic *Bt* crops: Lessons from the laboratory and field. *J. Econ. Entomol.*, **96**, 1031-1038
- Tabashnik BE, Dennehy TJ, Sims MA, Larkin K, Head GP, Moar WJ, Carrière Y** (2002a) Control of resistant pink bollworm by transgenic cotton with *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab. *Environmental Microbiology*, **68**, 3790-3794
- Tabashnik BE, Finson N, Johnson MW, Heckel DG** (1994) Cross-resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1F in the diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 4627-4629
- Tabashnik BE, Finson N, Johnson MW, Moar WJ** (1993) Resistance to toxins from *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* cause minimal cross-resistance to *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* in diamondback moth (Lepidoptera : Plutellidae). *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 1332-1335
- Tabashnik BE, Patin AL, Dennehy TJ, Liu YB, Carrière Y, Sims MA, Antilla L** (2000a) Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* in filed populations of pink bollworm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**, 12980-12984
- Tabashnik BE, Roush RT, Earle ED, Shelton AM** (2002b) Inheritance of resistance to *Bt* toxin Cry1Ac in a field-derived strain of pink bollworm (Lepidoptera : Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, **95**, 1026
- Tabashnik BE, Roush RT, Earle ED, Shelton AM** (2000b) Resistance to *Bt* toxins. Comment. *Science*, **287**, 41
- Tapp H & Stotzky G** (1998) Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, **30**, 471-476
- Taylor SL & Hefle SL** (2001) Will genetically modified foods be allergenic? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **107**, 765-771
- Teli NP & Timko MP** (2004) Recent developments in the use of transgenic plants for the production of human therapeutics and biopharmaceuticals. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **79**, 125-145
- Tepfer D, Garcia-Conzales R, Mansouri H, Seruga M, Message B, Leach F, Curkovic Perica M** (2003) Homology-dependent DNA transfer from plants to a soil bacterium under laboratory conditions: Implications in evolution and horizontal gene transfer. *Transgenic Research*, **12**, 425-437
- Tepfer M** (2002) Risk assessment of virus-resistant transgenic plants. *Annual Review of Phytopathology*, **40**, 467-491
- Thanavala Y, Yang Y-F, Arntzen C** (1995) Immunogenicity of transgenic plant-derived hepatitis B surface antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**, 3358-3361
- Thanavala Y, Mahoney M, Pal S, Scott A, Richter L, Natarajan N, Goodwin P, Arntzen CJ, Mason HS** (2005) Immunogenicity in humans of an edible vaccine for hepatitis B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 3378-3382
- The Royal Society of Canada** 2001. Elements of precaution: Recommendations for the regulation of food biotechnology in Canada. http://www.rsc.ca/files/publications/expert_panels/foodbiotechnology/GMexsummaryEN.pdf

- Thompson CE, Squire G, Mackay GR, Bradshaw JE, Crawford J, Ramsay G** (1999) Regional patterns of gene flow and its consequence for GM oilseed rape. In: *1999 BCPC Symposium Proceedings No. 72: Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops* (S. 95-100. British Crop Protect, Farnham.
- Thompson RC, Whitaker TW, Bohn GW, van Horn CW** (1958) Natural cross-pollination in lettuce. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, **72**, 403-409
- Thurston MI, Pallett DW, Cortina-Borja M, Edwards ML, Raybould AF, Cooper JI** (2001) The incidence of viruses in wild *Brassica nigra* in Dorset (UK). *Annals of Applied Biology*, **139**, 277-284
- Tiedje JM, Colwell RK, Grossman YL, Hodson RE, Lenski RE, Mack RN, Regal PJ** (1989) The planned introduction of genetically engineered organisms: Ecological considerations and recommendations. *Ecology*, **70**, 298-315
- Till-Bottraud I, Reboud X, Brabant P, Lefranc M, Rherissi B, Vedel F, Darmency H** (1992) Outcrossing and hybridization in wild and cultivated foxtail millets: Consequences for the release of transgenic plants. *Theoretical and Applied Genetics*, **83**, 940-946
- Tilston EL, Halpin C, Hopkins DW** (2004) Genetic modifications to lignin biosynthesis in field-grown poplar trees have inconsistent effects on the rate of woody trunk decomposition. *Soil Biology & Biochemistry*, **36**, 1903-1906
- Timmons AM, O'Brien ET, Charters YM, Dubbels SJ, Wilkinson MJ** (1995) Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica*, **85**, 417-423
- Tomiuk J, Hauser TP, Bagger-Jorgensen R** (2000) A- or C-chromosomes, does it matter for the transfer of transgenes from *Brassica napus*? *Theoretical and Applied Genetics*, **100**, 750-754
- Tranel PJ, Wassom JJ, Jeschke MR, Rayburn AL** (2002) Transmission of herbicide resistance from a monoecious to a dioecious weedy *Amaranthus* species. *Theoretical and Applied Genetics*, **105**, 674-679
- Traxler A, Heissenberger A, Frank G, Lethmayer C, Gaugitsch H** (2000) *Ökologisches Monitoring von gentechnisch veränderten Organismen*. Wien.
- Truco MJ, Hu J, Sadowski J, Quiros CF** (1996) Inter- and intra-genomic homology of the *Brassica* genomes: Implications for their origin and evolution. *Theoretical and Applied Genetics*, **93**, 1225-1233
- Tzfira T, Li JX, Lacroix B, Citovsky V** (2004) *Agrobacterium* T-DNA integration: molecules and models. *Trends in Genetics*, **20**, 375-383
- US EPA** (1997) Notice of filling of pesticide petitions. *Fed Reg*, **62**, 63168-63170
- US EPA** 2000. Biopesticides registration action document. Preliminary risks and benefits sections. *Bacillus thuringiensis* plant-pesticides. http://www.epa.gov/scipoly/sap/2000/october/brad_scienceassessment.pdf
- Vacher C, Weis AE, Hermann D, Kossler T, Young C, Hochberg ME** (2004) Impact of ecological factors on the initial invasion of *Bt* transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*). *Theoretical and Applied Genetics*, **109**, 806-814
- Valueva TA & Mosolov VV** (2004) Role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganisms. *Biochemistry (Moscow)*, **69**, 1305-1309
- Van Acker RC, Brule-Babel AL, Friesen LF** (2004) Intraspecific gene movement can create environmental risk: The example of Roundup Ready (R) wheat in Western Canada. In: *Risk Hazard Damage - Specification of Criteria to Assess Environmental Impact of Genetically Modified Organisms* (Hg. Breckling B & Verhoeven R), S. 37-47. Naturschutz und Biologische Vielfalt 1. Bundesamt für Naturschutz, Bonn.
- Van den Eede, Aarts HJ, Buhk HJ, Corthier G, Flint HJ, Hammes W, Jacobsen B, Midtvedt T, Van der Vossen J, Von Wright A, Wackernagel W, Wilcks A** (2004) The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants. *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 1127-1156
- Van Elsas JD, Turner S, Bailey MJ** (2002) Horizontal gene transfer in the phytospere. *New Phytologist*, **157**, 537
- Van Raamsdonk LWD** (1995) The cytological and genetical mechanism of plant domestication exemplified by four crop models. *Botanical Reviews*, **61**, 367-399
- Van Veen JA, Van Overbeek LS, Van Elsas JD** (1997) Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**, 121-135
- VanGessel MJ** (2001) Glyphosate-resistant horseweed from Delaware. *Weed Science*, **49**, 703-705
- VDI 4330-1** (2005) *Monitoring der ökologischen Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen; Grundlagen und Strategien*. Beuth Verlag, Berlin.
- VDI 4330-3** (2005) *Monitoring der ökologischen Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen; Pollenmonitoring; Technische Pollensammler mit Pollenmassenfilter (PMF) und Sigma-2-Sammler*. Beuth Verlag, Berlin.
- VDI 4330-4** (2005) *Monitoring der ökologischen Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen; Pollenmonitoring; Biologische Pollensammlung mit Bienenvölkern*. Beuth Verlag, Berlin.
- Veluthambi K, Gupta AK, Sharma A** (2003) The current status of plant transformation technologies. *Current Science*, **84**, 368-380
- Verpoorte R & Memelink J** (2002) Engineering secondary metabolite production in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, **13**, 181-187

- Verret F, Gravot A, Auroy P, Leonhardt N, David P, Nussaume L, Vavasseur A, Richaud P** (2004) Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance. *Febs Letters*, **576**, 306-312
- Viard F, Arnaud JF, Delescluse M, Cuguen J** (2004) Tracing back seed and pollen flow within the crop-wild *Beta vulgaris* complex: Genetic distinctiveness vs. hot spots of hybridization over a regional scale. *Molecular Ecology*, **13**, 1357-1364
- Viard F, Bernard J, Desplanque B** (2002) Crop-weed interactions in the *Beta vulgaris* complex at a local scale: Allelic diversity and gene flow within sugar beet fields. *Theoretical and Applied Genetics*, **104**, 688-697
- Vierheilig H, Alt M, Neuhaus J, Boller T, Wiemken A** (1993) Colonization of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants, expressing different forms of *Nicotiana tabacum* chitinase by the root pathogen *Rhizoctonia solani* and by the mycorrhizal symbiont *Glomus mosseae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **6**, 261-264
- Vigouroux Y, Darmency H, DeGarambe TG, Richard Molard M** (1999) Gene flow between sugar beet and weed beet. In: *1999 BCPC Symposium Proceedings No. 72: Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops* (S. 83-88. British Crop Protect, Farnham.
- Vinocur B & Altman A** (2005) Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: Achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology*, **16**, 123-132
- Visser RG, Somhorst I, Kuipers GJ, Ruys NJ, Feenstra WJ, Jacobsen E** (1991) Inhibition of the expression of the gene for granule-bound starch synthase in potato by antisense constructs. *Mol Gen Genet*, **225**, 289-296
- Vogel B & Potthof C** (2003) Verschobene Marktreife. Materialien zur zweiten und dritten Generation transgener Pflanzen. (Gen-ethisches Netzwerk e.V.). http://www.gen-ethisches-netzwerk.de/gen/html/aktuell/dokus/Verschobene_Marktreife.pdf
- Volkmar C, Hussein MLA, Wetzel T** (2004a) Ecological field studies in transgenic maize at Friemar (Thuringia). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **Sp. Iss. 19**, 1017-1024
- Volkmar C, Lübke-Al Hussein M, Jany D, Hunold I, Richter L, Kreuter T, Wetzel T** (2003) Ecological studies on epigeous arthropod populations of transgenic sugar beet at Friemar (Thuringia, Germany). *Agriculture Ecosystems & Environment*, **95**, 37-47
- Volkmar C, Lübke-Al Hussein M, Richter L, Kreuter T** (2001) Zusammensetzung und Dynamik von Zönosen epigäischer Raubarthropoden in herbizidtoleranten bzw. konventionellen Rapsbeständen in Mitteldeutschland. *Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent.*, **13**, 587-590
- Volkmar C, Traugott M, Juen A, Schorling M, Freier B** (2004b) Spider communities in *Bt* maize and conventional maize fields. *GMOs in Integrated Production. IOBC wprs Bulletin*, **27**, 165-170
- Wackett LP & Ellis LBM** (1999) Predicting biodegradation. *Environmental Microbiology*, **1**, 119-124
- Walther-Hellwig K & Frankl R** (2000) Foraging habitats and foraging distances of bumblebees, *Bombus* spp. (Hym., Apidae), in an agricultural landscape. *J Appl Entomol*, **124**, 299-306
- Wang ZN, Zemetra RS, Hansen J, Mallory-Smith CA** (2001) The fertility of wheat x jointed goatgrass hybrid and its backcross progenies. *Weed Science*, **49**, 340-345
- Watrud LS, Lee EH, Fairbrother A, Burdick C, Reichman JR, Bollman M, Storm M, King G, Van de Water PK** (2004) Evidence for landscape-level, pollen-mediated gene flow from genetically modified creeping bentgrass with CP4 EPSPS as a marker. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 14533-14538
- Weber M, Harada E, Vess C, Roepenack-Lahaye E, Clemens S** (2004) Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors. *Plant Journal*, **37**, 269-281
- Webster EA, Halpin C, Chudek JA, Tilston EL, Hopkins DW** (2005) Decomposition in soil of soluble, insoluble and lignin-rich fractions of plant material from tobacco with genetic modifications to lignin biosynthesis. *Soil Biology & Biochemistry*, **37**, 751-760
- Wesseler, JHH** (Hg.) (2005) *Environmental costs and benefits of transgenic crops. Proceedings of the Frontis workshop on Environmental Costs and Benefits of Transgenic Crops, Wageningen, The Netherlands 1-4 June 2003.* http://library.wur.nl/frontis/transgenic_crops/
- Westman AL, Levy BM, Miller MB, Gilles GJ, Spira TP, Rajapaske S, Tonkyn DW, Abbott AG** (2001) The potential for gene flow from transgenic crops to related wild species: A case study in strawberry. *Acta Horticulturae*, **560**, 527-530
- Westman AL, Medel S, Spira TP, Rajapaske S, Tonkyn DW, Abbott AG** (2004) Molecular genetic assessment of the potential for gene escape in strawberry, a model perennial study crop. In: *Introgression from Genetically Modified Crops into Wild Relatives* (Hg. Den Nijs JCM, Bartsch D, Sweet J), S. 75-88. CAB International Press, Oxon, UK. <http://www.agbios.com/docroot/articles/02-280-001.pdf>
- White S & Doebley J** (1998) Of genes and genomes and the origin of maize. *Trends in Genetics*, **14**, 327-332
- Whitton J, Wolf DE, Arias DM, Snow AA, Rieseberg LH** (1997) The persistence of cultivar alleles in wild populations of sunflowers five generations after hybridization. *Theoretical and Applied Genetics*, **95**, 33-40

- WHO** (2000) Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a joint FAO/WHO expert consultation of foods derived from biotechnology.
http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/en/ec_june2000_en.pdf
- WHO** 2002. Antimicrobial Resistance. Fact Sheet No. 194.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
- Wilcks A, Van Hoek AHAM, Joosten RG, Jacobsen BBL, Aarts HJM** (2004) Persistence of DNA studied in different ex vivo and in vivo rat models simulating the human gut situation. *Food and Chemical Toxicology*, **42**, 493-502
- Wilhelm R, Beißner L, Schiemann J** (2003a) Konzept zur Umsetzung eines GVO-Monitoring in Deutschland. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, **55**, 258-272
- Wilhelm R, Beißner L, Schiemann J** (2003b) Concept for the realisation of a GMO monitoring in Germany. (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und Biosicherheit, Braunschweig). Aktualisierte englische Version von "Konzept zur Umsetzung eines GVO-Monitoring in Deutschland",
Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, **55**, 2003.
http://www.biosicherheit.de/pdf/dokumente/bba_monitoring.pdf
- Wilkinson MJ, Davenport IJ, Charters YM, Jones AE, Allainguillaume J, Butler HT, Mason DC, Raybould AF** (2000) A direct regional scale estimate of transgene movement from genetically modified oilseed rape to its wild progenitors. *Molecular Ecology*, **9**, 983-991
- Wilson H & Manhart J** (1993) Crop-weed gene flow - *Chenopodium quinoa* Willd. and *C. Berlandieri* Moq. *Theoretical and Applied Genetics*, **86**, 642-648
- Wilson HD** (1990) Gene flow in squash species - Domesticated *Cucurbita* species may not represent closed genetic systems. *BioScience*, **40**, 449-455
- Wilson HD, Lira R, Rodriguez I** (1994) Crop/weed gene flow - *Cucurbita argyrosperma* Huber and *C. fraterna* Lh Bailey (Cucurbitaceae). *Economic Botany*, **48**, 293-300
- Winnike-McMillan SK, Zhang Q, Davis LC, Erickson LE, Schnoor JL** (2003) Phytoremediation of methyl tertiary-butyl ether. In: *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants* (Hg. McCutcheon SC & Schnoor JL), S. 805-828. Wiley, New York.
- Wipff JK** (2002) Gene flow in turf and forage grasses (Poaceae). In: *Scientific methods workshop: ecological and agronomic consequences of gene flow from transgenic crops to wild relatives* (Ohio State University, Columbus, Ohio. <http://www.agbios.com/docroot/articles/02-281-009.pdf>
- Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hillemann D, Strauch E, Pühler A** (1988) Nucleotide sequence of the phosphinothricin-N-acetyl-transferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü 494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*, **70**, 25-37
- Wold S, Burkness EC, Hutchinson WD, Venette RC** (2001) In-field monitoring of beneficial insect populations in transgenic corn expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin. *J. Entomol. Sci.*, **36**, 177-186
- Wolfenbarger LL & Phifer PR** (2000) The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, **290**, 2088-2093
- Wraight CL, Zangerl AR, Carroll MJ, Berenbaum MR** (2000) Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**, 7700-7703
- Wright DJ, Iqbal M, Granero F, Ferre J** (1997) A change in a single midgut receptor in the diamondback moth (*Plutella xylostella*) is only in part responsible for field resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki* and *B. thuringiensis* subsp *aizawai*. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**, 1814-1819
- Wu KM & Guo YY** (2004) Changes in susceptibility to conventional insecticides of a Cry1Ac-selected population of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera : Noctuidae). *Pest Management Science*, **60**, 680-684
- Yang YZ, Yu YS, Ren L, Shao YD, Qian K, et al.** (2001) Effect of *Bt* transgenic cotton on parasitism of cotton bollworm. *Entomol. Knowl.*, **38**, 437
- Ye XD, Al-Babili S, Kloti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I** (2000) Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, **287**, 303-305
- Yoder JI & Goldsbrough AP** (1994) Transformation systems for generating marker-free transgenic plants. *Bio-Technology*, **12**, 263-267
- Zangerl AR, McKenna D, Wraight CL, Carroll M, Ficarello P, Warner R, Berenbaum MR** (2001) Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 11908-11912
- Zemtra RS, Hansen J, Mallory-Smith CA** (1998) Potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). *Weed Science*, **46**, 313-317
- Zhao JZ, Cao J, Li YX, Collins HL, Roush RT, Earle ED, Shelton AM** (2003) Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. *Nature Biotechnology*, **21**, 1493-1497

- Zhao JZ, Collins HL, Tang JD, Cao J, Earle ED, Roush RT, Herrero S, Escriche B, Ferré J** (2000) Development and characterization of diamondback moth resistance to transgenic brokkoli expressing high levels of Cry1C. *Environmental Microbiology*, **66**, 3784-3789
- Züghart W, Benzler A, Berhorn F, Graef F, Sukopp U** (2005) Monitoring der Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen auf Natur und Landschaft nach Marktzulassung. *Natur und Landschaft*, **7**, 312
- Züghart W & Breckling B** (2003) Konzeptionelle Entwicklung eines Monitoring von Umweltwirkungen transgener Kulturpflanzen. *UBA-Texte*, **50/03 T 1+2**, 1-543
- Zuo JR, Niu QW, Moller SG, Chua NH** (2001) Chemical-regulated, site-specific DNA excision in transgenic plants. *Nature Biotechnology*, **19**, 157-161
- Zwahlen C, Hilbeck A, Howald R, Nentwig W** (2003) Effects of transgenic *Bt* corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Molecular Ecology*, **12**, 1077-1086 + 2279
- Zwahlen C, Nentwig W, Bigler F, Hilbeck A** (2000) Tritrophic interactions of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn, *Anaphothrips obscurus* (Thysanoptera : Thripidae), and the predator *Orius majusculus* (Heteroptera : Anthocoridae). *Environmental Entomology*, **29**, 846-850

Index

Abbruchkriterien	10, 11
<i>Acinetobacter</i>	104
Ackerbegleitflora	80
Adenosin Triphosphat Sulfurylase	46
Agglutinin	35
<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	23
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	22, 32
<i>Agrostis capillaris</i>	53
<i>Agrostis gigantea</i>	56
<i>Agrostis stolonifera</i>	53, 54, 56
Allergenität	115, 117
Allgemeines Monitoring	20, 154
Allopolyploidie	64
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	75
Amylopektin	40
Amylose	40
Antibiotikamarker	23
Antibiotikaresistenz	101
Antigene	39
Antikörper	39
Antioxidantien	37
antisense	41
<i>Apis mellifera</i>	96
<i>Arabidopsis thaliana</i>	25, 38, 43, 44, 105, 123
Arsenat Reduktase	43
<i>Astragalus bisulcatus</i>	43, 44
ATP Sulfurylase	43
Atrazin	45
Auskreuzungsrate	55, 61, 123
Avidin	35
<i>Bacillus thuringiensis</i>	33
<i>barnase</i> Gen	29
Basta®	32
<i>Bathyphantes gracilis</i>	93
Bäume	54
Baumwolle	70, 85
BBA	127
Befruchtungssystem	61
<i>Beta vulgaris</i>	53, 71, 77
<i>Bialaphos resistance gene</i>	32
Bienen	91
binären Vektorsystems	22
binäres Plasmid	23
Biodiversität	79
Biodiversitätsmonitoring	152
BMELV	126
Boden-Dauerbeobachtungsflächen	131
Bodenerosion	79
Bodenorganismen	94
<i>Brachymeria intermedia</i>	96
<i>Brassica carinata</i>	61
<i>Brassica fruticulosa</i>	61
<i>Brassica juncea</i>	43, 46, 61
<i>Brassica maurorum</i>	61
<i>Brassica napus</i>	60, 61, 66, 76, 105
<i>Brassica nigra</i>	61
<i>Brassica oleracea</i>	43, 53, 61
<i>Brassica rapa</i>	52, 61
<i>Brassica tournefortii</i>	61
Brokkoli	86
Brombeere	62
Bt11	12
Bt176	19, 34
<i>Bt</i> -Mais	85, 89, 95, 98
<i>Bt</i> -Resistenz	81
<i>Bt</i> -Toxin	33
Bundesnaturschutzgesetz	6
<i>Burkholderia cepacia</i>	46
BVL	126
<i>Calystegia sepium</i>	105
Carotenoide	39
Cauliflower Mosaic Virus	30
<i>Chenopodium</i> spp.	52
Chitinasen	35
<i>Chlamydomonas</i>	38
Chloroplasten-Transformation	25
Chlorphenole	45
<i>Chrysopa carnea</i>	96
<i>Cichorium intybus</i>	53
<i>Coleomegilla maculata</i>	96
Coleoptera	35
Collembola	95
containment strategy	25
<i>Conyza bonariensis</i>	75
<i>Conyza canadensis</i>	75, 76
<i>Copidosoma floridanum</i>	96
<i>Coriolus versicolor</i>	45
<i>Cotesia marginiventris</i>	96
Cry-Protein	33, 86, 120
<i>Crysoperla carnea</i>	94
Cucumber Mosaic Virus	37
<i>Cucumis sativus</i>	53
<i>Cucurbita</i>	69
Cytochrom P450 2E1	45
<i>Cytorhynchus lividipennis</i>	94
<i>Danaus plexippus</i>	89, 92
Darm	98
Darmbakterien	105
<i>Daucus carota</i>	53, 91, 105
<i>Diptotaxis catholica</i>	61
<i>Diptotaxis erucooides</i>	61
<i>Diptotaxis muralis</i>	61
<i>Diptotaxis siifolia</i>	61
<i>Diptotaxis tenuifolia</i>	61
Dispersionstyp	72
Domestizierung	60
Dormanz	59
Dreifach-resistenter	76
Durchwuchs	54, 74
EDB	45
<i>Eisenia fetida</i>	95, 96
Elektroporation	101
<i>Eleusine indica</i>	75
Emissionstyp	72
endophytische Bakterien	46
<i>Enterobacter cloacae</i>	45
EPSPS	32
Erbse	Siehe <i>Pisum sativum</i>
Erdbeere	53, 71
Erheblichkeitsschwellen	10
<i>Eruca sativa</i>	61
<i>Erucastrum gallicum</i>	61

<i>Erwinia uredovora</i>	39	Hybridsterilität	64
<i>Escherichia coli</i>	43, 44, 106	Hyperakkumulation	42
EU-Freisetzungsrichtlinie	6, 7, 12	Imazethapyr	76
EU-Lebensmittelverordnung 178/2002	18	Input-Eigenschaften	30
EU-Umwelthaftungsrichtlinie	7, 9	Insekten-Abundanz	96
EU-Verordnung 1829/2003	13, 14, 17	Introgression	63
Evapotranspiration	46	Invarianztyp	72
Fallspezifisches Monitoring	20, 153	Invasionspotential	71
<i>Festuca pratensis</i>	53	Invasivität	125
Fettsäuren	39	Inverkehrbringen	14, 16
Fitness	65	Isolationsdistanz	54, 55
Florfliege	94	Kältetoleranz	38
<i>Fragaria x ananassa</i>	53	Karotin	39
Freisetzungsrichtlinie 2001/18	16	Kartoffel	37, 41, 95, 99, 103, 113, 122, 124
Frostempfindlichkeit	66	Keimfähigkeit	65
Futterrübe	77	Keimlingsetablierung	65
<i>Galanthus nivalis</i>	35	Keimlingssterblichkeit	124
Gänsefuß-Arten	52	Kompetenz	104
Gemeiner Hornklee	99	Komplementierung	110
Gene Pharming	39	Konjugation	100
Gene Silencing	25	Kosten	142, 152
Gene Stacking	26	Kürbis	37, 69
Genehmigungsverfahren	14	Kurzflügelkäfer	80
Gene-Pharming	111	Laccase III	45
Genfluss	71	<i>Lactuca sativa</i>	53, 113
Gentechnikgesetz	7	<i>Lactuca serriola</i>	53
Gentechnikrecht	14	Laufkäfer	80
<i>Geocoris punctipes</i>	96	Lektine	35, 95
Gerste	41, 124	Lepidoptera	35
Glufosinat	31, 76	Liberty®	32
Glutathion Peroxidase	38	<i>Linum usitatissimum</i>	53
Glutathion Synthase	43, 46	<i>Liriodendron tulipifera</i>	43
<i>Glyceria fluitans</i>	53	<i>Lolium multiflorum</i>	53, 75, 76
<i>Glycine max</i>	25	<i>Lolium perenne</i>	53
Glyphosat	31, 76	<i>Lolium rigidum</i>	75
Golden Rice	39	long transfer	24
<i>Gossypium</i>	70	<i>Lumbricus terrestris</i>	95, 96
Gram-negative Bakterien	43	<i>Lupinus luteus</i>	46, 113
green fluorescent protein	140	<i>Lupinus perennis</i>	91
Grenzwert	11	Luzerne	99, Siehe <i>Medicago sativa</i>
<i>Harmonia axyridis</i>	96	Mais	38, 41, 53, 99, 106, 124, 142
HDR-Strategie	84	Maiszünsler	34
Helfer-Plasmid	23	<i>Malus</i>	53
<i>Helianthus annuus</i>	53, 66	Mangold	77
Hybridisierung	66	<i>Medicago lupulina</i>	53
<i>Helicoverpa armigera</i>	82	<i>Medicago sativa</i>	25
<i>Heliothis virescens</i>	82, 86	<i>Medicago trunculata</i>	105
Herbizideinsatz	78	<i>Medicago x varia</i>	53
Herbizidmarker	23	Medikamente	39
Herbizidresistenz	73	Mensch	45
Heterosis	61	<i>merA</i>	44
Hg(II) Reduktase	43	<i>merB</i>	44
<i>Hippodamia convergens</i>	96	<i>Mesorhizobium</i>	24
<i>Hirschfeldia incana</i>	60, 61	Metall	42
Homoptera	35	Metallothionein	43
Honig	143	Methyl Tertiär-Butyl Ether	45
Honigtau	94	MON 810	19, 34
Horizontaler Gentransfer	100	Monarchfalter	89
Hummeln	91	Monitoring	19
Hybridfitness	68	monocistronischer mRNA	25
Hybridisierung		<i>Mus musculus</i>	43
<i>Daucus carota</i>	66	Mycorrhiza	99
Hybridisierungswahrscheinlichkeit	52	Mycotoxine	35

Nachlauf-Applikation.....	30	<i>Pyramiden-Strategie</i>	85
Nahrungsqualität	39	Quecksilber	45
<i>Narcissus pseudonarcissus</i>	39	<i>Raphanus raphanistrum</i>	52, 60, 61
<i>Nasonia vitripennis</i>	96	<i>Raphanus sativus</i>	61
Nematoden	96	<i>Rapistrum rugosum</i>	61
Neophyten	49	Raps 26, 59, 74, 99, 124, 142, Siehe <i>Brassica napus</i>	
Nicht-Rückholbarkeit.....	10	Regenwurm	95
Nicht-Zielorganismen	35, 88	Reis	124, Siehe <i>Oryza sativa</i>
<i>Nicotiana tabacum</i>	25, 43, 45, 105	Resistenz-Management	87
<i>Nilaparvata lugens</i>	94	<i>Rhizobium</i>	24
Nitratester.....	45	Rhizosphäre.....	97, 103
Nitroaromatische Sprengstoffe.....	45	<i>Rhopalosiphum padi</i>	94
Nitroreduktase.....	45	<i>Ribes</i>	53
Novel Food.....	39	Ri-Plasmid.....	24
Novel Food Verordnung	13	Risiko	5, 158
<i>NtCBP4</i>	43	Rote Bete.....	77
Ökologische Flächenstichprobe	131	Roundup®.....	32
ökologischer Schaden	5	<i>Rubus</i>	53
Operationalisierbarkeit.....	11	Rückkreuzung	65
Organellentransformation	25	<i>S. viridochromogenes</i>	32
organische Schadstoffe	45	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
Organisch-quecksilbrige Lyase.....	43	Salztoleranz.....	156
<i>Orius tristicolor</i>	96	Samenausbreitung	59
<i>Oryza sativa</i>	25	Samenbank	65, 66
Osmolyte	37	Samendormanz.....	65
<i>Ostrinia furnacalis</i>	85	Schadstoffe.....	42
<i>Ostrinia nubilalis</i>	34, 82	Schmetterling	91, 92
Output-Eigenschaften.....	38	Schutzgüter	11
<i>Papilio machaon</i>	91	Schutzklausel	18
<i>Papilio polyxenes</i>	91	Schwabenschwanz	91
Pappel.....	45, 124	Schwellenwert.....	11, 142
<i>Parallelorhogas pyralophagus</i>	96	Schwellenwerte	158
<i>PAT-Gen</i>	32	sekretorisches Immunoglobulin A	26
<i>Pectinophora gossypiella</i>	83	Sekundärmetabolite.....	39
Pentaerythritol Tetranitrat Reduktase.....	45	Selbstbestäubung.....	55, 61
Perlmutterfalter	143	Selektionsmarker.....	27
Persistenztyp	72	selektive Herbizide.....	30
Phagen.....	100	Selencystein Methyltransferase.....	43
<i>Phaseolus coccineus</i>	53	sense suppression	41
<i>Phaseolus vulgaris</i>	53	Sequenzhomologie	105
Phloem	94	<i>Sesamia nonagrioides</i>	34, 84
<i>Photorhabdus luminescens</i>	87	Sicherheitsmaßnahmen	25
Phytoextraktion	42	<i>Sinapis alba</i>	61
Phytoremediation	41	<i>Sinapis arvensis</i>	61
Phytovoltalisation	45	<i>Sinorhizobium</i>	24
<i>Pisum sativum</i>	53	Soja	106
<i>Plantago lanceolata</i>	75	<i>Solanum tuberosum</i>	53, 61
<i>Plodia interpunctella</i>	82	Sonnenblume.....	62, 66
<i>Plutella xylostella</i>	81	<i>Sorghum bicolor</i>	62
Pollenausbreitung.....	54	<i>Sorghum halepense</i>	52, 62, 64, 70
Pollenfruchtbarkeit.....	66	Spinnen	80, 93, 96
Pollenmonitoring.....	138, 143	<i>Spodoptera exigua</i>	85
Pollensammler.....	131	<i>Spodoptera littoralis</i>	94
polycistronische mRNA	25	Springschwänze	79, 95
Polyploidisierung	61	Standortregister	15
<i>Populus</i>	53, 54, 58	<i>Staphylococcus aureus</i>	44
Potato Leaf Roll Virus	37	Stärke	40
Potato Virus Y.....	37	Starlink.....	121
Promotor	29	<i>Streptomyces hygrosopicus</i>	32
Proteaseinhibitoren.....	35, 95	Stresstoleranz	38
Provitamin A	26, 39	substantielle Äquivalenz	13
<i>Prunus</i>	53	Süßkartoffel.....	41
<i>Pteris vittata</i>	42	T 25	19

Tabak	38, 45, 99, <i>Siehe Nicotiana tabacum</i>
Tagfalter-Monitoring	141
TCE	45
T-DNA	22
Ti-Plasmid	22
TNT	45
Toluen	46
Totalherbizide	30
Transduktion	100
Transformation	22, 100
Transposon	28
Trichlorethylen	45
<i>Trifolium pratense</i>	53
<i>Trifolium repens</i>	53
<i>Trifolium subterraneum</i>	124
<i>Triticum aestivum</i>	61
Trockentoleranz	156
trophische Interaktion	13
Überwachungsplan	21, 126
Umweltschaden	5
unbeabsichtigte Effekte	123
Unkraut-Management	81
Unkrautrübe	77
Ursache-Wirkungshypothesen	133
Vernalisation	77
vertikaler Genfluss	53
<i>Vicia faba</i>	53
Vip-Protein	86
<i>vir</i> Gene	22
Viren	110
Virusresistenz	36, 109
Vitamin A	39
Vogelmonitoring	131
Waldmaus	143
Watermelon Mosaic Virus-2	37
Weißes Straußgras	54, 56
Weizen	37, 99
Wilde Mohrenhirse	52, 64
Wildrübe	77
Windbestäubung	56
Wurzelsekret	96
<i>Zat1</i>	43
<i>Zea mays</i>	25, 53
Zellulose	41
<i>Zelus renardii</i>	96
ZKBS	126
Zucchini Yellow Mosaic Virus	37
Zuckerrübe	59, 77
Zulassungsverfahren	15
γ -Glutamylcystein Synthetase	43, 46

APPENDIX

Literatur-Zusammenstellung Genfluß und Hybridisierung zwischen Feldfrüchten und wilden Verwandten (nach Groot *et al.* 2003, erweitert)

Feldfrucht	Verwandte	2.1 Genfluß Genfluß klassisch	Genfluß GMO	2.2 Fitness hybrids Fitness Hybride klassisch	Fitness Hybride GMO	2.3 Introgression Fitness Rückkreuzungen klassisch	Fitness Rückkreuzungen GMO	Persistenz (Trans)Gen	2.4 Ökol/Evol Effekte
Agrostis stolonifera	Agrostis canina	Kein (1)							
	Agrostis castellana	0,0015% (1)							
	Agrostis gigantea	Kein (1)							
	Agrostis capillaris	0,044% (1)							
	Agrostis stolonifera		0,03-2,0% der Samen; maximal 8 bzw. 21 km (2)						
	Agrostis gigantea		0,04% der Samen; maximal 14 km (2)						
Amaranthus hybridus	Amaranthus rudis	kreuzbar (3)							
Beta vulgaris	Beta vulgaris ssp. maritima	indirekt festgestellt (4,5)				Virus Resistanz durch kontroll. Kreuzung (6)			Erhöhung der genetischen Diversität (4,5)
	Beta vulgaris	indirekt festgestellt (7)	0,2-5,9% bei Unkraut-Rüben im Feld (5)						
	Beta macrocarpa	Introgression bei 13 von 594 (2%) wilden (5)							
Brassica napus [Bn]	Brassica napus (crop)		0,0156% bei 200 m, 0,0038% bei 400 m (8); 50% bis 3 m vom Individuum, dann negativ exponentiell mit Distanz: better estimator than pollen dispersal from whole plot (9); höher als von größeren Feldern erwartet (10)			Hoch-Stearat spätere Keimung, geringere Keimlingsbiomasse, <, manchmal> (11)	Variabilität der GUS expression nicht abhängig von Kopie-Anzahl in segregierender Population (12)	8-jähriges Überleben am Straßenrand (13)	
	Brassica napus (crop)	Pollen-sterile Wächterpflanzen bis 4000 m bestäubt (14)							
	Brassica napus (crop)		1,4% an Feldgrenze, 0,04% bei 400 m (15)						
	Brassica napus (crop)		1,4% an Feldgrenze, 0,04% in 400 m; bis 800 m (16)						
	Brassica napus (crop)	4-8% in 9-18m vom Feldrand bei kleinen Flächen und 2-4 % in 9-18m bei größeren Flächen (17)							
Brassica rapa [Br]	0,4-1,5% außerhalb Feld (5); 1 von 505 neben Feld (18); 13-93% je nach Arten-Verhältnis im Feld, Br SI (5)	Kontroll. Kreuz. GFP (19), 9% (von 482 Nachkommen) HT im Verhältnis 1:7 der Arten im Feld (5)	<2% Keimlinge überleben im Feld (5), Bn>F1 Hybride>Br für Fitnessmaß (20), Hybride nondormant wie Bn (21)	Bt Resistanz gegen Herbivorie in kontr. Kreuz. (19), BrXBn hoch-Laureat offenbar fitter während Keimlingsentwicklung (~Br) als hoch-Stearat im Gew.haus, aber Dormanz<< Br (verdeckt übliche maternale Effekte) (22)	F2<Rückkreuzung<Bn, Br für Fitnessmaß, manche Nachkommen gleich fit (23), BC1 mehr dormant als F1 (21)	Mit Selektion 5,5% der Rückkreuz. transgen (24), BC3 mit 50% HT und Pollen Fertilität 88-95% und Überleben wie Br im Gew.haus (25)	15-34% der Rückkreuz.haben GFP Transgen (19), HT 50% in BC3 im Gew.haus (25), HT in 10% der kontrollierten BC3+4, Variabilität wegen Integration in A oder C Genom (26)		
Brassica oleracea	Nicht im Feld (18); wenig kreuzbar, nicht im Feld (5)			Pollen reduzierte Fertilität (5)		F2 geringe Keimrate (5)			
Brassica juncea	kreuzbar, 3% im Feld; Kreuzung in andere Richtung weniger (5)	kreuzbar, 3% im Feld; Kreuzung in andere Richtung weniger (5)	Pollen Fertilität 0-29% (5)		Pollen Fertilität verbessert auf 24-90% (5)			Bn RAPDs 19-93%, HT Transgen 52% in BC1 (5)	
Brassica nigra	1 von 1000 kontrollierten, 1 von 100 reziprok, keine bei gemeinsamer Kultivierung (5)	keine bei gemeinsamer Kultivierung (5)							

Feldfrucht	Verwandte	2.1 Genfluß Genfluß klassisch	Genfluß GVO	2.2 Fitness hybride Fitness Hybride klassisch	Fitness Hybride GVO	2.3 Introgression Fitness Rückkreuzungen klassisch	Fitness Rückkreuzungen GVO	Persistenz (Trans)Gen	2.4 Ökol/Evol Effekte
		Kultivierung (5)							
	Raphanus raphanistrum	45 pro männlich sterilern Bn (5)	keine (27), 10-7 bis 3,10-5 (28), 6,10-5 bis 2,10-3 (Rr Si,29), keine über 5 Jahre unter natürlichen Bed. (5)	Dormanz Bn<F1<Rr (30); weniger als 1 Rr BC1 pro BnxRr Pflanze; wird besser in folgenden Generationen (5)	F1 1,8 (max13) Samen/Pflanze, Fitness relative zu Rr 0,05 (max 0,4)% (29); F1(BnxRr) 1,1 Samen/Pflanze, 28,6% Samen/Trag (28); Feld: BC1(F1xRr) 0,12 Samen/100 Blüten-0,78 Samen/Pflanze; männliche Fertilität 8,7%- weibliche 1,4/100-11/Pflanze (31)		BC1 weibliche Fertilität 10xF1, BC2 annähernd Rr, BC4 25,4% Rr; Chromosomen 2n=18 (28); BC2(BC1xRr) 7,9/100-229,3/Pflanze Chromosome# down to 10,5% Rr#:2n=18 (31); F2-BC1 15,2 Samen/Pflanze, Fitness relative zu Rr 0,4(max2)% (5)	BC4 von BnxRr 23,5% HT und ähnlich Rr in Morphologie (28); Feld: BC1(F1xRr) 81,9% HT; männliche Fertilität 8,7%- weiblich 1,4/100-11/Pflanze, BC2(BC1xRr) 57,2% HT-chromosome# down to 10,5% Rr#:2n=18 (31), keine stabile Integration der HT (5)	
	Hirschfeldia incana [Hi] (syn. Brassica adpressa)	Befruchtungseffizienz relativ zu innerartlich 15% HixBn, 1,3% reciprok, in kontrollierten Kreuzungen, 26 Samen pro männlich-sterile Bn Pflanze im Feld (32)	Befruchtungseffizienz relativ zu innerartlich 15% HixBn, 1,3% reciprok, in kontrollierten Kreuzungen, 1 Same pro Hi Pflanze über 3 Jahre im Feld (5)		F1xHi 0,5 Samen pro Pflanze (32); Hybrid >Hi, aber Fruchtbarkeit 0,2 Samen/Pflanze (5)		Keine lebensfähigen Samen in BC5 (5)		
	Sinapis arvensis [Sa]	keine in >7500 Sa Samen (5); 0 in 3,8 Millionen Samen von Sa, 6 aus 50000 männlich-sterilen Bn Blüten im Feld (5); 3,7 pro 100 Blüten nach Handbestäubung und in vitro Kultur; 0,18 von 100 männlich-sterilen Bn Blüten im Feld, reciprok 0 (5); 0 von 6420 und 1 von 1127 Hand-Bestäubungen (0,0015% Samen) an Sa, 0-0,0049% an Bn nach Handbestäubung, 0 von 10000 Keimlingen von 26 Sa im Feld (33)		Fruchtbarkeit sehr gering (33)		Keine Rückkreuzung möglich (33)			
Brassica rapa	Brassica rapa	Ungehindertes Genfluß zw. Anbau- und Wildform (34)		Geringe Dormanz, Sterblichkeit Anbauform<F1 <starke Dormanz/Sterblichkeit Wildform, ähnlich der Mutter (35)				chance for establishment inferred from fitness data (35)	
Coffea arabica	Coffea liberica	Introgression durch AFLP gezeigt (36)							
Cucumis melo	Cucumis melo (crop)	Kein Unterschied zw. traditionalem und GVO (37)	Kein Unterschied zw. traditionalem und GVO, manchmal Inaktivierung des Transgens (37)						
Cucurbita pepo	Cucurbita texana	5%, bis zu 1300 m durch solitäre Bienen (38)			Keine Fitnessdifferenzen zw. traditionellen und GV-virus resistenz; Hybride stärker virus-resistent (39)				
Daucus carota ssp. Sativus	Daucus carota ssp. carota	Genfluß wahrscheinlich von Schossen: Kultivare und Hybride (40)		Wild>>Hybrid>Kultivar bzgl. Frost Sensitivität (41)					
Fragaria x ananassa	Fragaria virginiana	Kultivar AFLPs in Wildpopulationen festgestellt (42,43)						Persistenz von veralteten Kultivar-AFLPs in Wild populationen (42,43)	
	Fragaria vesca	Künstliche Hybriden tot vor Blüte (5)							
Glycine max	Glycine soja	Intermediäre neben Feld; Hybridtaxon = G. gracilis (34)							
Gossypium barbadense	Gossypium hirsutum	Kultivar-Allele in Wildpop (34)							
Gossypium hirsutum	Gossypium barbadense	Kultivar-Allele in Wildpop (34)							
	Gossypium	Viele Kultivar-Allele in Wildpop (34)							Viele Kultivarallele bei

Feldfrucht	Verwandte	2.1 Genfluß Genfluß klassisch	Genfluß GVO	2.2 Fitness hybride Fitness Hybride klassisch	Fitness Hybride GVO	2.3 Introgression Fitness Rückkreuzungen klassisch	Fitness Rückkreuzungen GVO	Persistenz (Trans)Gen	2.4 Ökol/Evol Effekte
	darwinii								wilden; Risiko des Aussterbens (34)
	Gossypium tomentosum	Hybridisierung liegt morphologisch nahe, aber keine Marker gefunden (34)							Risiko des Aussterbens (34)
	Gossypium mustelinum	Einige Kultivar-Allele in Wildpop (34)							
Helianthus annuus	Helianthus petiolaris	0,006 bis 0,026 kultivarspezifische AFLP in wilden Populationen (44)						Variabilität der Präsenz kultivar-spezifischer AFLPs in wilden Pops. (44)	
	Helianthus annuus	27% bei 3m, bis zu 1000 m (34,45), 42% am Feldrand (46)		Hybridsamen größer und unter größerem Fraßdruck (47), Hybridsamen weniger dormant, gleiche Fekundität, stärker Pilzresistent als Wildform, aber sehr variabel (48)	Keine Fitness Effekte der transgenen Oxalat Oxidase auf Pilzresistenz im Feld (49)		Reduzierte Herbivorie durch Bt unter Feldbedingungen (50,51)	Persistenz von Kultivarallelen über 5 Generationen (46)	
Hordeum vulgare	Hordeum vulgare (crop)	99% Selbstbestäubung, aber Kreuzung bis 60 m möglich, Isolations-distanz von 1 m genügt (5)	<2% bei männlich sterilen Pflanzen im Feld, HT volunteers occurring (5); 100% bei 1 m, 3% bei 50 m bei männlich sterilen, 0- 7% bei männlich fertilen bei 1 m (52)						
	Hordeum vulgare ssp. Spontaneum	Intermediäre unweit Feld (3431)							
	Hordeum jubatum	kreuzbar (5)		Wüchsige Nachkommen unfruchtbar (5)					
	Hordeum secalinum	kreuzbar (5)		Nachkommen langsam wachsend unfruchtbar (5)					
	Hordeum marinum [Hma]	Nachkommen Haploide von Hma (5)							
	Hordeum murinum [Hmu]	Nachkommen (Di)Haploide von Hmu tot vor Blüte (5)		Nachkommen tot vor Blüte (5)					
Lactuca sativa	Lactuca sativa (crop)	Bis zu 3% (53)							
	Lactuca serriola	Kreuz-kompatibel in gezielten Kreuzungen (54)							
Lolium perenne	Lolium perenne	Kleine Populationen können von Fremd-pollen überschwemmt werden, auch wenn nicht in Windrichtung der Quelle (modelliert in 55), große Variation der Pollen Ausbreitung durch Wind (Bateman's Gleichungen) (56), Turbulenz sollte einbezogen werden (57)							
Lycopersicon esculentum	Lycopersicon pimpinellifolium	cross-compatible in controlled crosses (58)							
	Lycopersicon esculentum (crop)	no pollen flow detected in field experiment, only seed lot contamination (59)							
Malus x domestica	Malus sylvestris	Kreuzbar, Häufigkeit im Feld unklar (60)							
Medicago sativa	Medicago falcata	Starker Genfluß (61)							Überschwemmung von Wildpopulationen (62)
	Medicago sativa	Genfluß durch Samen mit mtDNA Markern (63)							
Oryza glaberrima	Oryza glaberrima	Intermediäre neben Feldern (34)							

Feldfrucht	Verwandte	2.1 Genfluß Genfluß klassisch	Genfluß GVO	2.2 Fitness hybride Fitness Hybride klassisch	Fitness Hybride GVO	2.3 Introgression Fitness Rückkreuzungen klassisch	Fitness Rückkreuzungen GVO	Persistenz (Trans)Gen	2.4 Ökol/Evol Effekte
	<i>Oryza sativa</i>	kreuzbar (34)		F1 steril (34)					
	<i>Oryza barthii</i>	Intermediäre neben Feldern (34)							
	<i>Oryza longistamina</i>	Intermediäre neben Feldern (34)							
Oryza sativa	<i>Oryza sativa</i> (crop)	Intermediäre neben Feldern (34)	0,01%, bis zu 0,53% in Windrichtung (64)						
	<i>Oryza sativa</i> f. spontanea (red, weedy)	1-52% in gemischten Beständen (34);	0,011% bis 0,046% HR (65)	F1 heterotisch (34)	Keine signifikanten Fitnessunterschiede durch HR (66)			Introgression der Pigmentierungs-Allele in einigen Jahren (34)	
	<i>Oryza nivara</i>	Intermediäre neben Feldern (34)							Fast ausgestorben wegen Überschwemmung (34)
	<i>Oryza rufipogon</i> (perennis)	296 von 23776, maximal 43 m, abhängig von Windrichtung (67)	1,2-2,2 % HR (65)						Fast ausgestorben wegen Überschwemmung (34)
Phaseolus vulgaris	<i>Phaseolus aborigineus</i>	Intermediäre neben Feldern nicht überall (34)							Asymmetrischer Genfluß beeinflusst hybride unkraut-Populationen (68,69)
	<i>Phaseolus mexicanus</i>	Intermediäre neben Feldern nicht überall (34)							
Populus trichocarpa x deltoides	<i>Populus trichocarpa</i>	0,7-1,9%, max. 3,8% bis 500 m von Plantage (70) Hybride so fit wie wilde (70)							
Prunus domestica	<i>Prunus spinosa</i>	Kreuz- und fruchtbar (5)							
Raphanus sativus	<i>Raphanus sativus</i>	Potentielle Hybridisierungsrate nimmt mit Distanz zu; entgegen Pollen Flug Theorie (71,72)		Hybride filter als wilde (73)					
	<i>Raphanus raphanistrum</i>							F1 Hybride haben keine Nachteile bezüglich Bestäubern wenn in geringen Dichten; oder in Gegenwart von Hummeln (74)	
Rubus idaeus	<i>Rubus idaeus</i>	L Gen (Fruchtgröße) nicht, s Gen (Stacheln) 0,004 in Wilden neben Kultur; nicht in entfernten Flächen (75)							
Solanum tuberosum	<i>Solanum tuberosum</i> (crop)		1,14% innerhalb bis 0% bei 4,5-6 m (5); 24% neben Feld, 2% bei 3 m, 0,017% bei 10 m bis 0 bei 20 m (5); bis zu 1000 m durch Käfer in Neu Seeland (5)						
	<i>Solanum nigrum</i>	0 mit Handbestäubung (5)	0 von 8148 Keimlingen von 77 Pflanzen im Feld (5)	F1 Samen von männlich sterilen Sn nicht lebensfähig; Nachkommen aus Embryokultur steril (5)					
	<i>Solanum dulcamara</i>	0 mit Handbestäubung (5)	0 von 1102 Keimlingen von 63 Pflanzen im Feld (5)						
Sorghum bicolor	<i>Sorghum halepense</i>	Hybridisierung festgestellt mit Isozyemen 0,5-100m je nach Lokalität und Jahr (76)		Keine Unterschiede in Fitness zum wilden Elter (76)					Unkrauteigenschaften mögl. erhöht durch Hybridisierung (34)
	<i>Sorghum bicolor</i>	Intermediäre neben Feld (34)							
	<i>Sorghum propinquum</i>	Intermediäre neben Feld (34)							Hybridisierung mögl. Ursprung von Unkraut-Hirse (<i>S. alatum</i>) (34)
Triticum	<i>Hordeum</i>	1 von 88 (aus 2 Pop.) mit SSR und							

Feldfrucht	Verwandte	2.1 Genfluß Genfluß klassisch	Genfluß GVO	2.2 Fitness hybride Fitness Hybride klassisch	Fitness Hybride GVO	2.3 Introgression Fitness Rückkreuzungen klassisch	Fitness Rückkreuzungen GVO	Persistenz (Trans)Gen	2.4 Ökol/Evol Effekte
aestivum	marinum s.str. Huds.	RAPD, aber keine Isozyme Marker von Weizen (5,77)							
	Elymus caninus L.	kein (77)							
	Triticum turgidum	>98% Selbstbestäuber; hybridisiert spontan im Feld (5)		Hybride meist steril (34)					
	Secale cereale	Künstlicher Hybrid, Triticale, im Feld unbekannt (5)							
	Aegilops cylindrica Host.	Kein im Gew.haus, 85 von 2400 im Feld (RAPD+SSR) je nach Population (78); Hybride im Gew.haus (5)	2 auf Forschungsfläche (5,34)	F1 weibliche Fertilität 2% im Gew.haus (5); Hybride meist steril (34)		BC1 12 von 13 Samen von 5 Pflanzen keimten und waren teilweise fertil (78); BC1 und BC2 (weibliche Fertilität 37%) im Feld mit hoher Keimrate und teilweise selbstkompatibilität (5); TaXAc F1 nur weiblich fertil, BC1 mit .8% männlich und 4,4% weiblicher Fertilität, BC2 8,9% männlich, 18% weiblich, 6,9% selbst fertil, manchmal wurden fremde Chromosomen behalten (79)		6 von 7 BC1 Keimlingen von 2 F1 Pflanzen HT (5)	
Zea mays mays	Zea mays ssp. mexicana	kreuzbar (5); Intermediäre neben Feldern, Feldfruchtallele extreme selten (34)							Introgression fraglich (5,34)
	Zea luxurians	Feldfruchtallele extreme selten (34)							
	Zea mays ssp. mays (crop)	Abnehmend auf 1% bei 20-40 m, 0,2% bei 500-800 m (Standard Isolations Distanz 200 m) (5)							
	Zea diploperennis	Feldfruchtallele extreme selten (34)							
	Zea perennis	Nicht kompatibel (34)							
	Zea mays ssp. mays (crop)		30-40% in 1 m, 10-12% in 8 m, 2-5% in 31 m (80)						

Abkürzungen: HT = Herbizide Toleranz; SI = selbstinkompatibel; GFP green fluorescent protein; BC = back cross = Rückkreuzung; RAPDs = random amplified polymorphic DNA = molekulare Marker

(1) Belanger *et al.* 2003, (2) Watrud *et al.* 2004, (3) Tranel *et al.* 2002, (4) Bartsch *et al.* 1999, (5) Eastham & Sweet 2002, (6) Dietz-Pfeilstetter & Kirchner 1998, (7) Viard *et al.* 2002, (8) Scheffler *et al.* 1995, (9) Lavigne *et al.* 1998, (10) Timmons *et al.* 1995, (11) Linder & Schmitt 1994, (12) Bavage *et al.* 2002, (13) Pessel *et al.* 2001, (14) Thompson *et al.* 1999, (15) Beckie *et al.* 2003, (16) Dietz-Pfeilstetter & Zwerger 2004, (17) Cresswell & Osborne 2004, (18) Wilkinson *et al.* 2000, (19) Halfhill *et al.* 2001, (20) Hauser *et al.* 1998, (21) Landbo & Jørgensen 1997, (22) Linder & Schmitt 1995, (23) Hauser *et al.* 1998, (24) Lu *et al.* 2002, (25) Snow *et al.* 1999, (26) Metz *et al.* 1997, (27) Rieger *et al.* 2001, (28) Chevre *et al.* 1997, (29) Darmency *et al.* 1998, (30) Chadoeuf *et al.* 1998, (31) Chevre *et al.* 1998, (32) Lefol *et al.* 1996, (33) Moyes *et al.* 2002, (34) Ellstrand *et al.* 1999, (35) Adler *et al.* 1993, (36) Prakash *et al.* 2002, (37) Hokanson *et al.* 1997, (38) Kirkpatrick & Wilson 1988, (39) Spencer & Snow 2001, (40) Hauser & Bjorn 2001, (41) Hauser 2002, (42) Westman *et al.* 2004, (43) Westman *et al.* 2001, (44) Rieseberg *et al.* 1999, (45)

Arias & Rieseberg 1994, (46) Whitton *et al.* 1997, (47) Alexander *et al.* 2001, (48) Snow *et al.* 1998, (49) Burke & Rieseberg 2003, (50) Pilson *et al.* 2004, (51) Snow *et al.* 2003, (52) Ritala *et al.* 2002, (53) Thompson *et al.* 1958, (54) De Vries 1990, (55) Giddings 2000, (56) Giddings *et al.* 1997, (57) Giddings *et al.* 1997, (58) De Faria & *et al.* 2002, (59) Ilardi & Barba 2002, (60) Raybould & Gray 1993, (61) Rufener Al Mazyad & Ammann 1999, (62) Rufener Al Mazyad & Ammann 1999, (63) Muller *et al.* 2001, (64) Messeguer *et al.* 2001, (65) Chen *et al.* 2004, (66) Oard *et al.* 2000, (67) Song *et al.* 2003, (68) Papa & Gepts 2004, (69) Papa & Gepts 2003, (70) DiFazio *et al.* 1999, (71) Klinger *et al.* 1992, (72) Klinger *et al.* 1991, (73) Klinger & Ellstrand 1994, (74) Lee & Snow 1998, (75) Luby & Mcnicol 1995, (76) Arriola & Ellstrand 1996, (77) Guadagnuolo *et al.* 2001, (78) Guadagnuolo *et al.* 2001, (79) Wang *et al.* 2001, (80) Chilcutt & Tabashnik 2004
