

# **BEGLEITUNTERSUCHUNGEN BEI GENTECHNISCH VERÄNDERTEN PFLANZEN**

**Sicherheitsforschung,  
Ökologische Begleitforschung  
und Monitoring**

Beatrix PFANZAGL

MONOGRAPHIEN

Band 114

M-114

Wien, 1999

**Projektleitung**

Helmut Gaugitsch (Umweltbundesamt GmbH)

**Autorin**

Beatrix Pfanzagl (Österreichisches Ökologieinstitut für angewandte Umweltforschung)

**Satz/Layout**

Manuela Kaitna

**Titelphoto**

Manuela Kaitna, Bernhard Gröger

**Impressum**

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt GmbH (Federal Environment Agency Ltd)  
Spittelauer Lände 5, A-1090 Wien (Vienna), Austria

Druck: Riegelnik, 1080 Wien

© Umweltbundesamt GmbH, Wien 1999  
Alle Rechte vorbehalten (all rights reserved)  
ISBN 3-85457-513-0

## INHALT

	Seite
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	5
<b>SUMMARY</b> .....	6
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	7
<b>2 LITERATURRECHERCHE</b> .....	9
2.1 <b>Persistenz von DNA im Boden und horizontaler Gentransfer auf Bakterien</b> .....	9
2.2 <b>Antibiotikaresistenzgene – Vorkommen in Bodenbakterien</b> .....	10
2.3 <b>Verwilderung transgener Kulturpflanzen und Kreuzung mit verwandten Wildpflanzen (vertikaler Gentransfer)</b> .....	11
2.4 <b>Konkurrenzfähigkeit transgener Kulturpflanzen bzw. ihrer Hybriden mit Wildpflanzen</b> .....	13
2.5 <b>Umwelteffekte transgener insektenresistenter Pflanzen</b> .....	15
2.6 <b>Umwelteffekte virusresistenter Pflanzen</b> .....	19
2.7 <b>Ökologische Begleitforschung und Monitoring – Stand und Konzepte</b> .....	21
2.8 <b>Zusammenfassung und Diskussion der Literaturrecherche</b> .....	22
<b>3 SCHRIFTLICHE BEFRAGUNG DER VERSCHIEDENEN INTERESSENSGRUPPEN</b> .....	24
3.1 <b>Rücklaufquote</b> .....	24
3.2 <b>Ergebnis</b> .....	25
3.2.1 <b>Begriffsdefinitionen</b> .....	25
3.2.2 <b>Untersuchungen in geschlossenen Systemen und bei Freisetzungsversuchen</b> .....	25
3.2.3 <b>Pflanzen mit transgener Insektenresistenz</b> .....	28
3.2.4 <b>Pflanzen mit transgener Herbizidresistenz</b> .....	28
3.2.5 <b>Pflanzen mit transgener Virusresistenz</b> .....	28
3.2.6 <b>Transgene Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen</b> .....	29
3.2.7 <b>Auskreuzen transgener Pflanzen</b> .....	29
3.2.8 <b>Auswirkungen auf den Biolandbau</b> .....	29
3.2.9 <b>Monitoring nach dem Inverkehrbringen</b> .....	31
3.2.10 <b>Standardisierung von Untersuchungsmethoden</b> .....	32
3.2.11 <b>Befristete und regional beschränkte Zulassung</b> .....	32
3.2.12 <b>Integrationsmöglichkeiten in bestehende Monitoringprogramme</b> .....	35
3.2.13 <b>Durchführung und Finanzierung</b> .....	35

<b>4</b>	<b>FACHWORKSHOP ZU GLUFOSINAT-RESISTENTEM RAPS</b> .....	37
4.1	Auskreuzen.....	38
4.2	Wirkung auf die Beikrautflora.....	38
4.3	Wirkung auf Nützlinge.....	39
4.4	Wirkung auf Bodenmikroorganismen.....	39
4.5	Durchführung und Finanzierung von Monitoringprogrammen.....	40
4.6	Schlussfolgerungen.....	41
<b>5</b>	<b>DISKUSSIONSWORKSHOP</b> .....	42
5.1	Zusammenfassung der Diskussion.....	42
5.1.1	Diskussion zu den Begriffsdefinitionen.....	42
5.1.2	Diskussion zum Vorschlag für ein Minimalprogramm.....	43
5.1.2.1	Untersuchungen in geschlossenen Systemen (Labor, Gewächshaus) und Studien zu den Empfängerpflanzen.....	43
5.1.2.2	Untersuchungen bei Freisetzungen.....	44
5.1.2.3	Monitoring nach dem Inverkehrbringen.....	45
5.1.2.4	Ist ein Minimalprogramm sinnvoll?.....	46
<b>6</b>	<b>EMPFEHLUNGEN</b> .....	47
6.1	Empfehlungen zu den Begriffsdefinitionen.....	47
6.2	Vorschläge für Minimalprogramme.....	48
6.2.1	Sicherheitsforschung in geschlossenen Systemen und Studien zu den Empfängerpflanzen.....	48
6.2.2	Ökologische Begleitforschung bei Freisetzungsversuchen.....	49
6.2.3	Monitoring nach dem Inverkehrbringen.....	49
<b>7</b>	<b>LITERATUR</b> .....	52
	<b>ANHANG</b> .....	60
A.1	Vorgangsweise bei der Literaturrecherche.....	60
A.2	Fragebogen.....	62
A.3	Teilnehmerliste des Fachworkshops über Glufosinat-resistenten Raps.....	65
A.4	Teilnehmerliste des Diskussionsworkshops.....	66
A.5	Glossar.....	67

## ZUSAMMENFASSUNG

Der vorliegende Band ist ein Beitrag zur Diskussion über den notwendigen Umfang von Untersuchungen für die Zulassung gentechnisch veränderter Pflanzen bzw. zu Überwachungsprogrammen, welche nach einer Änderung der Freisetzungsrichtlinie 90/220/EWG (RAT DER EG 1990) verpflichtend vorgeschrieben werden sollen. Er beinhaltet eine Literaturrecherche zum Stand von Sicherheitsforschung, ökologischer Begleitforschung und Monitoring im Hinblick auf mögliche Umwelteffekte gentechnisch veränderter Pflanzen sowie eine Erhebung des Meinungsspektrums von Vertretern aus Landwirtschaft, Industrie, Wissenschaft, Behörden und Umweltorganisationen mit Hilfe einer schriftlichen Befragung und zwei Workshops.

Aus den Ergebnissen dieser Recherchen und Diskussionen werden Empfehlungen für Definitionen der Begriffe "Sicherheitsforschung", "ökologische Begleitforschung" und "Monitoring" abgeleitet. Weiters werden Vorschläge für Minimalprogramme an Untersuchungen, die vor und während Freisetzungen bzw. nach dem Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen durchgeführt werden sollten, unterbreitet. Vor einer Freisetzung sollten – wie es im Katalog des Anhangs II der Richtlinie 94/15/EG (KOMMISSION DER EG 1994), einer Ergänzungsrichtlinie zur Richtlinie 90/220/EWG, gefordert wird – sowohl die Toxizität und Abbaubarkeit des neuen Genprodukts und seine Expression in den verschiedenen Pflanzenteilen bekannt sein, als auch Möglichkeiten der Verwilderung der gentechnisch veränderten Pflanze oder ihrer Kreuzungsprodukte mit wildwachsenden Verwandten. Unterschiede zu den nicht gentechnisch veränderten Empfängerpflanzen in Konkurrenzfähigkeit, Überdauerungs- und Keimfähigkeit vermehrungsfähiger Pflanzenteile oder im Fremdbestäubungsanteil sollten bei Pflanzen, die Verwilderungstendenzen haben könnten bzw. in der betreffenden Region wildwachsende Kreuzungspartner haben, experimentell überprüft werden. Im Fall von Pflanzen, die durch den Einbau eines artfremden Toxins schädlingsresistent gemacht wurden, wird eine ausführliche Prüfung der Toxizität und Abbaubarkeit des Toxins analog zur Pflanzenschutzmittelprüfung nach Richtlinie 91/414/EWG (RAT DER EG 1991) empfohlen. Einflüsse auf wichtige Nützlinge sollten dabei berücksichtigt werden. Eine Liste der an Toxin-exprimierenden Pflanzenteilen fressenden Ziel- und Nichtzielarthropoden sollte erstellt werden.

Die im Labor oder Gewächshaus gewonnenen Daten sollten im Rahmen einer ökologischen Begleitforschung im Fall von Freisetzungsversuchen überprüft werden. Bei herbizidresistenten Pflanzen sollte dabei wegen des zu erwartenden großflächigen Einsatzes bestimmter Herbizide auch die vom ökologischen Standpunkt aus verträglichste Art des Herbizideinsatzes ermittelt werden und Veränderungen der Artenvielfalt der Ackerbegleitflora beobachtet werden. Eine Erhebung des Krankheits- und Schädlingsbefalls, der Pestizidanwendung und der Ackerflora und -fauna von Feldern gentechnisch veränderter Pflanzen sollte auch nach dem Inverkehrbringen fortgesetzt werden, wobei besonders auf gefährdete Arten geachtet werden sollte. Ein baldiger Beginn dieser Erhebungen ist notwendig, um eine Vergleichsbasis zu haben. Weiters ist ein intensives Monitoring der Resistenzentwicklung von Zielinsekten insektenresistenter Pflanzen erforderlich, um rechtzeitig Maßnahmen setzen zu können, die einen Verlust der Wirksamkeit der betreffenden Pestizide verhindern.

Mit dieser Arbeit soll durch die Begriffsbestimmungen und die Diskussion der an der Thematik Beteiligten der Grundstein für weiterführende Arbeiten zur Entwicklung von fallspezifischen Monitoringkonzepten und deren Überprüfung gelegt werden.

## SUMMARY

This volume contributes to the discussion on the scope of investigations required before permits for release or marketing of genetically modified plants can be given. It also refers to the implementation of monitoring programs accompanying large-scale cultivation which will be compulsory in the amendment of directive 90/220/EEC. This study includes a review of published literature on investigations concerning risk/safety – research and monitoring with respect to possible effects of genetically modified plants on the environment. A questionnaire and two workshops were used to collect opinions of representatives from agriculture, industry, authorities and environmental organisations about the necessary scope of future investigations.

According to the results of these inquiries and discussions a proposal for minimal programs of investigations for different kinds of genetically modified plants was deduced. In accordance with the catalogue of directive 94/15/EC (amending appendix II of directive 90/220/EEC) the toxicity and degradability of the new gene product and its expression in the different parts of the plant should be known before a deliberate release, as well as the plant's potential of running wild or outcrossing with wild relatives. For crops with a tendency for running wild or having wild relatives in the region, differences relative to the non-transgenic line in fitness, durability, germination behavior and percentage of cross pollination should be evaluated experimentally. For plants engineered for pest resistance through introduction of a gene encoding a toxin new for the species, the toxicity and degradability of this gene product should be tested according to the assessment of pesticides following directive 91/414/EWG. Predator arthropods and parasitoids with agronomical significance should be included in the toxicity testing. A list of target and non-target arthropods consuming toxin-expressing parts of the plant should be compiled.

In the case of temporary releases, the results of these investigations should be verified. For herbicide resistant plants the ecologically most favorable mode of herbicide application should be identified. Changes in species diversity of the field flora should be watched closely. Crop diseases and pests, pesticide applications and the flora and fauna of transgenic fields should be surveyed after marketing, too, giving special attention to endangered species. Collecting baseline data for this kind of monitoring immediately seems necessary in order to facilitate the comparison to conventional cultures. Additionally, an intensive monitoring of resistance development among target insects of genetically modified insect resistant plants is necessary for a timely reaction to maintain the effectiveness of the corresponding pesticides.

By promoting discussions among the parties concerned and by proposing definitions for terms used to describe safety assessment and monitoring it has been intended to establish a basis for the future development of case-specific monitoring concepts for transgenic crops and their evaluation.

## 1 EINLEITUNG

In Österreich könnten in naher Zukunft EU-weit zugelassene gentechnisch veränderte Pflanzen für Anbau und Vermarktung inverkehrgebracht werden. Aber auch Freisetzungen zu Forschungs- und Entwicklungszwecken sind möglich.

Auswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen auf die Umwelt sind nicht auszuschließen. Als mögliche positive Effekte werden unter anderem die Verringerung des Pestizideinsatzes, eine nachhaltige Produktion bestimmter Ausgangsstoffe für die Industrie und höhere Erträge und damit geringerer Flächenbedarf der Landwirtschaft genannt. Negative Umweltauswirkungen werden befürchtet durch Verwildern von Kulturpflanzen oder ihrer Kreuzungsprodukte mit verwandten Wildpflanzen, durch Schädigung von Nichtzielorganismen oder durch übermäßige Anwendung der Komplementärherbizide beim Anbau transgener herbizidresistenter Pflanzen. Problematisch wäre auch der Verlust relativ umweltfreundlicher Pestizide, wie die *Bacillus thuringiensis*-Toxine, durch Resistenzbildung bei Insekten. Resistente Unkräuter könnten die Anwendung von Glyphosat und Glufosinat-Ammonium uneffektiv machen.

Das Gentechnikgesetz sieht vor der Zulassung transgener Organismen für Anbau und Vermarktung ein Vorgehen nach dem Stufenprinzip vor. Untersuchungen auf mögliche Umwelteffekte transgener Pflanzen müssen zuerst in geschlossenen Systemen, wie Labor und Gewächshaus, durchgeführt werden. Wenn auf Grund der so gewonnenen Daten eine begrenzte Freisetzung mit geeigneten Isolationsmaßnahmen durch wissenschaftliche Ausschüsse und Behörden als unproblematisch bewertet wird, können weitergehende Untersuchungen im Freiland durchgeführt werden. Ein Antrag auf Zulassung zum Inverkehrbringen erfolgt auf Grund einer Bewertung der in geschlossenen Systemen und bei Freisetzungsversuchen gewonnenen Daten. Um mögliche unerwünschte Folgen eines großflächigen Anbaus für Umwelt oder Landwirtschaft frühzeitig zu erkennen, wird auch ein Monitoring nach dem Inverkehrbringen gefordert. Eine diesbezügliche Änderung der Freisetzungsrichtlinie 90/220/EWG ist derzeit in Diskussion. Der Umfang dieser Untersuchungen ist noch nicht festgelegt. Eine Beteiligung öffentlicher Einrichtungen an der Durchführung und Finanzierung von Monitoringprogrammen wird in Betracht gezogen.

Über Art und Umfang von Sicherheitsforschung, ökologischer Begleitforschung und Monitoring herrscht Uneinigkeit zwischen Ökologen, Umweltorganisationen und Entwicklern bzw. Anwendern gentechnisch veränderter Pflanzen. Viele Ökologen halten die derzeit durchgeführten Untersuchungen für die Abschätzung negativer Umweltauswirkungen transgener Pflanzen für unzureichend. Direkte Effekte auf Bodenorganismen, pflanzenfressende Tiere und die nächsten Glieder der Nahrungskette werden ihrer Meinung nach zu wenig untersucht. Längerfristige Voraussagen seien auf Grund des geringen Wissens über ökologische Zusammenhänge mit großer Unsicherheit behaftet. Viele Entwickler gentechnisch veränderter Pflanzen halten negative Auswirkungen auf die Umwelt für unwahrscheinlich und die Qualität der derzeit durchgeführten Sicherheitsforschung für eine Risikoabschätzung vor dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen in Europa für ausreichend.

Als Einleitung dieses Projekts, das das Österreichische Ökologieinstitut im Auftrag des Umweltbundesamts durchführte, wurde eine Literaturrecherche zum Thema "Sicherheitsforschung, ökologische Begleitforschung und Monitoring in Zusammenhang mit gentechnisch veränderten Pflanzen" durchgeführt. Um einen ersten Eindruck über den Stellenwert zu gewinnen, der der Untersuchung von Umwelteffekten gentechnisch veränderter Pflanzen beigemessen wird, wurden Gespräche mit Vertretern aus Landwirtschaft, Industrie, Behörden, Wissenschaft und Umweltschutzorganisationen geführt. Auf diesen Vorinformationen aufbauend wurde ein Fragebogen erstellt, der an 112 Adressaten aus den verschiedenen Interessensgruppen verschickt wurde. Das Ziel dieser schriftlichen Befragung war es, das Meinungsspektrum der Beteiligten zum nötigen Umfang von Sicherheitsforschung vor dem Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen und von Überwachungsplänen nach der Zulassung zum Anbau zu erheben.

Auch eine genaue Definition der in diesem Zusammenhang oft in verschiedenen Bedeutungen gebrauchten Begriffe Sicherheitsforschung, ökologische Begleitforschung und Monitoring wurde angestrebt. Die durch Literaturrecherche und schriftliche Befragung gewonnenen Informationen und die Ergebnisse eines vom Österreichischen Forschungszentrum Seibersdorf organisierten Fachworkshops zum Thema "Ökologische Begleitforschung bei Glufosinat-resistentem Raps" wurden vom Österreichischen Ökologie-Institut zu Vorschlägen für Minimalprogramme an Untersuchungen zusammengefasst, die für alle gentechnisch veränderten Pflanzen durchgeführt werden sollten. Diese Vorschläge wurde in einem Diskussionsworkshop mit ca. 20 Teilnehmern aus den verschiedenen Interessensgruppen besprochen und daraus schließlich Empfehlungen abgeleitet.

## 2 LITERATURRECHERCHE ZU SICHERHEITSFORSCHUNG, ÖKOLOGISCHER BEGLEITFORSCHUNG UND MONITORING

Die folgende Literaturrecherche umfasst Publikationen zum Thema des Projekts, die bis Ende Februar 1999 in den Datenbanken Medline Advanced<sup>®</sup> und Current Contents Life Sciences<sup>®</sup> aufgenommen worden waren sowie Kongressberichte, Publikationen von Umweltbehörden und Internet-Quellen (siehe Anhang A.1). Der überwiegende Teil der öffentlich zugänglichen Untersuchungen zur Abschätzung von Umwelteffekten gentechnisch veränderter Pflanzen stammt aus Arbeiten im Labor oder Gewächshaus. Ergebnisse von Freilandbeobachtungen liegen nur spärlich vor. Als Vorbereitung für einen großflächigen Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen wurden im deutschsprachigen Raum bereits einzelne Monitoringkonzepte erstellt, die ein rechtzeitiges Erkennen damit einhergehender Umwelteffekte ermöglichen sollen. In der Folge werden die wichtigsten Ergebnisse der Literaturrecherche wiedergegeben.

### 2.1 Persistenz von DNA im Boden und horizontaler Gentransfer auf Bakterien

Die Hypothese, dass Fremdgene aus Pflanzen durch horizontalen Gentransfer in Bakterien übertragen werden könnten, war der Anlass für Untersuchungen über die Persistenz von DNA in Böden. Den bisher vorliegenden Ergebnissen nach bindet ein Teil der aus abgestorbenen Zellen freigesetzten DNA an Bodenbestandteile. Laborversuche zeigten, dass dadurch der enzymatische Abbau durch DNase I (DNA-abbauendes Enzym) verlangsamt wird, die Eignung der gebundenen DNA zur Transformation von Bodenbakterien jedoch bestehen bleibt (PAGET et al. 1992, CHARMIER et al. 1993, PIETRAMELLARA et al. 1997, CRECCHIO & STOTZKY 1998a, SIKORSKI et al. 1998). WIDMER et al. (1997) untersuchten die Persistenz des rekombinanten *nptII*-Gens (durch gentechnische Methoden eingebrachtes bakterielles Kanamycinresistenzgen) abgestorbener transgener Kartoffel- und Tabakpflanzen unter Feldbedingungen. Etwa zwei Prozent der ursprünglichen Menge an *nptII*-DNA aus auf dem Feld verbliebenen Kartoffelstengeln und -blättern waren nach 137 Tagen noch nachweisbar. Diese Versuche zeigen, dass DNA aus abgestorbenen Pflanzenteilen prinzipiell für eine Transformation von Bodenbakterien zur Verfügung steht. Untersuchungen von NIELSEN et al. (1997c) weisen jedoch darauf hin, dass die Verfügbarkeit von im Boden freiwerdender DNA für Transformationsprozesse durch die Wechselwirkung mit der Bodenmatrix innerhalb von kurzer Zeit stark absinkt. Schon nach einigen Stunden konnte keine Transformation des unter bestimmten Bedingungen natürlich kompetenten Bodenbakteriums *Acinetobacter calcoaceticus* mehr nachgewiesen werden.

Die Transformierbarkeit von *Acinetobacter calcoaceticus* durch chromosomale DNA wurde unter optimierten Laborbedingungen bzw. in Bodenmikrokosmen untersucht. Eine Transformation mit Extrakten heterologer chromosomaler Pflanzen-DNA konnte bisher nicht nachgewiesen werden (NIELSEN et al. 1997a, NIELSEN et al. 1998). Bakterien, denen Sequenzen mit Homologie zur DNA transgener Zuckerrüben eingebaut worden waren, konnten jedoch unter Laborbedingungen mit DNA transgener Zuckerrüben transformiert werden (GEBHARD & SMALLA 1998). Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass in Pflanzen eingebrachte bakterielle Sequenzen den horizontalen Gentransfer auf Bodenbakterien durch die Möglichkeit zur homologen Rekombination erleichtern. Das Vorhandensein eines bakteriellen Promotors in der transgenen Sequenz der Pflanze erhöht auch die Wahrscheinlichkeit, dass das übertragene Gen vom Bakterium exprimiert werden kann. Bakterien mit verändertem DNA-Reparatursystem könnten durch eine erhöhte Rekombinationsrate nicht völlig homologer Sequenzen leichter mit chromosomaler DNA transformierbar sein (NIELSEN 1997b).

Eine weitere zu berücksichtigende Möglichkeit des horizontalen Gentransfers ist die DNA-Übertragung von Pflanzen auf phytopathogene Bakterien, da diese in engem Kontakt miteinander stehen. In Versuchen zum horizontalen Gentransfer von transgenen Kartoffeln auf das phytopathogene Bakterium *Erwinia chrysanthemi* (SCHLÜTER et al. 1995) und von transgenem T-DNA-haltigem Tabak auf das (ebenfalls T-DNA enthaltende) phytopathogene Bakterium *Agrobacterium tumefaciens* konnte keine Genübertragung nachgewiesen werden (BROER et al. 1996). Eine Übertragung von Pflanzen auf diese beiden Bakterienarten ist also, falls sie überhaupt stattfindet, ein sehr seltenes Ereignis.

Die erwähnten Versuchsergebnisse lassen den Schluss zu, dass DNA in abgestorbenen Pflanzenteilen und im Boden relativ langlebig sein kann. Eine Transformation von Mikroorganismen ist vermutlich selten, aber nicht auszuschließen. Wesentlich ist daher die Frage, inwieweit das betreffende Fremdgen im Ökosystem schon aus anderen Quellen vorhanden ist und ob es einem potentiellen Empfängerorganismus einen Selektionsvorteil bringen und dadurch zu dessen unerwünschter Vermehrung führen könnte (s. auch NIELSEN et al. 1998, HEINEMANN 1997).

## 2.2 Antibiotikaresistenzgene – Vorkommen in Bodenbakterien

Einige Vertreter der ersten Generation transgener Pflanzen, die für einen großflächigen Anbau gedacht sind, enthalten bakterielle Antibiotikaresistenzgene. Eine weitere Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen in der Umwelt ist bedenklich, da sie das Entstehen antibiotikaresistenter Krankheitserreger begünstigt. Einige Antibiotikaresistenzgene sind jedoch vor allem durch den Einsatz von Antibiotika in der Human- und Veterinärmedizin und in der Landwirtschaft in Bakterienpopulationen bereits so weit verbreitet, dass ihr Einsatz in transgenen Pflanzen unter Annahme eines vernachlässigbaren zusätzlichen Risikos trotzdem genehmigt wurde. Bei der Risikobewertung soll die Häufigkeit des betreffenden Antibiotikaresistenzgens in menschlichen und tierischen Darmbakterien berücksichtigt werden, da Darmbakterien, die durch Genübertragung aus konsumierter Pflanzen-DNA antibiotikaresistent werden, bei einer Einnahme dieses Antibiotikums einen unmittelbaren Konkurrenzvorteil haben (FDA 1998).

Untersuchungen über das Vorkommen des Kanamycinresistenzgens *nptII* in der Umwelt zeigten, dass es in Bakterien aus Klärschlamm und Schweinegülle weit verbreitet ist, während es in kultivierbaren kanamycinresistenten Bodenbakterien nicht gefunden wurde (SMALLA et al. 1993a). In einigen Böden konnte *nptII*-DNA jedoch mittels der hochempfindlichen PCR<sup>®</sup> (polymerase chain reaction)-Methode nachgewiesen werden (SMALLA et al. 1997), was auf das Vorhandensein dieses Resistenzgens in nicht kultivierbaren Bodenbakterien hindeutet. Die Situation bei den *sat*-Genen für Streptothricinresistenz ist ähnlich (SMALLA et al. 1993b, PUKALL et al. 1994): *sat*-Gene wurden in streptothricinresistenten Bakterien aus Gülle, Abwasser und Flusswasser nachgewiesen, in Böden ohne offensichtlichen Selektionsdruck gelang jedoch nur der Nachweis von *sat*-DNA mittels PCR<sup>®</sup>. Diese Ergebnisse zeigen, dass die erwähnten Resistenzgene über Kläranlagen und Gülle in die Umwelt eingebracht werden, in Bodenbakterien aber vermutlich selten sind (SMALLA et al. 1997).

Transposon-assoziierte Streptomycinresistenzgene konnten dagegen auch in kultivierbaren Gram-negativen Blatt- und Bodenbakterien von landwirtschaftlichen Flächen nachgewiesen werden, obwohl diese nicht mit Antibiotika behandelt worden waren (SUNDIN et al. 1995). Auch eine Vielzahl verschiedener Tetracyclinresistenzgene wurde in Gram-negativen Bakterien von Ackerböden gefunden, bei denen kein Hinweis auf einen vorherigen Kontakt mit Tetracyclin vorlag (BRONSTAD et al. 1996). Eine mögliche Erklärung für die weite Verbreitung von Streptomycin- und Tetracyclinresistenzgenen in Bodenbakterien ist die Produktion dieser Antibiotika durch Bodenpilze und ein dadurch entstehender Selektionsdruck, der Trägern der betreffenden Resistenzgene einen Vorteil verschafft. Auch das Aufbringen von Gülle und Klärschlamm auf landwirtschaftliche Flächen trägt vermutlich zur Verbreitung dieser Gene bei.

### 2.3 Verwilderung transgener Kulturpflanzen und Kreuzung mit verwandten Wildpflanzen (vertikaler Gentransfer)

Da Kulturpflanzen von wildwachsenden Vorfahren abstammen, besteht in deren Verbreitungsgebiet die Möglichkeit einer Kreuzung mit verwandten Wildpflanzen. Wenn dabei vermehrungsfähige Hybriden entstehen, kann sich das Fremdgen durch Rückkreuzungen mit dem wildwachsenden Elternteil in natürlichen Populationen verbreiten. Auch bei geringer Konkurrenzfähigkeit der primären Hybriden von Kulturpflanzen mit Wildpflanzen ist durch wiederholte Rückkreuzung mit dem wildwachsenden Elternteil eine Genintrogression in natürliche Populationen möglich (LEFOL et al. 1997). Solche Kreuzungen finden selbstverständlich auch mit nicht gentechnisch veränderten Kulturpflanzen statt. Das Ausmaß der von Kulturpflanzen ausgehenden Verbreitung von Genen in Wildpflanzenpopulationen ist aber kaum bekannt, da es oft nur mit molekularbiologischen Methoden abgeschätzt werden kann.

Eine Genübertragung auf wilde Populationen kann unerwünschte Folgen für die Artenvielfalt haben, wenn es sich um Gene handelt, die für die Empfängerpflanze einen Selektionsvorteil bedeuten und dadurch zu deren übermäßigen Verbreitung führen, oder um Toxingene, deren Genprodukt für Tiere, die sich von der Pflanze ernähren, schädlich ist. Probleme für die Landwirtschaft könnten durch die Bildung herbizidresistenter Unkräuter entstehen. Auch bei Arten, die als Selbstbestäuber gelten und bei denen daher eine Kreuzung mit verwandten Wildpflanzen unwahrscheinlich ist, sollte diese Annahme für jede transgene Linie überprüft werden, wenn ein erhöhtes Auskreuzen unerwünschte Folgen haben könnte. Für den Selbstbestäuber *Medicago polymorpha* wiesen molekularbiologische Untersuchungen von Populationen auf eine mögliche Auskreuzungsrate von bis zu vier Prozent hin (VITALE et al. 1998). Bei einer transgenen Linie von *Arabidopsis* wurde festgestellt, dass die Fremdbestäubungsrate bei Feldversuchen im Vergleich zu einer nicht transgenen Linie von 0,3 % auf 10,8 % erhöht war (BERGELSON et al. 1998). Diese Veränderung könnte eine Folge der Integration des Fremdgens ins Genom sein. Sie könnte aber auch durch eine Mutation bedingt sein, die zufällig in der transformierten Zelle vorlag, die anschließend zu einer ganzen Pflanze regeneriert wurde.

Die vorhandenen Daten über Verwilderungstendenz und Kreuzbarkeit von Kulturpflanzen mit wildlebenden Verwandten wurden für die Schweiz von JACOT & SCHULTE (1994), für Großbritannien von RAYBOULD & GRAY (1993), für die Bundesrepublik Deutschland von SUKOPP & SUKOPP (1994) und für Österreich von PASCHER et al. (1997) zusammengefasst.

**Kartoffel, Mais, Sojabohne:** Vernachlässigbar dürfte in Mitteleuropa die Gefahr der Verwilderung bzw. die Kreuzung mit verwandten Wildarten bei der Kartoffel (*Solanum tuberosum*), bei Mais (*Zea mays*) und bei der Sojabohne (*Soja soja*) sein.

**Zuckerrübe:** Die Zuckerrübe (*Beta vulgaris subsp. rapacea*) kreuzt sich in den Küstengebieten Europas, wo auch die Saatuchtgebiete liegen, mit der Wildrübe *Beta vulgaris subsp. maritima*, was zur Verunreinigung von Saatgut mit Unkrautrüben führt. Diese verwildern aber in unseren Breiten offenbar nicht. Für Niederösterreich geben PASCHER et al. (1997) als möglicherweise kreuzbare Wildpflanze die seltene Art *Beta trigyna* an. Molekularbiologische Untersuchungen zur Kreuzung von transgenen Zuckerrüben mit Wildrüben wurden von BARTSCH & POHL-ORF (1996) und BARTSCH & SCHMIDT (1997) durchgeführt.

**Raps:** (*Brassica napus*, eine Kreuzung aus *Brassica rapa* und *Brassica oleracea*) und Rübsen (*B. rapa* bzw. *B. campestris*) kommen beide verwildert vor. Sie sind vor allem auf Ruderalflächen anzutreffen. Auch die Verbreitung von Samen entlang von Straßen durch Verlust beim Transport bietet für Raps eine Möglichkeit zur Verwilderung. Fertile Hybride von Raps können bei Kreuzung mit den in Tabelle 1 aufgeführten Wildpflanzen entstehen.

Tab. 1: Wildwachsende Kreuzungspartner, die mit Raps (*Brassica napus*) fertile Hybriden ergeben, und ihr Vorkommen in Österreich.

Kreuzungspartner	Vorkommen in Österreich
<i>Brassica rapa</i>	häufig
<i>Brassica oleracea</i>	selten
<i>Brassica juncea</i>	selten
<i>Brassica nigra</i>	unbeständig
<i>Sinapis arvensis</i>	häufig
<i>Raphanus raphanistrum</i>	häufig
<i>Erucastrum gallicum</i>	selten

Quellen: SOJA & SOJA 1995, LEFOL et al. 1997, PASCHER et al. 1997, JORGENSEN et al. 1998

Zusätzlich kommen in Österreich noch einige andere Gattungen von Kreuzblütlern vor, über deren Kreuzbarkeit mit Raps und Rübsen keine Informationen vorliegen (PASCHER et al. 1997). Als Kreuzungspartner kommen möglicherweise auch *Sinapis alba*, *Raphanus sativus* und die Gattung *Sisymbrium* in Frage (FELDMANN et al. 1998, KRUG 1998). Die Häufigkeit spontaner Hybridisierung zwischen *B. napus* und *R. raphanistrum* wurde von DARMENCY et al. (1998) bei verschiedenen Pflanzendichten in Feldversuchen getestet. In Rapsfeldern mit *R. raphanistrum* wurden pro 100 Rapspflanzen bis zu drei Hybride zwischen den beiden Arten aufgrund ihrer Herbizidresistenz identifiziert, die in geringem Ausmaß auch Samen produzierten.

**Sonnenblume:** Da es keine heimischen *Helianthus*-Arten in Europa gibt, findet die Sonnenblume (*Helianthus annuus*) in Österreich als Kreuzungspartner nur verwilderte Vertreter dieser Gattung vor. Sie neigt selbst zu unbeständiger Verwilderung. *Helianthus*-Arten sind potentiell kreuzbar, etliche Hybride wurden beobachtet. Die knollenbildende Art *Helianthus tuberosus* (Topinambur), heute nurmehr vereinzelt zur Schnapserzeugung angebaut, ist in Österreich erfolgreich verwildert und drängt vor allem an naturnahen Standorten in Flusstälern durch seine Fähigkeit zur Bildung von Wurzelausläufern und seiner hohen Biomasseproduktion heimische Arten zurück (SUKOPP & SUKOPP 1994). Molekularbiologische Untersuchungen zum Genfluss von kultivierten zu wilden Sonnenblumen wurden in ihrem natürlichen Verbreitungsgebiet in Nordamerika durchgeführt. Sie zeigten, dass die Häufigkeit einmal in natürliche Populationen eingekreuzter Kulturpflanzengene in den folgenden fünf Generationen nicht merklich abnahm (WHITTON et al. 1997). Bei der Untersuchung von Feltrandpopulationen wilder Sonnenblumen auf 18 Kulturpflanzen-spezifische Marker wurde in allen Pflanzen mindestens ein solcher Marker gefunden, in weiter entfernt wachsenden Populationen eine geringere Anzahl oder keine (LINDER et al. 1998).

**Getreide:** Für Weizen (*Triticum aestivum*) konnte ein Genfluss auf das Unkraut *Aegilops cylindrica* im Glashausversuch gezeigt werden (ZEMETRA et al. 1998). Als wildwachsende Kreuzungspartner in Österreich kommen vielleicht auch *Elymus*-Arten in Frage (PASCHER et al. 1997). Gerste (*Hordeum vulgare*) zeigt in Mitteleuropa keine Verwilderung (SUKOPP & SUKOPP 1994), als möglicher Kreuzungspartner wird *Hordeum murinum* genannt. Sowohl für Weizen und Gerste, als auch für Roggen, besteht die Gefahr einer Auskreuzung vor allem in Südeuropa (EHRENDORFER 1998).

**Gemüse:** Schon lange bekannt ist die Bildung von fertilen Hybriden zwischen der Karotte (*Daucus carota subsp. sativa*) und ihrer wilden Artgenossin *Daucus carota subsp. carota*, die an Felldrändern wächst. Kopfsalat (*Lactuca sativa*) hat in Österreich einige potentielle Kreuzungspartner, z. B. seine mutmaßlichen Elternsippen. KOWARIK (1998) schätzt die Wahrscheinlichkeit eines Genflusses zu verwandten Wildpflanzen als hoch ein. Die Endivie (*Cichorium endivia*) ist mit der häufig vorkommenden wilden Art *Cichorium intybus* kreuzbar.

**Futterleguminosen und Gräser:** Die Saat-Luzerne (Alfalfa, *Medicago sativa*) kreuzt sich spontan mit *Medicago falcata*. Die dadurch entstehende *Medicago*-Population wird als *Medicago x vario* bezeichnet und ist ebenfalls zur Grünfuttergewinnung geeignet. *M. falcata* kommt wild in Trockenrasen, am Rand von Trockenwäldern und an Ackerrändern vor. Daneben gibt es in Österreich noch einige andere *Medicago*-Arten, mit denen zum Teil fertile Hybriden erzeugt werden konnten (PASCHER et. al. 1997). Klee (Gattung *Trifolium*) und die wirtschaftlich bedeutsamen Gräser der Gattungen *Festuca* und *Lolium*, von denen fertile Hybride innerhalb und auch zwischen den beiden Gattungen bekannt sind, sind sehr artenreich und auf vielen verschiedenartigen Standorten verbreitet. Aussagen über den Genfluss innerhalb dieser Gattungen sind daher beim derzeitigen Kenntnisstand sehr unsicher (PASCHER et. al. 1997). Wildsippnen des ebenfalls wirtschaftlich wichtigen Knautgrases (*Dactylis glomerata*) sind in Österreich häufig und gut kreuzbar mit der Kulturform.

**Obstbäume:** Die Fähigkeit zur Verwilderung und Kreuzbarkeit mit wilden Verwandten weisen auch der Kultur-Apfel (*Malus domestica*) und die Kultur-Birne (*Pyrus communis*) auf (PASCHER et al. 1997). Sie können durch vegetative Vermehrung unter Bildung von Wurzelsprossen an flachgründigen Standorten Kolonien bilden. Die Zwetschke (*Prunus domestica*), von der es ebenfalls Wildsippnen gibt, ist eine Kreuzung zwischen dem häufigen Schlehdorn (*Prunus spinosa*) und *Prunus cerasifera* und daher möglicherweise mit diesen kreuzbar. Die spätblühende Traubenkirsche (*Prunus serotina*), eine aus Nordamerika eingeführte Problempflanze, die durch ihr Eindringen in lichte Forste die natürliche Verjüngung und die Ausbildung der Krautschicht behindert, kreuzt sich nach SUKOPP & SUKOPP (1994) mit diesen beiden *Prunus*-Arten nicht. Auch die Marille hat in Mitteleuropa keine wildwachsenden Kreuzungspartner (EHRENDORFER, persönliche Mitteilung).

## 2.4 Konkurrenzfähigkeit transgener Kulturpflanzen bzw. ihrer Hybriden mit Wildpflanzen

Künstlich eingebrachte Resistenzgene könnten für Kulturpflanzen oder für ihre Nachkommen bei Kreuzung mit wildwachsenden Verwandten einen Selektionsvorteil bedeuten, der es ihnen ermöglicht, sich – und damit das Fremdgen – in unerwünschter Weise zu vermehren. Die Verbreitung von Herbizidresistenzgenen in Ackerunkräutern oder in der Vegetation mit Herbiziden behandelte Bahndämme könnte ebenso die Folge sein wie das Überhandnehmen von schädlings- oder virusresistenten verwilderten Kulturpflanzen oder deren Abkömmlingen in der Ackerrandvegetation, auf Ruderalstandorten oder in natürlichen Habitaten. Durch wiederholte Rückkreuzung von Hybriden mit dem wildwachsenden Elternteil könnten sich einzelne Gene, die einen Selektionsvorteil bringen, in natürlichen Pflanzenpopulationen etablieren und so die Ausbreitung von Verwandten transgener Kulturpflanzen begünstigen. Aber auch Gene, die keinen Selektionsvorteil bedeuten, können sich in natürlichen Populationen halten, solange sie kein Nachteil für den Träger sind. Toxingene, deren Genprodukt zuvor in dieser Pflanzenart nicht vorhanden war, könnten so zur Beeinträchtigung der Artenvielfalt beitragen.

Transgene Pflanzen können durch die Integration des Fremdgens und der damit verbundenen Veränderung der betroffenen Stelle des Genoms unerwartete Eigenschaften aufweisen. Eine weitere Ursache von Veränderungen im Vergleich zur Ausgangspflanze kann somaklonale Variation der transformierten Einzelzellen sein, die nach Einbringen des Fremdgens zu ganzen Pflanzen herangezüchtet werden. Ein Beispiel für eine nicht vorhersehbare Veränderung ist der schon erwähnte erhöhte Fremdbestäubungsanteil einer transgenen *Arabidopsis*-Linie (BERGELSON et al. 1998, siehe Kapitel 2.3). Eine Reihe von Kontrollversuchen im Hinblick auf unerwartete Eigenschaften gentechnisch veränderter Pflanzen wurden mit transgenen Linien von Raps und Zuckerrüben durchgeführt (transgene Antibiotika- und/oder Herbizidresistenz). Dabei wurde bei Konkurrenzfähigkeit gegenüber anderen Pflanzen (z. B. der auf Brach-

land aufwachsenden Vegetation) oder die Keimfähigkeit ihrer Samen in Feldversuchen mit dem Verhalten der nicht-transgenen Linien verglichen (CRAWLEY et al. 1993, BARTSCH et al. 1995, FREDSHAVN & SILBERG POULSEN 1996, HAILS et al. 1997). Diese Versuche ergaben erwartungsgemäß keine Hinweise auf Selektionsvorteile der getesteten Pflanzen unter Bedingungen ohne Selektionsdruck.

Im Fall transgener Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen (z. B. Fettsäuren oder Stärke) ist eine Veränderung der Winterhärte, der Samendormanz oder des Keimverhaltens nicht unwahrscheinlich. LINDER (1998) führte Keimungsexperimente mit Stearinsäure- und Laurinsäure-Raps (d. h. Raps, der einen hohen Anteil an den Fettsäuren Laurin- und Stearinsäure enthält) und mit Hybriden zwischen Rübsen und Laurinsäure-Raps in Wachstumskammern unter Variation der Beleuchtungs-, Nährstoff- und Temperaturbedingungen durch. Stearinsäure- und Laurinsäure-Raps wies unter manchen Bedingungen eine geringere Keimungsrate auf als die nicht gentechnisch veränderte Ausgangslinie, wobei die Samen aber lebensfähig blieben (induzierte Dormanz). Dieses Verhalten könnte unter manchen Feldbedingungen den Aufbau einer persistenten Samenbank begünstigen. Die Laurinsäure-Hybridsamen keimten hingegen, im Gegensatz zum wilden Elternteil, fast vollzählig ohne Dormanz aus.

Ein Anbau herbizidresistenter Kulturpflanzen hat zur Folge, dass ein Durchwuchs dieser Pflanze in Folgekulturen mit dem betreffenden Herbizid nicht bekämpft werden kann. Dasselbe gilt für Hybride, die durch Kreuzung der herbizidresistenten Kulturpflanzen mit verwandten Wildpflanzen entstehen und die Herbizidresistenz exprimieren. Deshalb muss z. B. der Druschverlust nach der Rapsernte möglichst vollständig zum Auskeimen gebracht und eingeckert werden, um das Aufwachsen von Raps in den Folgekulturen zu reduzieren. Die Bekämpfung herbizidresistenter Hybride aus Raps und verwandten Wildpflanzen könnte im Vergleich zur Reduktion unerwünschten Rapsaufwuchses erschwert sein, wenn diese – wie z. B. Rübsen – eine Samendormanz aufweisen und daher nicht mit Raps gemeinsam auskeimen und eingeckert werden können. In diesem Zusammenhang wurde mit nicht-transgenen Pflanzen das Keimverhalten von Hybridsamen aus Raps und Rübsen untersucht (LANDBO & JORGENSEN 1997). Sie zeigten wie Rapssamen keine Dormanz. CHADDOEUF et al. (1998) untersuchten die Überlebensfähigkeit von Hybridsamen zwischen Raps und *Hirschfeldia incana*, sowie Raps und *Raphanus raphanistrum*. Es zeigte sich, dass Hybridsamen der ersten Generation in kultiviertem Ackerland eine geringere Überlebensrate hatten als Raps, in unbearbeitetem Boden hingegen länger keimungsfähig blieben als Rapssamen. Hybride von verschiedenen Rapsvarietäten mit verschiedenen Rübsenpopulationen erwiesen sich als konkurrenzfähiger als Rübsen (HAUSER et al. 1998a). Auch einige Hybridpflanzen der Folgegeneration (Rückkreuzung mit Rübsen) wiesen eine hohe Konkurrenzfähigkeit auf (HAUSER et al. 1998b).

Eine Untersuchung an Hybriden zwischen einer nicht-transgenen kultivierten Sonnenblumensorte und wilden Sonnenblumen zeigte, dass diese zum Teil eine höhere Keimfähigkeit aufwiesen als die Wildpflanzen, sowie eine Resistenz gegen einen Rostpilz, der 53 % der Wildpflanzen befiel (SNOW et al. 1998).

Zur Bewertung des Selektionsvorteils, den ein Resistenzgen gegen Insekten- oder Virusbefall in natürlichen Populationen bringen kann, fehlen ausreichende Kenntnisse über die Bedeutung von Insektenfraß und Viruserkrankungen für den Vermehrungserfolg von Wildpflanzen (SUKOPP & SUKOPP 1994, POWER & REMOLD 1996). Eine Untersuchung der Bedeutung von natürlicher Resistenz gegen Schnecken- und Insektenfraß durch erhöhten Glucosinolatgehalt in wilder *Brassica oleracea* zeigte, dass Fraßschäden einen starken Effekt auf das Überleben und Samenproduktion von Einzelpflanzen haben können (RAYBOULD et al. 1998). In Übereinstimmung mit diesem Ergebnis zeigte *Bacillus thuringiensis*-Toxin produzierender Raps eine erhöhte Konkurrenzfähigkeit im Brachland unter Selektionsdruck durch pflanzenfressende Insekten (STEWART et al. 1997).

Die Infektionshäufigkeit von Gräsern mit BYDV (barley yellow dwarf virus), der auch Weizen, Hafer und Gerste befällt, wurde an 16 verschiedenen Grasarten im Bundesstaat New York untersucht (POWER & REMOLD 1996). Je nach Grasart waren 11-100 % der Gräser mit einem

oder mehreren Virusstämmen infiziert, was sich nach Meinung der Autorinnen zumindest bei einigen der Grasarten negativ auf ihre Konkurrenzfähigkeit auswirken dürfte. Bei wilder *Brassica oleracea* wurden negative Effekte von Virusinfektionen auf die Fitness von Einzelpflanzen beobachtet (RAYBOULD et al. 1998). Hybride einer transgenen virusresistenten Kürbislinie (*Cucurbita pepo*) mit einer verwandten Wildpflanzenart (*Cucurbita taxana*) zeigten Anzeichen einer erhöhten Konkurrenzfähigkeit im Vergleich zu *C. taxana* unter hohem Virusbefall (FUCHS & GONSALVES 1998), nicht jedoch bei schwachem Virusdruck. Geringer Virusbefall wurde bei der an mesohalinen Standorten in Küstengebieten wachsenden wilden Verwandten der Zuckerrübe gefunden, weshalb das Risiko eines wesentlichen Selektionsvorteils von Wildrüben, die durch Einkreuzung ein Virusresistenzgen von transgenen Kulturrüben erhalten, als gering eingeschätzt wurde (POHL-ORF et al. 1998). Infektionen mit Virusstämmen, die nur eine schwache Infektion hervorrufen, könnten sich aber unter manchen Bedingungen auch positiv auf die Konkurrenzfähigkeit der befallenen Pflanze auswirken, da sie gegen eine Infektion mit aggressiveren Stämmen schützen können. Auf dieser Beobachtung basiert die bei manchen Kulturarten angewandte landwirtschaftliche Praxis, Kulturpflanzen durch Infektion mit wenig virulenten Virusstämmen gegen schwere Virusinfektionen zu schützen (OECD 1996).

## 2.5 Umwelteffekte transgener insektenresistenter Pflanzen

Gentechnisch veränderte Pflanzen, die bakterielle *Bacillus-thuringiensis* (Bt)-Toxine exprimieren, sind die einzigen transgenen insektenresistenten Pflanzen, die bisher für eine Vermarktung zugelassen wurden. Bt-Pflanzen wurden 1997 in den USA auf 36.000 km<sup>2</sup> angebaut (MELLON 1998).

Bt-Toxine stammen aus verschiedenen Stämmen des weitverbreiteten Bodenbakteriums *Bacillus thuringiensis* und wurden bisher in Form von Sporenpräparaten eingesetzt. Für eine toxische Wirkung auf Insekten ist eine Auflösung der inaktiven Toxinkristalle im Insektendarm und eine darauffolgende Spaltung des Protoxins zum aktiven Toxin durch bestimmte Enzyme notwendig. Sind an der Darmwand Rezeptoren vorhanden, an die das Toxin binden kann, führt dies zu einer Perforation des Darms und das Insekt verendet. Da diese Schritte nur erfolgen können, wenn der Insektendarm ausreichend basisch ist und die entsprechenden Spaltungsenzyme und Rezeptoren vorhanden sind, ist die Wirksamkeit der einzelnen Bt-Toxine weitgehend – aber nicht völlig – spezifisch für bestimmte Insektengruppen (RIEGLER & STAUFER 1998, DEML & DETTNER 1998, SCHÜTTE & RIEDE 1998).

In Entwicklung sind auch Pflanzen, die durch die Expression von Proteaseinhibitoren Insektenresistenz erlangen sollen. Die Wirkungsweise von Proteaseinhibitoren beruht auf einer Hemmung von Proteasen (Enzyme zur Verdauung von Proteinen) im Darm des Zielorganismus, wodurch dessen Nahrungsaufnahme beeinträchtigt wird. Proteaseinhibitoren gehören zum natürlichen Abwehrrepertoire mancher Pflanzenarten, wie z. B. Reis und Soja.

Im Gegensatz zu konventionellen Pestiziden, deren Wirksamkeit zeitlich begrenzt ist, sind die in transgenen Pflanzen eingebrachten Toxine normalerweise in der gesamten Wachstumsphase der Kulturpflanze vorhanden. Dadurch können Organismen mit dem Toxin in Kontakt kommen, die sonst nicht oder nur fallweise betroffen wären. DEML & DETTNER (1998) haben für einige Kulturpflanzen Listen bekannter "Schadinsekten" zusammengestellt. Für Mais enthält diese Liste z. B. die Maulwurfsgrille, den Ohrwurm, Mai-, Juni- und Julikäfer, verschiedene Erdflöhe, einige Zweiflüglerlarven, Zikaden, Wanzen und Käfer, sowie Blattläuse und mehr als 20 Raupen von Schmetterlingsarten. Zwei dieser Schmetterlingsarten (die Eulenfalter *Luperina testacea* und *Hydraecia micacea*) gelten in Salzburg und Kärnten bzw. österreichweit als gefährdet (ROTE LISTEN 1994). Bei zwei anderen Eulenfaltern – *Spodoptera exigua* (empfindlich gegen Bt) und *Mythimna unipuncta* (schwach empfindlich gegen Bt) – wird ein starker Rückgang beobachtet, ihre Raupen werden allerdings vermutlich nicht in Österreich durch Bt-

Mais beeinflusst werden, da sie in den Roten Listen als "nicht bodenständige Weitwanderer" geführt werden. Ebenfalls stark gefährdet sind die Steppengrille und der Blatthornkäfer *Lethrus apterus*, die nach CHIANG (1978) ebenfalls in Maisfeldern anzutreffen sein sollen. Mais wird in Österreich auf etwa einem Fünftel der Ackerfläche angebaut und kaum mit Insektiziden behandelt (ZWATZ 1996).

Die in Form von Sporenpräparaten als Pflanzenschutzmittel zugelassenen Bt-Toxine wurden auch im Hinblick auf ihre Wirkung auf ausgewählte Nützlinge getestet. Diese Untersuchungen sind auch für Bt-Pflanzen relevant, da Nützlinge in diesem Fall dem Wirkstoff indirekt über die Nahrungskette ausgesetzt sind. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die wichtigsten Ergebnisse aus Laborversuchen mit Bt-Toxinen.

Für Springschwänze (Collembolen) wurde auch die Reproduktionstoxizität von CryIIA, CryIAb, CryIAc und CryIIIA untersucht. Keines der genannten Toxine hatte einen negativen Einfluss auf die Reproduktion (SIMS & MARTIN 1997). Untersuchungen über die Wirkung von Bt-Präparaten auf Parasitoide (z. B. Schlupfwespen) ergaben widersprüchliche Ergebnisse (DEML & DETTNER 1998, SCHÜTTE & RIEDE 1998). Bei solchen Versuchen ist die Interpretation der Ergebnisse oft schwierig, da die Versuchsobjekte unabhängig von der Wirkung des Toxins auch durch den Verlust ihres Toxin-empfindlichen Wirts beeinflusst werden.

Aus den mit Bt-Toxinen aus Sporenpräparaten gewonnenen Ergebnissen kann nicht mit Sicherheit auf die Toxizität transgener Bt-Pflanzen geschlossen werden. Dies gilt besonders für im Vergleich zum bakteriellen Toxin verkürzte Toxingene, bei denen der für die Entfaltung der Giftwirkung notwendige Schritt der enzymatischen Spaltung des Protoxins zum Toxin im Insektdarm nicht mehr erforderlich ist (SCHÜTTE & RIEDE 1998). Dadurch könnten Organismen, die vor Sporenpräparaten dadurch geschützt sind, dass in ihrem Darm diese Spaltung nicht abläuft, durch verkürzte Toxine doch geschädigt werden. Auch eine Glykosylierung von Bt-Toxinen in Pflanzen könnte ihr Wirkungsspektrum verändern. Möglicherweise könnten Bt-Toxine auch durch eine Umwandlung im Körper von Insekten, die Bt-Pflanzen konsumieren, eine erhöhte Toxizität für deren Fressfeinde erlangen, die bei Toxizitätsprüfungen mit isolierten Toxinen oder Sporenpräparaten nicht entdeckt werden kann (CONCAR 1999).

Bei den wenigen publizierten Freilandbeobachtungen an Feldern von Bt-Pflanzen wurden keine direkten negativen Auswirkungen der Toxine auf die untersuchten Nichtzielorganismen entdeckt. Weder räuberische Sichelwanzen an CryIAc-exprimierendem Tabak, noch Florfliegen an CryIAb-exprimierender Baumwolle wurden geschädigt (HOFFMANN et al. 1992, WILSON et al. 1992). RIDDICK et al. (1998) stellten zwar fest, dass der Laufkäfer *Lebia* in Feldern CryIIIA-exprimierender Kartoffeln seltener war als in konventionellen Kartoffelfeldern, führen dieses Ergebnis aber auf die niedrige Dichte an Kartoffelkäferlarven in den Feldern mit Bt-Kartoffeln zurück. Der nicht auf Kartoffelkäferlarven als Nahrung spezialisierte Marienkäfer *Coleomegilla maculata* war in beiden Feldern gleich häufig anzutreffen. PILCHER et al. (1997) beobachteten bei Freisetzungen von Bt-Mais (CryIAb) die Individuenzahl einiger Fressfeinde des Maiszünslers (*Ostrinia nubilalis*). Sie fanden keinen Unterschied in der Häufigkeit von *Coleomegilla maculata* (Marienkäfer), *Orius insidiosus* (Blumenwanze) und *Chrysoperla carnea* (Florfliege) zu Feldern mit nichttransgenem Mais (Beobachtungszeitraum zwei Jahre bzw. die Eiablageperiode des Maiszünslers). Auch in der Parasitierungsrate der Maiszünslereier und -larven konnte kein Unterschied festgestellt werden (ORR & LANDIS 1997). PILCHER et al. weisen jedoch auf eine trotz zweijähriger Beobachtung bestehende Unsicherheit bezüglich chronischer reproduktiver Wirkungen hin. HILBECK et al. (1998) beobachteten in Laborversuchen eine erhöhte Mortalität (62 % mit Bt im Vergleich zu 37 % ohne Bt) und eine verzögerte Entwicklung von Florfliegenlarven (*Chrysoperla carnea*), die sich von auf CryIAb-haltigem Mais gezüchteten Maiszünslern ernährten.

Tab. 2: Ergebnisse aus Laboruntersuchungen der Wirkungen von Bt-Toxinen.

Toxine	Zielorganismen	kein Effekt beobachtet auf	schädlich für	Bemerkungen	Quelle
CryIAa+CryIAb+ CryIAc+CryIIA+ CryIIB (Dipel <sup>®</sup> , d. h. Bt var. <i>kurstaki</i> HD-1)	Schmetterlinge, (Zweiflügler)	Bienen und 7 von 8 Nützlingen, u. a. die Raubmilbe <i>Typhlodromus pyri</i>	für die Schwebfliege <i>Syrphus corollae</i> schwach schädigend	Einstufung von Dipel <sup>®</sup> (BRD)	DEML & DETTNER 1998
			Raubmilbe <i>Typhlodromus occidentalis</i>	übliche Anwendungs- mengen	CHAPMAN & HOY 1991
			Raubwanze <i>Xylocoris flaviceps</i>		SALAMA et al. 1982
CryIAb			Florfliege <i>Chrysoperla carnea</i> (Larven)	ernährt mit lebenden Toxin- vergifteten Mais- zünslerlarven	HILBECK et al. 1998
CryIAa+CryIb+ CryIC (Bt var. <i>entomocidus</i> )	Schmetterlinge		Florfliege <i>Crysopa carnea</i> , Marienkäfer <i>Coccinella undecimpunctata</i>		SALAMA et al. 1982
CryIIA	Schmetterlinge, Zweiflügler	Eine Assleart und Insektenarten aus 8 verschiedenen Ordnungen	Schmetterlinge und manche Zweiflügler (große Empfindlich- keitsunterschiede auch innerhalb dieser Ordnungen)	getestet: eine Assleart und 35 Insektenarten aus 10 verschiedenen Ordnungen	SIMS 1997
CryIAc	Schmetterlinge		nur bei den vier getesteten Schmetterlingsarten >50 % Mortalität	getestet: 14 Insektenarten mit mehr als hundertfacher Konzentration im Vergleich zu transgener Baumwolle	SIMS 1995
CryIIIB	Käfer	Bienen		400-2.000fache der unter Feld- bedingungen zu erwartende Konzentration	ARPAIA 1996
CryIIIA bzw. Novodor <sup>®</sup> (d. h. Bt var. <i>tenebrionis</i> )	Käfer	Laufkäfer <i>Poecilus cupreus</i>	schwach schädigend für den Kurzflügelkäfer <i>Aleochara bilineata</i>	Einstufung von Novodor <sup>®</sup> (BRD)	DEML & DETTNER 1998
		Marienkäfer <i>Coleomegilla maculata</i> (Larven)		ernährt mit lebenden Toxin- vergifteten Kar- toffelkäferlarven	RIDDICK & BARBOSA 1998
		Bienen, Florfliege <i>Chrysoperla carnea</i> Marienkäfer <i>Hippodamia convergens</i>			LAVRIK et al. 1995
			Raubmilbe <i>Typhlodromus occidentalis</i> , Marienkäfer <i>Coccinella septempunctata</i>		CHAPMAN & HOY 1991, KELLER & LANGEN- BRUCH 1993

Der Abbau von Bt-Toxinen im Boden wurde vorwiegend in Mikrokosmen untersucht, wobei gereinigtes Toxin oder toxinhaltige Pflanzenteile in den Boden eingearbeitet wurden. Ein hoher Anteil der untersuchten Bt-Toxine wurde an Ton oder Huminsäuren adsorbiert, wodurch sie offenbar vor dem Abbau durch Mikroorganismen oder Proteasen besser geschützt waren, ihre insektizide Wirkung aber erhalten blieb (CRECCHIO & STOTZKY 1998b, KOSKELLA & STOTZKY 1997). Die Halbwertszeit von an Bodenbestandteile gebundenem bzw. in Form von transgenen Pflanzen eingearbeitetem Bt-Toxin im Boden schwankt etwa zwischen zwei und 50 Tagen. Nach der Einarbeitung transgener Pflanzen in den Boden wurden 140 Tage nach Versuchsbeginn Rückstandsmengen bis zu 35 % der Ausgangsmenge gefunden (PALM et al. 1995, PALM et al. 1996, SIMS & REAM 1997).

Die Wirkung von mikrobiellen Bt-Toxinen bzw. von Bt-Pflanzen auf Bodenbakterien und -pilze wurden untersucht (DONEGAN 1996, DONEGAN & SEIDLER 1998). Eine Untersuchung im Rahmen einer Freisetzung von Bt-Kartoffeln ergab diesbezüglich keinen auffallenden Unterschied zu einer Behandlung mit dem systemischen Insektizid Di-Syston®. YU et al. (1997) beobachteten die Wirkung von Bt-Baumwolle und Bt-Kartoffeln auf Wachstum und Reproduktion einer Springschwanz- und einer Milbenart. Sie fanden keinen Hinweis auf eine toxische Wirkung von in Pflanzen exprimiertem CryIAb und CryIAc auf Milben bzw. CryIIIA auf Milben oder Springschwänze.

Auch vereinzelte Untersuchungen zur Abschätzung der Wirkung von Proteaseinhibitoren auf Nichtzielorganismen liegen vor. So wurde z. B. festgestellt, dass Inhibitoren von Cystein-Proteasen die Proteaseaktivität im Mitteldarm des Marienkäfers *Adalia punctata* fast völlig hemmen (WALKER et al. 1998). Bei *Perillus bioculatus*, einem Fressfeind des Kartoffelkäfers, wurde eine um 50 % verminderte Fruchtbarkeit der Weibchen und eine verzögerte Eiablage bei Weibchen beobachtet, die mit Oryzastatin I-behandelten Kartoffelkäferlarven gefüttert wurden (Oryzastatin I ist ein Inhibitor von Cystein-Proteasen aus Reis). Diese Weibchen erschienen jedoch hungriger als die Kontrollgruppe und würden im Feld möglicherweise mehr Beute erjagen (ASHOURI et al. 1998). Ein pflanzlicher Trypsin-Inhibitor bewirkte in Fütterungsversuchen mit Bienen eine Verringerung der Lernfähigkeit auf individueller und Kolonieebene (PICARDNIZOU et al. 1997). In Versuchen mit drei anderen Proteaseinhibitoren (Oryzastatin I, Hühnereiweiß-Cystatin und Bowman-Birk-Proteaseinhibitor aus Sojabohnen) wurde bei Bienen weder eine erhöhte Mortalität in Kurzzeittests, noch eine Langzeitwirkung auf die Verdauungsaktivität oder eine Beeinflussung des Geruchslernvermögens festgestellt (GIRARD et al. 1998).

DONEGAN et al. (1997) untersuchten die Abbaugeschwindigkeit von in transgenem Tabak enthaltenem Proteaseinhibitor I und die Wirkung auf Bodenprotozoen, Nematoden und Mikroarthropoden. Nach 57 Tagen waren noch geringe Mengen des Proteaseinhibitors I im Boden nachweisbar. Im Vergleich zu nicht-gentechnisch verändertem Tabak wurde eine Zunahme der Anzahl und eine Verschiebung des Artenspektrums von Nematoden zugunsten von pilzfressenden Arten beobachtet. Einen Überblick über den Kenntnisstand bezüglich der Wirkung antibakterieller und pilzhemmender Proteine transgener Pflanzen auf die Bodenmikroflora geben GLANDORF et al. (1997). Diesen Autoren zufolge sind diesbezügliche Untersuchungen spärlich, unvollständig und konzentrieren sich vor allem auf Mycorrhiza.

Untersuchungen zur Resistenzbildung gegen Bt-Toxine bei Schadinsekten und Möglichkeiten des Resistenzmanagements werden in einigen Überblicksartikeln ausführlich behandelt (GOULD 1998, SCHÜTTE & RIEDE 1998). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei großflächigem Anbau von Bt-Pflanzen ohne effizientes Resistenzmanagement eine Resistenzentwicklung innerhalb weniger Jahre zu erwarten ist. Resistenzen gegen mikrobielle Bt-Präparate konnten in Laborversuchen bei mindestens neun Schmetterlings- und zwei Käferarten selektiert werden (SCHÜTTE & RIEDE 1998). Dazu zählen auch der Kartoffelkäfer und der Maiszünsler, bei dem aus einer Population schon nach sieben Generationen eine 73-fache Resistenz selektierbar war (HUANG et al. 1997). Unter Feldbedingungen ist Resistenz bei der Kohlschabe (*Plutella xylostella*) an drei räumlich getrennten Populationen aufgetreten. Die Resistenz der Populationen in Hawaii und Pennsylvania, die gleichzeitig gegen verschiedene Bt-Toxine schützt, wird rezessiv vererbt und beruht wahrscheinlich auf dem gleichen Mecha-

nismus, während auf den Philippinen eine durch mehrere Gene bedingte nichtrezessive Resistenz aufgetreten ist (TABASHNIK 1997a). Die Initialfrequenz der Resistenzallele der Kohlschabe in empfindlichen Populationen liegt sehr hoch, sie bringen offenbar keinen gravierenden Selektionsnachteil (TABASHNIK 1997b). Bei einer Population aus Florida mit nicht völlig rezessivem Resistenzmechanismus blieb die Resistenz bei Weiterzucht ohne Selektionsdruck in schwächerer Form über mindestens acht Generationen erhalten (TANG et al. 1997). Auch TABASHNIK (1996) beobachtete bei 1993 auf Hawaii im Freiland gefangenen resistenten Kohlschaben eine Stabilität der Dipel<sup>®</sup>-Resistenz über zehn Generationen im Labor ohne Selektionsdruck. 1990 hatte die gleiche Feldpopulation bei Weiterzucht ohne Selektionsdruck noch eine Abnahme der Resistenz gezeigt. Offenbar brachte die Resistenz damals noch für ihre Träger in Abwesenheit des Toxins einen Konkurrenznachteil mit sich, der in den dazwischenliegenden Jahren durch weitere genetische Veränderungen gesunken war. Auch gegen chemische Pflanzenschutzmittel sind Resistenzen bekannt, die sich auch ohne Exposition sehr lange in Populationen halten. So wurden beispielsweise noch zehn Jahre nach Beendigung des Einsatzes von Methylparathion 14 % Resistenzallelträger (von ursprünglich 90 %) in einer Population von *Heliothis virescens* gefunden (BROWN 1996).

Für ein Resistenzmanagement wird der abwechselnde Anbau resistenter und nichtresistenter Pflanzen vorgeschlagen bzw. praktiziert (USA), um nichtresistente Insekten am Leben zu erhalten, die bei rezessiv vererbter Resistenz mit resistenten Partnern nicht resistente Nachkommen produzieren. Bei der Art der Anordnung von insektenresistenten und konventionellen Pflanzen müssen Mobilität und Reproduktionsverhalten der Schadinsekten berücksichtigt werden. Eine gleichbleibend hohe Toxinexpression wird im Hinblick auf eine Resistenzverzögerung für wichtig gehalten, da ein geringer Prozentsatz an überlebenden Trägern eines rezessiven Resistenzgens die Resistenzbildung stark beschleunigen könnte (ONSTAD & GOULD 1998). Die Beschränkung der Toxinexpression auf bestimmte Pflanzenteile durch gewebespezifische Promotoren oder das Verwenden bei Bedarf induzierbarer Promotoren, die allerdings das Aufbringen einer Aktivierungssubstanz (z. B. Ethylalkohol, SALTER 1998) erfordern, würden die Resistenzentwicklung voraussichtlich verzögern.

## 2.6 Umwelteffekte virusresistenter Pflanzen

Die meisten Kulturpflanzen werden regelmäßig mit verschiedenen Viren infiziert und manche Viren sind in bestimmten Pflanzen fast immer zu finden (OECD 1996). Die Symptome variieren je nach Virusstamm, Koinfektion mit anderen Viren (Verstärkungseffekte sind möglich), Variante der Wirtspflanze und Umweltbedingungen. Da Viren durch Nematoden (Fadenwürmer), Pilze, Milben oder Insekten übertragen werden können, können durch virusresistente Kulturpflanzen potentiell Pflanzenschutzmittel eingespart werden, die sonst gegen diese Überträger eingesetzt würden.

Virusresistente Pflanzen können durch den Einbau viraler Sequenzen in das Pflanzengenom erzeugt werden. Als besonders erfolgversprechend hat sich die Expression von viralen Hüllproteinen in der Pflanze erwiesen. Diese Strategie hat sich bereits bei 50 Viren bewährt (OECD 1996). Aber auch unvollständige Hüllproteine oder nichttranslatierte (nicht in Proteine übersetzte) Sequenzen viraler RNA können für eine Resistenzvermittlung ausreichen. Die permanente Expression dieser viralen Sequenzen erhöht trotz ihrer normalerweise niedrigen Expressionshöhe möglicherweise die Wahrscheinlichkeit, dass durch Rekombination mit anderen Viren, die die Pflanze infizieren, neuartige Viren mit veränderten Eigenschaften entstehen (OECD 1996). Dasselbe gilt, wenn virale Sequenzen in Pflanzenteilen exprimiert werden, die von dem entsprechenden Virus normalerweise nicht infiziert werden oder wenn transgene virusresistente Pflanzen wegen anderer erwünschter Eigenschaften in Gebieten angebaut werden, wo das betreffende Virus nicht vorkommt. Hüllproteine von Pflanzenviren sind sowohl für die systemische Infektion (Verbreitung der Infektion) in der Wirtspflanze, als auch für

die Übertragung auf andere Pflanzen, z. B. durch bestimmte Insekten, von Bedeutung. Bei Verwendung eines kompletten Hüllproteingens zur Erzeugung der Virusresistenz besteht die Möglichkeit, dass das Genom fremder Viren in dieses Hüllprotein verpackt wird (heterologe Enkapsidierung) und einerseits in Pflanzenteile, andererseits in Pflanzenarten gelangen könnte, die normalerweise nicht befallen werden.

Sowohl Rekombination, als auch heterologe Enkapsidierung kann auch in nicht transgenen Pflanzen bei Infektion durch mehrere Viren vorkommen. Möglicherweise ist aber wegen einer Wanderung des Infektiosherds durch das Gewebe für einen intensiven Kontakt zweier Viren ein gleichzeitiges Infektionsereignis notwendig. ALLISON et al. (1996) stellten fest, dass eine simultane gemischte Infektion mit verschiedenen Bromoviren schwer herzustellen war. Wenn es aber gelang, gab es auch Rekombinationsereignisse. Tabelle 3 gibt einen Überblick über Laborversuche zu Rekombinationsereignissen zwischen Virusresistenzgenen transgener Pflanzen und infizierenden Viren. Bei diesen Versuchen wurden die transgenen Pflanzen in den meisten Fällen mit Virusmutanten bzw. viraler RNA infiziert, die alleine keine oder nur eine schwache systemische Infektion der Pflanze hervorrufen. Rekombinationsereignisse konnten dann am Auftreten von systemischer Infektion erkannt werden. Sie wurden in diesen Pflanzen dann auch mit molekularbiologischen Methoden nachgewiesen.

Tab. 3: Labor- und Feldversuche zu Rekombinationsereignissen zwischen Virusresistenzgenen transgener Pflanzen und infizierenden Viren.

Transgene Pflanze	infizierender Virus	Rekombinationsereignisse	Bemerkungen	Quelle
CCMV-Hüllproteingen (cowpea chlorotic mottle virus) in <i>Nicotiana benthamiana</i>	CCMV-Mutante mit nichtfunktionellem Hüllprotein	in 4 von 125 infizierten Pflanzen	Laborversuch	GREENE & ALLISON 1996
CaMV-Sequenzen, die systemische Infektion ermöglichen (cauliflower mosaic virus) in <i>Nicotiana bigelovii</i>	systemisch infizierender CaMV	in 3 von 23 infizierten Pflanzen	Laborversuch, geringer Selektionsdruck	WINTERMANTEL & SCHOELZ 1996
	CaMV-Stamm ohne Fähigkeit zur systemischen Infektion nicht-transgener <i>N. benthamiana</i>	in 36% der infizierten Pflanzen	Laborversuch	KIRALY et al. 1998
ACMV-Hüllproteingen (african cassava mosaic virus) in <i>N. benthamiana</i>	ACMV-Mutante ohne Hüllproteingen	in einigen Pflanzen	Laborversuch, rekombinante Viren erst in späteren Stadien der Infektion beobachtet	KIRALY et al. 1998
	verkürzte nichtfunktionelle "movement protein"-RNA von RCNMV	in einigen Pflanzen	Laborversuch, systemische Infektion durch rekombinante Viren erst nach 4 bis 6 Wochen	XIONG & WENG 1996
TBSV-Hüllproteingen (tomato bushy stunt virus) in <i>N. benthamiana</i>	TBSV-Mutante mit nichtfunktionellem Hüllprotein	in bis zu 20 % der infizierten Pflanzen	Laborversuch, Auftreten rekombinanter Viren nach 2 bis 4 Wochen	BORJA et al. 1999
sechzehn PLRV-Hüllproteingen- und sieben PRLV-Replikasekonstrukte in 25 000 bzw. 40 000 Kartoffelpflanzen (potato leafroll virus)	verschiedene Kartoffelviren	keine neuen bzw. veränderten Viren entdeckt (untersucht wurden hervorgerufene Symptome, Wirtsspektrum und Reaktion mit Antisera bzw. Sedimentationsverhalten)	sechsjähriger Feldversuch	THOMAS et al. 1998

GREENE & ALLISON (1996) gelang es, die Rekombinationsfrequenz von viraler RNA von CCMV (cowpea chlorotic mottle virus) mit homologer transgener Hüllprotein-RNA durch Entfernen einer dem Hüllproteingen benachbarten Region, die an der Initiation der viralen Replikation beteiligt ist, stark zu reduzieren. Heterologe Enkapsidierung könnte durch den Austausch bestimmter Aminosäuren des Hüllproteins verhindert werden, die für den Zusammenbau der Virushülle essentiell sind (JACQUET et al. 1998). Rückmutationen wären allerdings möglich. PALUKAITIS & ZHONG (1996) untersuchten, ob ein künstlich hergestellter rekombinanter TMV (tabac mosaic virus) mit dem Hüllproteingen von CMV (cucumber mosaic virus) seine eigene rekombinante RNA enkapsidieren könnte, was nach Angabe der Autoren höchstens in sehr geringem Ausmaß der Fall war.

In einem sechsjährigen Feldversuch wurden 25.000 Kartoffelpflanzen (442 Linien) mit 16 verschiedenen Konstrukten des PLRV (potato leafroll virus)-Hüllproteins und 40.000 Kartoffelpflanzen (512 Linien) mit 7 Konstrukten des PLRV-Replikasegens auf Interaktionen der Fremdgene mit Viren untersucht (THOMAS et al. 1998). Viren, die die Pflanzen infizierten, wurden auf Änderungen serologischer Eigenschaften, des Übertragungsverhaltens, der hervorgerufenen Symptome oder des Wirtsspektrums überprüft. Auch Viren, die im Glashaus in transgenen Pflanzen vermehrt wurden, wurden auf diese Parameter untersucht. Es wurden keine Veränderungen bei infizierenden Viren festgestellt und keine bei Kartoffeln unbekannte Viren entdeckt.

## 2.7 Ökologische Begleitforschung und Monitoring – Stand und Konzepte

Laut MELLON & RISSLER (1995) wurde bei der Mehrzahl der bis Mitte 1994 dokumentierten Freisetzungsversuche in den USA keinerlei ökologische Begleitforschung durchgeführt. In den meisten Fällen wurden bestenfalls oberflächliche Beobachtungen zur Verwilderungsneigung der transgenen Pflanzen erwähnt. In 15 % der von den Autorinnen begutachteten Berichte finden sich Angaben zur Pollenverbreitung. Untersuchungen auf Hybridbildungen mit wilden Kreuzungspartnern wurden auch bei Pflanzen, bei denen eine Kreuzung mit wilden Verwandten wahrscheinlich ist, nur in einem von 24 Freisetzungsversuchen durchgeführt.

In Europa gibt es seit 1985 EU-finanzierte Sicherheitsforschung bzw. ökologische Begleitforschung zur Risikoabschätzung gentechnisch veränderter Pflanzen im Rahmen der Programme BAP (Biotechnology Action Programme, 1985-1990) und BRIDGE (Biotechnological Research, Innovation, Development and Growth, ab 1990). Zusätzlich werden auch durch Behörden der Mitgliedsstaaten Forschungsprojekte und Studien finanziert. Konzepte für Sicherheitsforschung vor Freisetzungen transgener Pflanzen wurden z. B. von MAYER et. al. (1995) erstellt. DEML & DETTNER (1998) führten eine detaillierte Literaturrecherche zur Abschätzung möglicher Umwelteffekte von Bt-Pflanzen durch und stellten umfangreiche Listen der an Mais, Kartoffeln, Tomaten und Tabak fressenden wirbellosen Nichtzielarthropoden zusammen. Bezüglich der Auswahl von Testarten für Toxizitätsprüfungen empfehlen die Autoren u. a., sich nicht mit Daten über nordamerikanische Arten zufrieden zu geben, sondern auch die Empfindlichkeit der wichtigsten europäischen Räuber, Parasitoide und Verwerter von Pflanzenmaterial gegen die verschiedenen Bt-Toxine zu untersuchen. Ökologische Begleitforschung in Zusammenhang mit Freisetzungen transgener Pflanzen gibt es vor allem in Großbritannien und in der Bundesrepublik Deutschland. Der Webpage von ACRE (Advisory Committee on Releases to the Environment, Großbritannien, Internetadresse siehe Anhang A.1) ist zu entnehmen, dass in Großbritannien bei großflächigen Freisetzungen von transgenem Raps und Kartoffeln die Wirkung auf Nichtzielorganismen untersucht wird. Auch Firmen sind in zunehmendem Ausmaß dazu bereit, solche Forschungen für ihre eigenen Produkte durchzuführen oder zu finanzieren.

Zum Thema Langzeitmonitoring von Umwelteffekten transgener Organismen fand schon 1995 im Umweltbundesamt Berlin ein Fachgespräch statt (STEINHÄUSER 1998). 1998 legte der deutsche Sachverständigenrat für Umweltfragen ein Gutachten vor, in dem er die Notwendigkeit einer verstärkten ökologischen Begleitforschung bei Freisetzungsversuchen von "unsicheren" gentechnisch veränderten Pflanzen und die schnelle Etablierung einer ökologischen Dauerbeobachtung betont, vor allem im Hinblick auf einen zukünftigen Einsatz von Fremdgene, die Kulturpflanzen das Überleben unter extremen Umweltbedingungen ermöglichen (SUKOPP 1998). Auch die deutsche Umweltministerkonferenz schloss sich dieser Empfehlung an (STEINHÄUSER 1998). In diesem Zusammenhang bieten insbesondere die EU-geförderten Ackerrandstreifenprogramme eine Möglichkeit zur Nutzung für ein Frühwarnsystem im Hinblick auf ökologische Veränderungen durch den Anbau transgener Pflanzen. Die geförderten Ackerrandstreifen werden regelmäßig einer vegetationskundlichen und zum Teil auch tierkundlichen Erfassung unterzogen (WICKE 1998). Ein besonderes Augenmerk wird dabei auf gefährdete Arten gelegt. Neben einer Beobachtung der Artenvielfalt in Agrarökosystemen werden auch molekularbiologische Untersuchungen an möglichen wildwachsenden Kreuzungspartnern transgener Kulturpflanzen für wichtig gehalten (RUFENER AL MAZYAD 1998) bzw. im Rahmen von ökologischer Begleitforschung zu Freisetzungsversuchen von herbizidresistentem Raps bereits durchgeführt (FELDMANN 1998, KRUG 1998). Dabei konnte bisher keine Hybridisierung mit Wildpflanzen nachgewiesen werden. Monitoringkonzepte für Mais, Kartoffel, Raps, Zuckerrübe, Zichorie, Tabak und Pappel mit verschiedenen Arten der gentechnischen Veränderung wurden von NEEMANN & SCHERWASS (1998) im Auftrag des Umweltbundesamts Berlin erstellt. Für ein Resistenzmonitoring des Maiszünslers liegt ein Entwurf einer europäischen Expertenkommission vor, der eine alle vier Generationen durchzuführende Untersuchung der Empfindlichkeit der einzelnen Populationen vorsieht (POHL-ORF & SCHUPHAN 1998). Pro Population (für Frankreich sind das z. B. drei verschiedene) sollen an 4-5 Sammelplätzen Überwinterungslarven gesammelt werden. Auch eine Weiterzucht gesammelter Maiszünslers unter Selektion mit Bt-Toxin ist vorgesehen, die einen Hinweis auf die zukünftige Resistenzentwicklung geben soll.

## 2.8 Zusammenfassung und Diskussion der Literaturrecherche

Untersuchungen haben gezeigt, dass DNA transgener Pflanzen in Böden monatelang erhalten bleiben kann und für einen horizontalen Gentransfer auf Bodenbakterien zur Verfügung steht. Solche Transformationsereignisse sind vermutlich sehr selten, aber nicht auszuschließen. Wesentlich für die Risikobewertung ist in diesem Fall, ob das betreffende Gen auch aus anderen Quellen in den Boden gelangt und ob es für im Boden vorkommende Mikroorganismen im selben oder in einem anderen Lebensraum einen Selektionsvorteil bringen könnte. Das könnte zum Beispiel für Antibiotikaresistenzgene der Fall sein, wenn sie über transgene Pflanzen in Darmbakterien von Menschen oder Nutztieren gelangen.

Ein vertikaler Gentransfer von transgenen Kulturpflanzen auf wildwachsende Kreuzungspartner könnte zur Verbreitung von Fremdgene in natürlichen Populationen und zum Entstehen herbizidresistenter Unkräuter führen. In einigen europäischen Ländern wurden bereits mehr oder weniger vollständige Listen möglicher Kreuzungspartner verschiedener Kulturpflanzen erstellt. Während wichtige Kulturpflanzen wie Mais und Kartoffel in Europa keine besondere Verwilderungstendenz zeigen und keine wildwachsenden Kreuzungspartner haben, sind von anderen Kulturpflanzen Hybride mit Wildpflanzen in der Natur bekannt oder durch künstliche Befruchtung herstellbar. Manche Kulturpflanzen (z. B. Luzerne und Gräser) haben eine Vielzahl potentieller wildwachsender Kreuzungspartner, wodurch Aussagen über die zu erwartende Verbreitung von Fremdgene in diesen Populationen und über ökologische Folgen sehr erschwert werden. Auch für Raps wurden bei genauerer Untersuchung mehr kreuzbare wilde Verwandte identifiziert, als noch vor einiger Zeit angenommen worden war.

Unklar ist die Bedeutung, die Resistenzen gegen Viren, Bakterien und Schädlinge als Selektionsvorteil in natürlichen Ökosystemen haben. Da sich aber auch Resistenzgene, die keinen Selektionsvorteil bringen, eventuell in natürlichen Populationen halten können, ist bei mit gentechnischen Methoden eingebrachten Genen für Toxine, die in der betreffenden Pflanzenart vorher nicht vorhanden waren, besondere Vorsicht geboten, da diese die Artenvielfalt beeinträchtigen könnten.

Der Anbau virusresistenter Pflanzen könnte durch Einsparung von Pestiziden, die gegen Überträger von Pflanzenviren eingesetzt werden, positive ökologische Auswirkungen haben. Er erhöht aber möglicherweise auch die Gefahr, dass durch Rekombinationen neue Viren entstehen.

Die Diskussion über die Wirkung transgener insektenresistenter Pflanzen auf Nichtzielorganismen wird auf der ACRE-Webpage (Advisory Committee on Releases to the Environment, Großbritannien) mit der Frage auf den Punkt gebracht, ob die Abnahme an Schadinsekten von einer Abnahme anderer Insektenpopulationen begleitet sein wird und den Vögeln der britischen Inseln dadurch die Nahrungsgrundlage verloren gehen wird. Es sollte möglichst genau untersucht werden, ob durch den Einsatz von Bt-Pflanzen solche negativen Auswirkungen möglich sind, oder ob durch eine Einsparung von Insektiziden der gegenteilige Effekt zu erwarten ist.

Auch für herbizidresistente Pflanzen stellt sich indirekt die Frage nach der Wirkung auf Insektenpopulationen, da diese auf ein reichhaltiges Angebot an Ackerbegleitflora angewiesen sind. Es sollte so weit wie möglich abgeschätzt werden, wie sich ein vermehrter Einsatz von Totalherbiziden – anstelle von Herbiziden mit engerem Wirkungsspektrum, von Tankmischungen verschiedener Herbizide oder von mechanischer Unkrautbekämpfung – auf die Flora im Acker und am Ackerrand auswirken wird. Die Auswirkungen werden von der Einsatzhäufigkeit und vom Einsatzzeitpunkt abhängen. Damit spielen auch Kostenfaktoren, öffentliche Förderungen für bestimmte Anbauweisen und das Ausmaß der Schulung der Landwirte im Hinblick auf einen sparsamen und in agronomisch vertretbarem Ausmaß unkrautschonenden Einsatz der Komplementärherbizide eine Rolle. Eine Zunahme der Artenvielfalt und der Individuenzahl der Ackerbegleitflora, die seit Beginn des Herbizideinsatzes stark abgenommen hat, wäre erstrebenswert. Es wird geschätzt, dass acht Prozent der gefährdeten Ackerunkräuter wegen des Herbizideinsatzes bedroht sind (EGGERS 1993).

### 3 SCHRIFTLICHE BEFRAGUNG DER VERSCHIEDENEN INTERESSENSGRUPPEN

Im Anschluss an die Literaturrecherche und die Orientierungsgespräche mit Vertretern aus Landwirtschaft, Industrie, Wissenschaft, Umweltorganisationen und Behörden wurde ein Fragebogen entworfen (siehe Anhang A.2) mit dem Ziel, einen Eindruck darüber zu bekommen, welchen Umfang an Untersuchungen und welche Maßnahmen im Hinblick auf Umwelteffekte transgener Pflanzen die verschiedenen Interessensgruppen für notwendig halten. Diese Fragebogenaktion diente als Vorbereitung des Fach- und Diskussionsworkshops (siehe Kapitel 4 und 5). Die Befragten wurden auch um Definitionen der Begriffe „Sicherheitsforschung“, „ökologische Begleitforschung“, „Monitoring“ und „Technikfolgenabschätzung“ gebeten. Außerdem wurde ihre Meinung zu der noch weitgehend offenen Frage, wer Untersuchungen bei Freisetzungen und nach dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen durchführen und finanzieren soll, erhoben. Der Fragebogen wurde im Juli 1998 an 112 Adressaten verschickt.

#### 3.1 Rücklaufquote

Die Rücklaufquote an ausgefüllten Fragebögen betrug 33 % (Anzahl 37). Weitere sechs Prozent (Anzahl sieben) der Adressaten – alle aus der Gruppe der Molekularbiologen – begründeten in Antwortschreiben, warum sie die gestellten Fragen nicht beantworteten. Die genannten Gründe waren prinzipielle Ablehnung einer „Meinungsumfrage“ zu ihrer Meinung nach rein wissenschaftlich zu beantwortenden Fragen (fünf Nennungen) und nach eigener Aussage mangelnde fachliche Kompetenz für viele der gestellten Fragen (vier Nennungen). Ein weiterer Adressat füllte den Fragebogen nicht aus, übermittelte aber eigene Publikationen zum Thema.

Die Adressaten des Fragebogens wurden für die Auswertung folgenden Gruppen zugeordnet:

- *Industrie*: Entwickler transgener Pflanzen, Saatzuchtbetriebe
- *Konventionelle Landwirtschaft: Behörden, Landwirtschaftskammern der Länder, Vereine, Universitätsangehörige*
- *Biologie/biologische Landwirtschaft*: Behörden der Länder, Universitätsangehörige, Vereine
- *Umwelt*: Behörden (Bundesebene), Vereine, öffentlich finanzierte Institutionen
- *Molekularbiologie*: Angehörige von Universitäten und der Österreichischen Akademie der Wissenschaften.

Tabelle 4 zeigt eine Aufschlüsselung der Rücklaufquote nach Gruppenzuordnung der Adressaten.

Tab. 4: Rücklaufquote der schriftlichen Befragung.

Gruppe	Anzahl der Adressaten	Anzahl der Antworten	Rücklaufquote [%]
Industrie	7	2	29
konv. Landwirtschaft	28	13	46
Biologie/biolog. Landwirtschaft	38	14	37
Umwelt	17	8	47
Molekularbiologie	19	0	0
andere	3	0	0
<b>Summe</b>	<b>112</b>	<b>37</b>	<b>33</b>

## 3.2 Ergebnis

Um die Anschaulichkeit zu erhöhen, werden im Folgenden die erhaltenen Antworten so weit wie möglich graphisch wiedergegeben. Einige Fragen wurden zu diesem Zweck geringfügig umformuliert. Die Frage 4 d) wurde bei der Auswertung der Fragebögen nicht berücksichtigt, da aus einigen Antworten ersichtlich war, dass sie unterschiedlich interpretiert wurde. Weiters ist zu beachten, dass bei manchen Fragen ja/nein-Zuordnungen getroffen werden mussten, während bei anderen Fragen Mehrfachzuordnungen möglich waren (Fragen 9, 16, 17). Die Ergebnisse sind in Prozent der beantworteten Fragebögen dargestellt und nach Interessensgruppen aufgeschlüsselt. Die graphische Darstellungsform sollte jedoch nicht dazu verleiten, diese Befragung für eine repräsentative Meinungsumfrage zu halten. Vor allem die Tatsache, dass nur zwei Vertreter der Industrie den Fragebogen beantwortet haben, sollte bei der Betrachtung der Graphiken im Auge behalten werden.

### 3.2.1 Begriffsdefinitionen

**Sicherheitsforschung:** Aus Industriesicht handelt es sich bei Sicherheitsforschung um das Gewinnen von Basisdaten für die Zulassung (z. B. Effekte auf Nützlinge). Allgemein wird dieser Begriff als Überbegriff für Forschung im Rahmen einer Risikoabschätzung bzw. zum Zweck einer Risikominimierung für Mensch und Umwelt gesehen und beinhaltet auch Forschung an nicht-transgenen Organismen und nach Ansicht mancher Befragter auch Forschung über Risiken durch agrarökologische Auswirkungen.

**Ökologische Begleitforschung:** Die Vorstellungen über die Bedeutung dieses Begriffs sind ziemlich unterschiedlich. Es werden darunter Untersuchungen von Umweltauswirkungen bzw. ökologische Risikoabschätzung im Labor, bei Freisetzungsversuchen und/oder nach dem Inverkehrbringen transgener Organismen verstanden. Der Begriff ist also offenbar für viele Befragte mit dem Begriff ökologische Sicherheitsforschung gleichzusetzen.

**Umweltmonitoring:** Unter Umweltmonitoring stellt sich die Mehrzahl der Antwortenden eine routinemäßige, standardisierte und langfristige Beobachtung von allgemeinen Umweltparametern oder von bestimmten Indikatororganismen vor. Manche inkludieren auch eine Beobachtung der landwirtschaftlichen Praxis im Hinblick auf eine Vereinbarkeit mit nachhaltigem Wirtschaften.

**Technikfolgenabschätzung:** Der Begriff Technikfolgenabschätzung bedeutet für fast alle Antwortenden eine Abschätzung ökologischer, ökonomischer und sozialer Folgen neuer Technologien und die Beurteilung ihrer Vor- und Nachteile im Vergleich zu alternativen Lösungsmöglichkeiten.

### 3.2.2 Untersuchungen in geschlossenen Systemen und bei Freisetzungsversuchen

Untersuchungen zur Abschätzung von Umweltauswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen werden von mehr als zwei Drittel der Antwortenden für notwendig erachtet (Abb. 1). Höchstens zehn Prozent halten Untersuchungen bei Freisetzungsversuchen und nach dem Inverkehrbringen für interessant, aber nicht für notwendig. Zwischen den einzelnen Interessensgruppen zeigt sich bei dieser Frage keine wesentlichen Meinungsverschiedenheit.

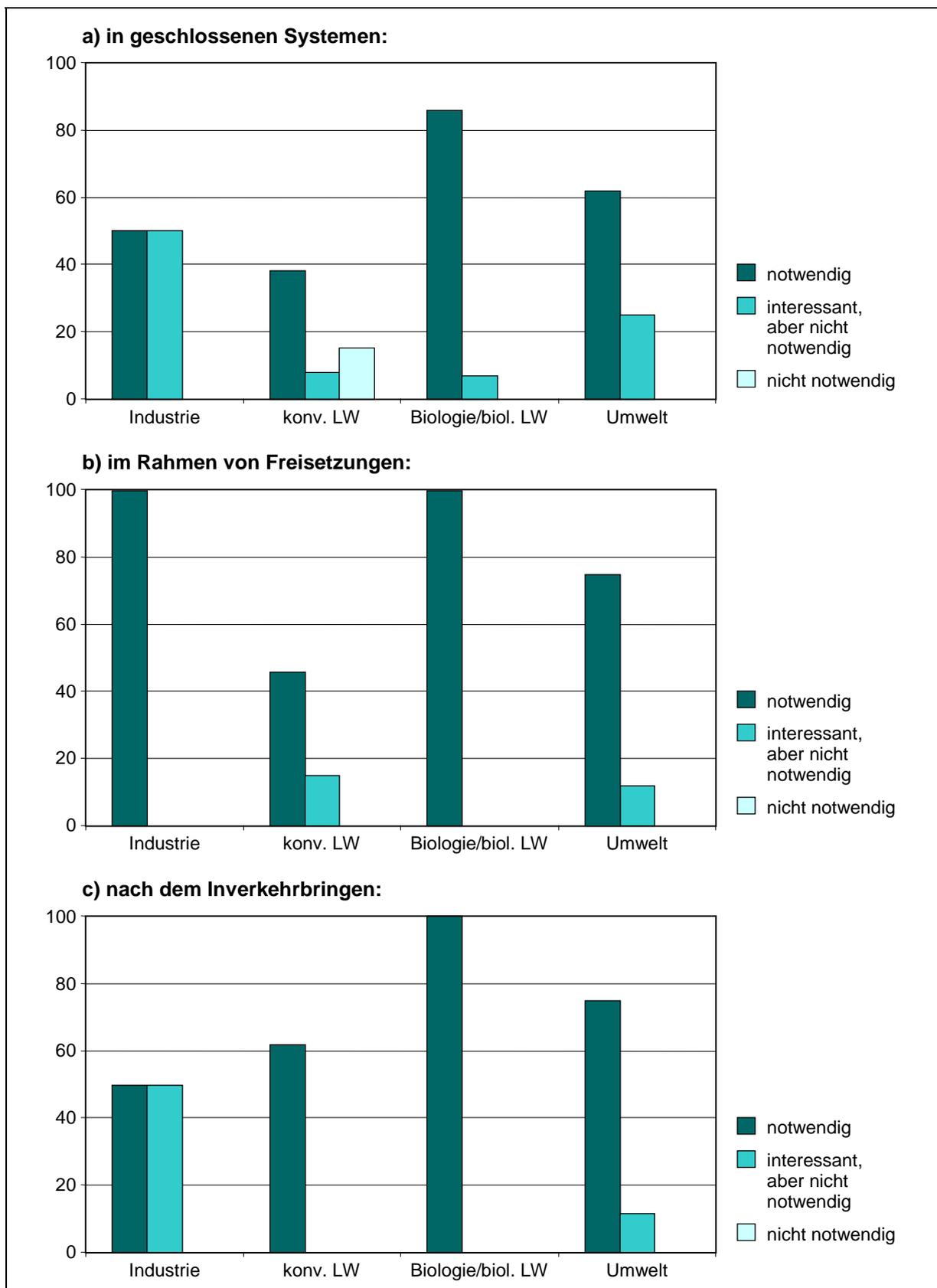


Abb. 1: Antworten auf Frage 1 des Fragebogens: "Halten Sie begleitende Untersuchungen zur Abschätzung von Umweltauswirkungen von gentechnisch veränderten Pflanzen für notwendig?" (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

Bemerkenswert ist, dass alle Vertreter der Gruppe „konventionelle Landwirtschaft“ Untersuchungen nach dem Inverkehrbringen für notwendig halten.

Bei der Beantwortung der Frage, welche Untersuchungen in geschlossenen Systemen oder bei Freisetzungsvorversuchen bei verschiedenen Arten der gentechnischen Veränderung notwendig sind, zeigte sich, dass fast alle Vertreter der Gruppe „Biologie/biologische Landwirtschaft“ und auch die meisten Vertreter der Gruppe „Umwelt“ bei allen Arten der gentechnischen Veränderung sehr umfangreiche Untersuchungen für wesentlich halten, um ausreichende Information über mögliche negative Umweltauswirkungen transgener Pflanzen zu gewinnen (Daten nicht präsentiert). Vertreter der Gruppen „konventionelle Landwirtschaft“ und „Industrie“ scheinen hingegen eher geneigt, zumindest in bezug auf die untersuchte Umweltauswirkung Schwerpunkte zu setzen. Die Möglichkeit der Verwilderung bzw. des Auskreuzens transgener Kulturpflanzen wird von allen Interessensgruppen sehr ernst genommen (Abb. 2). Auch eine Abschätzung der toxischen Wirkung transgener Pflanzen für Nichtzielorganismen (pflanzenfressende Insekten und Wirbeltiere) wird bei schädlingsresistenten transgenen Pflanzen und bei veränderten Inhaltsstoffen von mehr als 80 % der Antwortenden für notwendig gehalten. Ein Vertreter der Gruppe „Industrie“ merkte an, dass Wirbeltiertoxizität bei allen Arten der gentechnischen Veränderung, toxische Wirkung auf Insekten jedoch nur bei transgenen insektenresistenten Pflanzen (IR-Pflanzen) und fallweise bei transgenen virusresistenten Pflanzen (VR-Pflanzen) untersucht werden sollte.

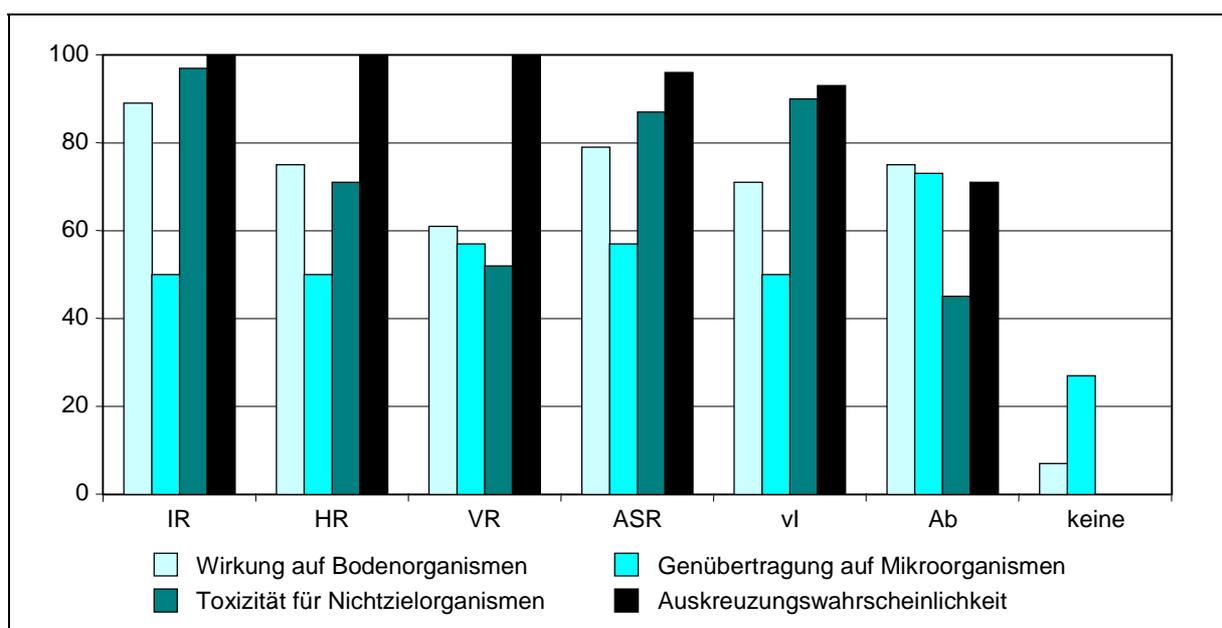


Abb. 2: Antworten auf die Fragen 3a, b, c und e des Fragebogens:  
 „Bei welchen Arten der gentechnischen Veränderung halten Sie die folgenden Untersuchungen in geschlossenen Systemen oder bei Freisetzungsvorversuchen für notwendig?“  
 (Angaben in Prozent der Gesamtzahl der Antworten auf die betreffende Frage).  
 IR = Insektenresistenz, HR = Herbizidresistenz,  
 VR = Virusresistenz, ASR = andere Schädlingsresistenzen,  
 vl = veränderte Inhaltsstoffe, Ab = Antibiotikaresistenzen,  
 keine = Untersuchung bei keiner dieser gentechnischen Veränderungen notwendig.

Die Untersuchung der Wirkung transgener Pflanzen auf Bodenorganismen ist den Vertretern der Gruppen „Biologie (Anzahl 11)/biologische Landwirtschaft (Anzahl 2)“ und „Umwelt“ deutlich wichtiger, als den Vertretern der Gruppe „konventionelle Landwirtschaft“. Untersuchungen der Genübertragung auf Bodenbakterien werden von einem deutlich geringeren Anteil der Antwortenden für notwendig gehalten und mehr als ein Viertel hält sie für überflüssig, darunter vor allem Vertreter aus den Gruppen „konventionelle Landwirtschaft“ und „Industrie“.

### 3.2.3 Pflanzen mit transgener Insektenresistenz

Resistenzmanagement bei IR-Pflanzen wird erwartungsgemäß allgemein für wichtig gehalten. Die von der Industrie vorgeschlagene Strategie ist der Einbau mehrerer Wirkmechanismen pro Pflanze und das Beibehalten von Refugien aus nicht-transgenen Pflanzen. Von anderen Befragten werden als Gegenstrategien von der Seite der Pflanzenzucht maximale Expression des Resistenzgens und Beschränkung der Expression auf bestimmte Entwicklungsstadien bestimmter Pflanzenteile empfohlen. In bezug auf die Anbaupraxis wird eine Beschränkung auf Areale mit Befallsdruck, ein Anteil von höchstens 20 % eines bestimmten Resistenzgens in der Fruchtfolge und eine Flächenbeschränkung pro Region und pro Betrieb gefordert, wobei auf ein Vorhandensein desselben Resistenzgens in verschiedenen Kulturpflanzen zu achten ist. Von Landwirtschaftsseite wird darauf hingewiesen, dass auch eine zusätzliche Insektizidanwendung zur Resistenzbekämpfung eingesetzt werden kann. Ein Feststellen des schon vor dem großflächigen Anbau von IR-Pflanzen vorhandenen Resistenzniveaus der Schadinsekten, eine Analyse des Resistenzmechanismus und ein Resistenzmonitoring im Feld werden allgemein für wichtig gehalten. Die Vorlage und Überprüfung eines Resistenzmanagementplans vor der Genehmigung zum Inverkehrbringen wird gefordert.

Zur Untersuchung der Wirkung von IR-Pflanzen auf Bodenorganismen schlägt die Industrie Toxizitätsstudien mit ausgewählten Bodenorganismen vor, sowie Fütterungsversuche bei auffälligen Toxizitätsbefunden. Von anderen Befragten werden Untersuchungen des Abbauverhaltens der resistenzvermittelnden Substanzen im Boden (Unterscheidung zwischen bloßer Adsorption an Bodenbestandteile und Abbau mit Hilfe von Toxizitätstests mit Bodenorganismen), Untersuchung der Wirkung auf die Bodenfruchtbarkeit, Langzeitvergleiche mit Böden, auf denen keine transgenen Pflanzen angebaut werden, und Beobachtung der Wirkung von IR-Pflanzen auf die Nahrungskette gefordert.

### 3.2.4 Pflanzen mit transgener Herbizidresistenz

Zum Resistenzmanagement bei transgenen herbizidresistenten (HR-Pflanzen) kamen von der Landwirtschafts- und Umweltseite die Vorschläge, Resistenzprobleme durch Herbizidwechsel, durch die richtige Wahl der Fruchtfolge und durch Untersaaten zu verhindern. Ein Vertreter der Gruppe „konventionelle Landwirtschaft“ schlägt einen verpflichtenden Anwendungsplan für den Herbizideinsatz vor.

Zur Verhinderung einer Verringerung der Artenzahl der Ackerrandflora durch vermehrten Herbizideinsatz wird von seiten der konventionellen Landwirtschaft angemerkt, dass selektive Herbizide die Artenzahl mehr verringern als Totalherbizide. Zum Schutz der Ackerrandflora werden eine Verringerung der Herbizidanwendung, spezielle Spritztechniken und vor allem (von insgesamt neun Befragten, davon drei von Landwirtschafts- bzw. Industrieseite) eine Förderung breiterer Ackerrandstreifen vorgeschlagen. Vor allem von den Gruppen „Biologie/biologische Landwirtschaft“ und „Umwelt“ wird eine Beobachtung der Bodenaktivität und der Entwicklung der Abundanz, Artenzahl und Vitalität aller Arten von Bodenorganismen empfohlen.

### 3.2.5 Pflanzen mit transgener Virusresistenz

Die Frage nach Strategien zur Minimierung der Wahrscheinlichkeit der Entstehung neuer Pflanzenviren durch VR-Pflanzen wurde von den meisten Befragten wegen mangelnder fachlicher Kompetenz nicht beantwortet. Von Industrieseite wird eine „case by case“-Vorgangsweise mit Sicherheitsforschung/Monitoring im Labor befürwortet.

Von der Umweltseite werden außerdem folgende Anforderungen an VR-Pflanzen gestellt:

- Verwendung der kleinstmöglichen Resistenz hervorrufenden Sequenz
- Auswahl der Pflanze, die ein Maximum an Resistenz bei der geringsten Transkription des Resistenzgens aufweist
- Elimination von Sequenzen, die am Start der Virusreplikation oder am Virustransport beteiligt sind
- keine Mehrfachresistenzen gegen Viren.

Betont wird, dass diese Bedingungen für die Genehmigung zum Inverkehrbringen von VR-Pflanzen auferlegt werden sollten und dass der Anbau von VR-Pflanzen auf Gebiete mit Befallsdruck beschränkt werden sollte.

In bezug auf andere Umweltauswirkungen von VR-Pflanzen werden von Industrieseite sowohl die Untersuchung der Wirkung auf Bodenorganismen, als auch Toxizitätsuntersuchungen an Wirbeltieren und fallweise an pflanzenfressenden Insekten für notwendig gehalten.

### 3.2.6 Transgene Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen

Von Industrieseite wird im Hinblick auf transgene Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen darauf hingewiesen, dass bei konventionell gezüchteten Kulturpflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen die selbe Situation besteht und eine „case by case“-Beurteilung angebracht ist.

Folgende mögliche Umweltauswirkungen einer Veränderung von Pflanzeninhaltsstoffen werden in den Antworten zu den Fragebögen genannt:

- veränderte Abbaubarkeit des Pflanzenmaterials, schlechte Abbaubarkeit des Inhaltsstoffs
- Veränderung der Keimfähigkeit oder Überdauerungsfähigkeit der Samen
- Veränderung des Blührythmus, der Kältetoleranz, der Empfindlichkeit gegen Schaderreger
- Auswirkungen auf Bestäuber, Herbivore und deren Gegenspieler (Fraßfeinde und Parasiten) und damit auf die Populationsökologie.

### 3.2.7 Auskreuzen transgener Pflanzen

Eine mögliche Kreuzung transgener Kulturpflanzen mit verwandten Wildpflanzen und die dadurch entstehende Möglichkeit der Verbreitung eines Gens, das einen Selektionsvorteil bietet, in verwandten Wildpflanzen oder Ackerunkräutern wird von den Vertretern aller Interessensgruppen sehr ernst genommen. Zu ihrer Verringerung wird die Verwendung infertiler Linien oder der Einbau der Transgene in die nur in mütterlicher Linie vererbten Chloroplasten-DNA angeführt und darauf hingewiesen, dass es möglich sein sollte, entsprechende Anforderungen für die Zulassung zum Inverkehrbringen aufzuerlegen.

### 3.2.8 Auswirkungen auf den Biolandbau

Ein Verlust der Wirksamkeit von *Bacillus thuringiensis*-Präparaten wird von fast allen Antwortenden als ein Schaden für die biologische Landwirtschaft anerkannt, da diese relativ umweltfreundlichen Insektizide im Kartoffel- und Gemüsebau eingesetzt werden (Abb. 3).

Kontamination von Produkten aus biologischer Landwirtschaft durch Pollenflug könnte vor allem bei Raps und Roggen ein Problem sein. Ein diesbezügliches Monitoring wird von den Gruppen „Biologie/biologische Landwirtschaft“ und „Umwelt“ mehrheitlich für notwendig erachtet, von Seite der Industrie und der konventionellen Landwirtschaft hingegen nicht für wichtig gehalten.

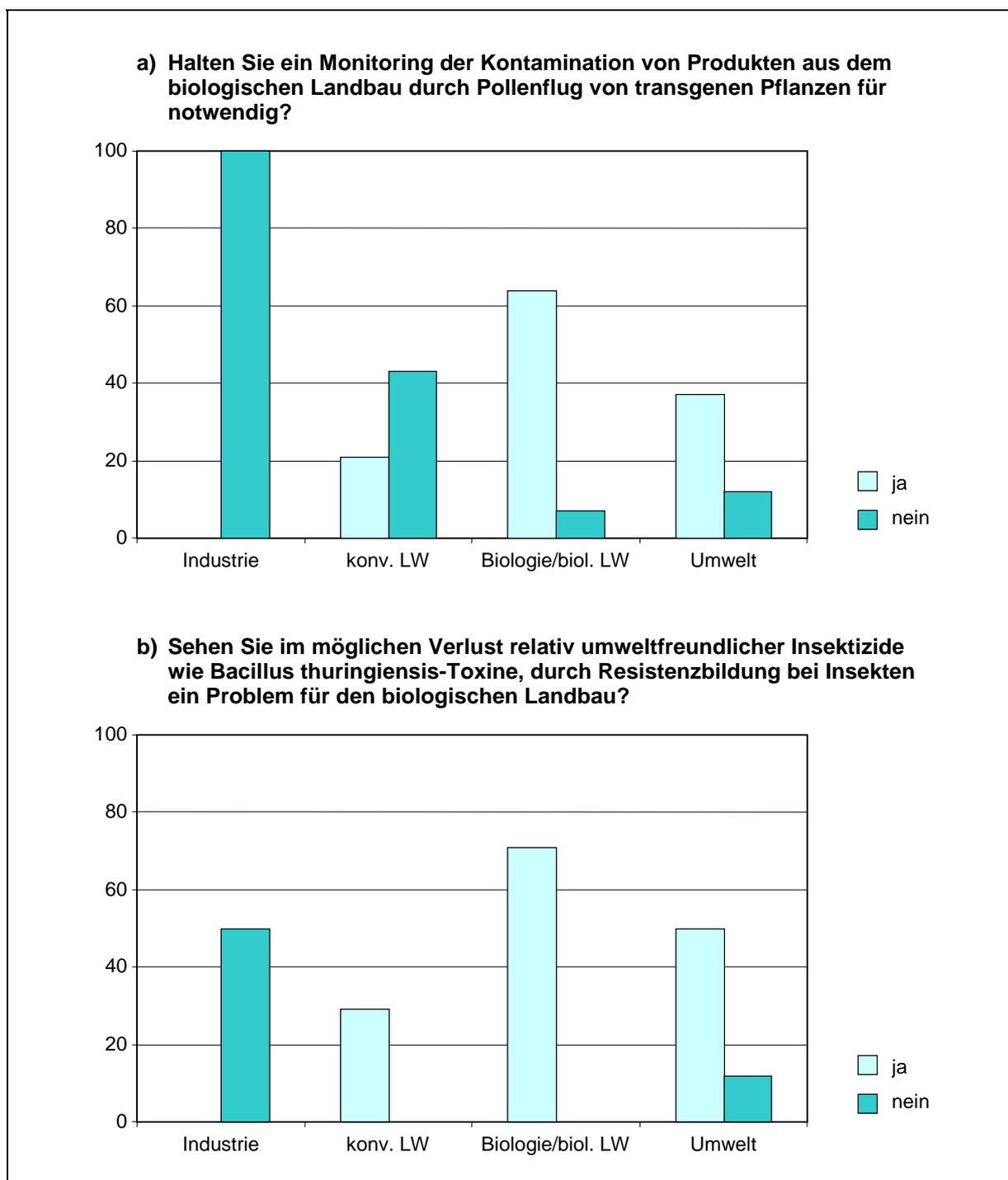


Abb. 3: Antworten auf Fragen 15 a und b des Fragebogens:

„Auswirkungen auf den biologischen Landbau:

a) Halten Sie ein Monitoring der Kontamination von Produkten aus dem biologischen Landbau durch Pollenflug von transgenen Pflanzen für notwendig?

b) Sehen Sie im möglichen Verlust relativ umweltfreundlicher Insektizide wie Bacillus thuringiensis-Toxine, durch Resistenzbildung bei Insekten ein Problem für den biologischen Landbau?“  
(Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

Weitere Nachteile für den Biolandbau werden aufgrund von anfallenden Kontrollkosten, Imageverlust bei Nachbarschaft zu Feldern transgener Pflanzen, Preissenkungen bei Produkten aus konventioneller Landwirtschaft, höheren Saatgutkosten und Sortenverlusten erwartet.

### 3.2.9 Monitoring nach dem Inverkehrbringen

Ein Monitoring nach dem Inverkehrbringen wird von fast allen Antwortenden für notwendig gehalten. Folgende Vorschläge im Hinblick auf den Umfang solcher Untersuchungen – auf den jeweiligen Fall abgestimmt – wurden gemacht:

- Resistenzentwicklung von Schadinsekten
- Populationsveränderungen bei Nützlingen und Nichtzielorganismen
- Abundanz bestimmter Indikatororganismen
- Veränderungen der Ackerrandflora
- Veränderungen der Samenbank
- Pollenflugweiten
- Verbreitung der neu eingebrachten Gene in Wildpopulationen
- landwirtschaftliche Veränderungen (z. B. Erträge, Pestizideinsatz).

Sowohl spezifische (Pflanze/gentechnische Veränderung) als auch allgemeine Monitoringkonzepte werden für notwendig gehalten (Abb. 4).

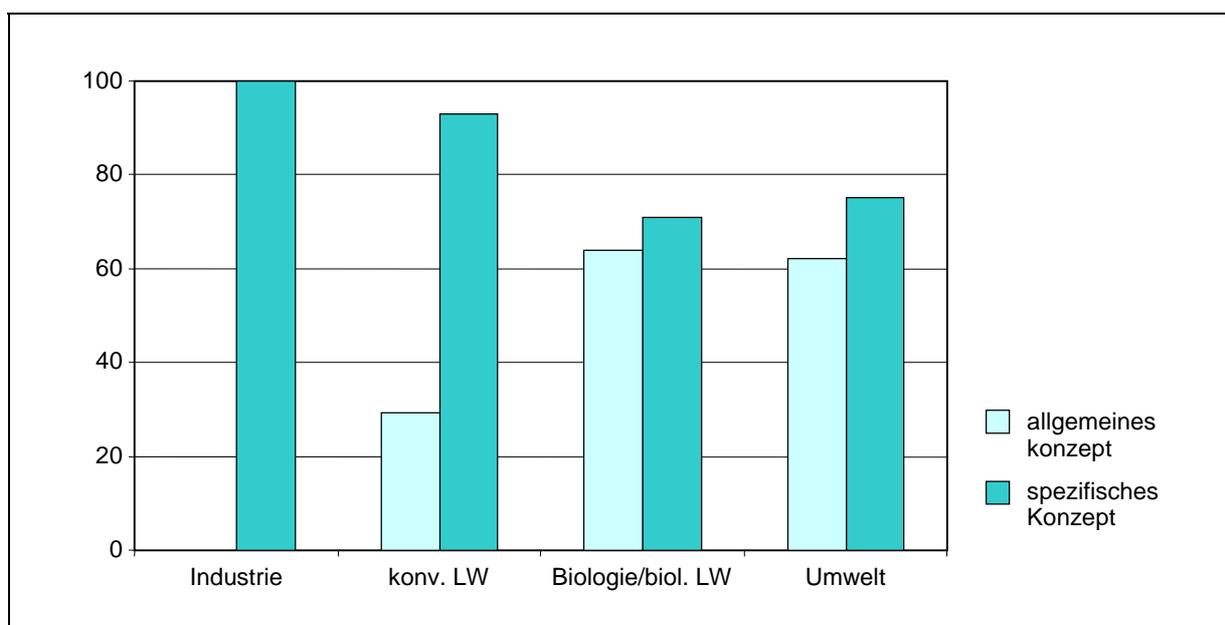


Abb. 4: Antworten auf Frage 9:

„Sollte ein Konzept für begleitende Untersuchungen im Rahmen eines Monitoringprogramms allgemein/spezifisch für jede einzelne Anwendung“ (Pflanze/Eigenschaft) entworfen werden? (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

### 3.2.10 Standardisierung von Untersuchungsmethoden

Die Standardisierung von Untersuchungsmethoden wird sowohl von Industrieseite (Erzeugergentechnisch veränderter Pflanzen) als auch von den Gruppen „Biologie/biologische Landwirtschaft“ und „Umwelt“ befürwortet (Abb. 5). Die Frage wurde allerdings nur von wenigen beantwortet. Als dafür Zuständige wurden staatliche Stellen in Zusammenarbeit mit Universitäten genannt. Für eine Standardisierung vorgeschlagen werden Ökotoxizitätstests, Untersuchungen zur Abschätzung des Verwildierungspotentials, Methoden des Bt-Resistenzmonitorings, Vegetationskartierungen und Umweltmonitoring nach dem Inverkehrbringen (Zeitplan, Orte, Methoden).

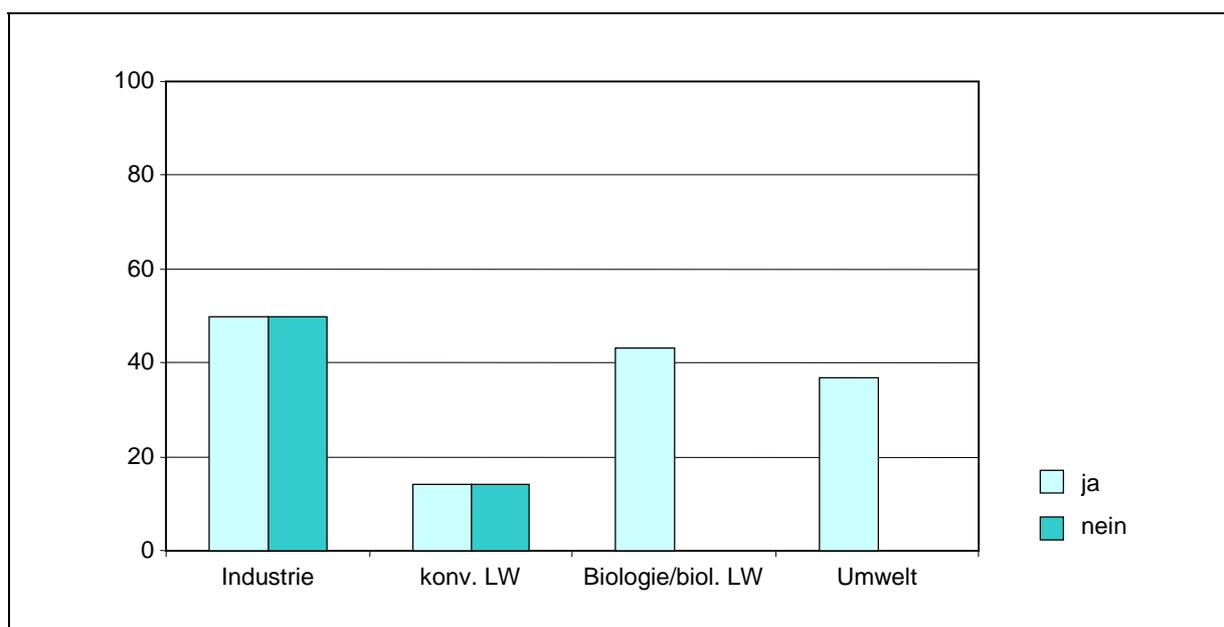


Abb. 5: Antworten auf Frage 10:  
 „Sollten Methoden zur Untersuchung von Umweltauswirkungen transgener Pflanzen standardisiert werden?“ (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

### 3.2.11 Befristete und regional beschränkte Zulassung

Sowohl eine zeitliche Befristung der Zulassung als auch regionale Anbaubeschränkungen wurden von der Mehrzahl der Antwortenden befürwortet, letzteres auch von Industrieseite (Abb. 6 und 7.). Bei Frage 11 (Abb. 6.) war jedoch aus einigen Antworten deutlich erkennbar, dass die Befragten bei einem möglichen ökologischen Risiko eines großflächigen Anbaus bestimmter gentechnisch veränderter Pflanzen eine regionale Anbaubeschränkung für eine *unzureichende* Maßnahme zum Schutz natürlicher Ökosysteme halten. Diese Antworten wurden der Kategorie „unzureichend“ zugeordnet. Die Zuordnung von Antworten zur Kategorie „ja“ darf hingegen aufgrund der Formulierung der Frage nicht so interpretiert werden, dass die Befragten eine Regionalisierung in allen Fällen für eine *ausreichende* Schutzmaßnahme halten. Als Gründe, die regionale Anbaubeschränkungen rechtfertigen würden, werden Beschränkung auf Gebiete mit Befallsdruck, Resistenzmanagement, Schutz von Regionen mit biologischer Landwirtschaft sowie ökologisch wertvoller Gebiete und Vorhandensein natürlicher Kreuzungspartner genannt.

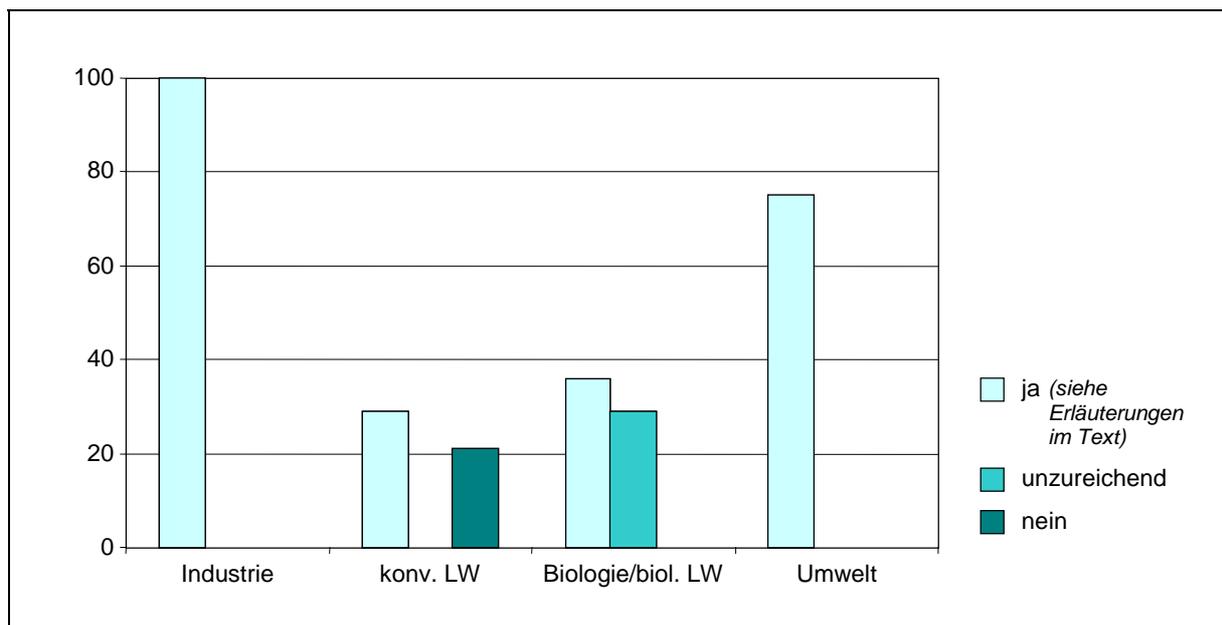


Abb. 6: Antworten auf Frage 11 des Fragebogens:  
 „Halten Sie in manchen Fällen eine regionale Beschränkung bei der Zulassung transgener Pflanzen für den Anbau für eine notwendige Maßnahme zum Schutz der Umwelt?“  
 (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

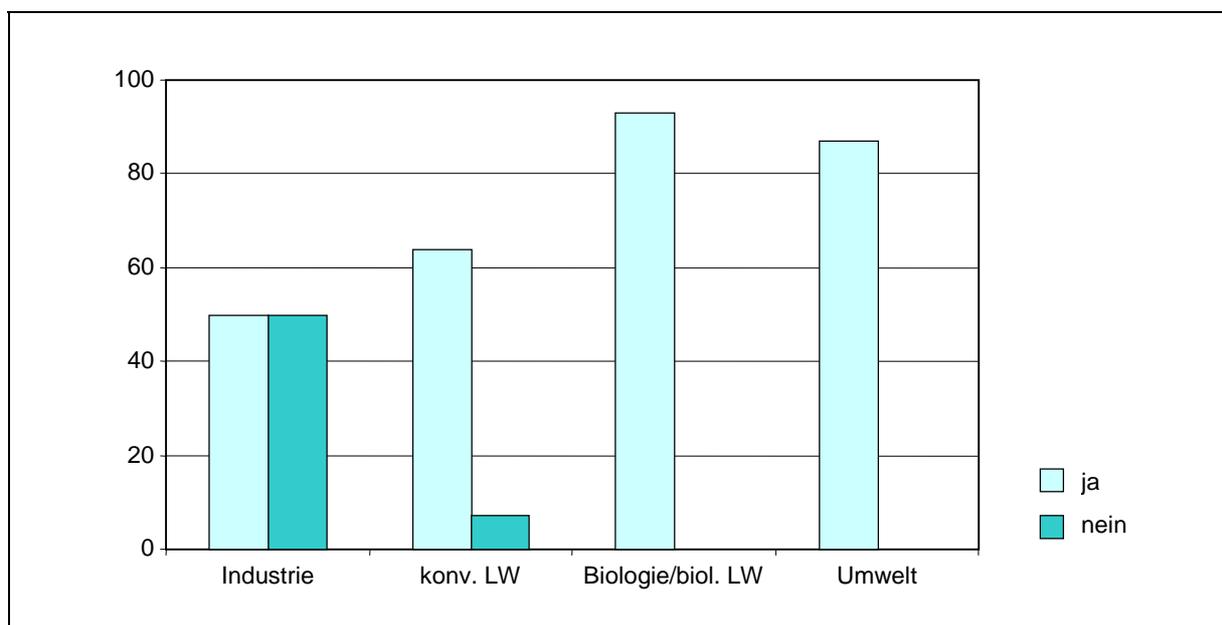


Abb. 7: Antworten auf Frage 12 des Fragebogens:  
 „Halten Sie eine zeitliche Befristung der Zulassung zum Inverkehrbringen für notwendig?“  
 (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen).

Ein Hinauszögern der Zulassung transgener Pflanzen zum Inverkehrbringen, um vor einer Entscheidung Erfahrungen anderer Länder bei deren großflächigem Anbau noch länger beobachten zu können, wird zwar von der Mehrheit der Vertreter der Gruppen „Biologie/biologische Landwirtschaft“ und „Umwelt“ befürwortet, von der Seite der konventionellen Landwirtschaft, soweit die Frage überhaupt beantwortet wurde, jedoch abgelehnt (Abb. 8).

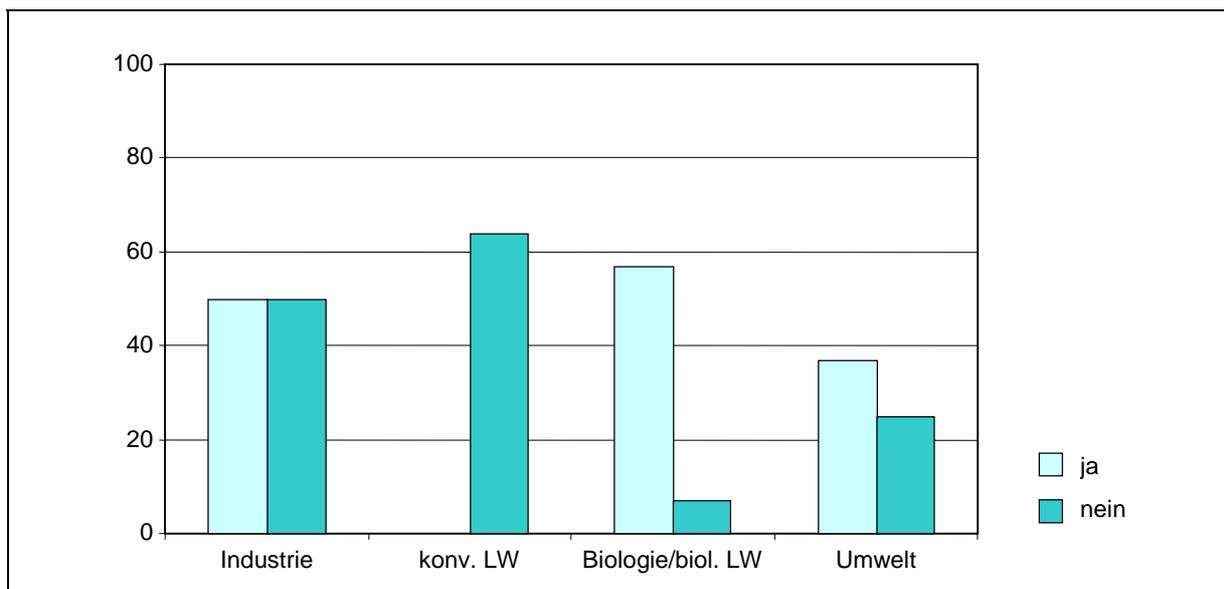


Abb. 8: Antworten auf Frage 13 des Fragebogens:  
 „Sind Sie der Meinung, dass in Nicht-EU Ländern, in denen transgene Pflanzen bereits großflächig angebaut werden, noch länger Erfahrungen gesammelt werden sollen, bevor solche Pflanzen auch in der EU zum Anbau zugelassen werden?“  
 (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

Eine Nutzen/Risiko-Analyse vor dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen würde hingegen von der Mehrheit der Antwortenden für wünschenswert gehalten (Abb. 9). Vergleiche mit konventioneller und biologischer Landwirtschaft und eine Beurteilung im Hinblick auf eine nachhaltige Produktion werden gefordert. Etwa die Hälfte der Vertreter der Gruppe „konventionelle Landwirtschaft“ will die Entscheidung jedoch dem Markt überlassen und spricht sich gegen eine Nutzen/Risiko-Analyse aus. Sowohl die Freisetzungsrichtlinie 90/220/EWG, als auch der dazu vorliegende Änderungsvorschlag, sehen nur eine Risikoanalyse und keine Abwägung des Nutzens transgener Pflanzen vor.

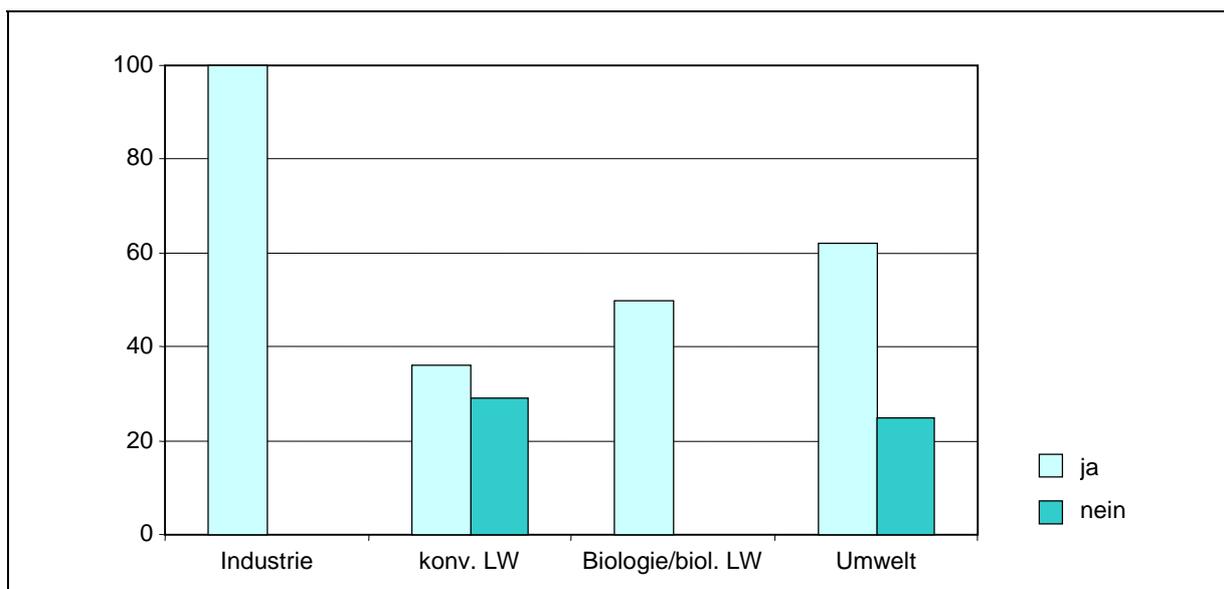


Abb. 9: Antworten auf Frage 14 des Fragebogens:  
 „Sollte vor dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen eine Nutzen/Risiko-Analyse durchgeführt werden?“ (Angaben in Prozent d. beantworteten Fragebögen aus d. jeweiligen Interessensgruppe).

### 3.2.12 Integrationsmöglichkeiten in bestehende Monitoringprogramme

Folgende Arten von Programmen, in die Monitoringprogramme nach dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen integriert werden könnten, wurden genannt:

- Arten- und Biotopmonitoring
- Ackerrandstreifenmonitoring
- ökologische Flächenstichproben
- Dauerbeobachtungsprogramme
- Ökosystemforschung
- Sortenversuche der Bundesanstalten.

Konkrete Angaben über in Österreich laufende oder beabsichtigte Programme wurden nicht gemacht.

### 3.2.13 Durchführung und Finanzierung

Die Industrie zeigt sich, was die eigenen Produkte betrifft, prinzipiell bereit zur Durchführung und Finanzierung von Sicherheitsforschung und Monitoring von direkten Umweltauswirkungen auf allen Ebenen vom Labor bis nach dem Inverkehrbringen, sofern dann noch ein „identifizierbares Risiko“ besteht. Auch die auf diese Frage erhaltenen Antworten zeigen, dass ein hoher Anteil an Industriefinanzierung, aber auch ein Anteil der öffentlichen Hand gewünscht wird (Abb. 10 und 11.). Was die Durchführung von Sicherheitsforschung betrifft, herrscht aber bei allen Interessensgruppen (mit Ausnahme der Industrie) die Meinung vor, dass sie vor allem durch unabhängige Institutionen erfolgen sollte. Besonders Monitoringprogramme nach dem Inverkehrbringen will man nicht nur der Industrie überlassen.

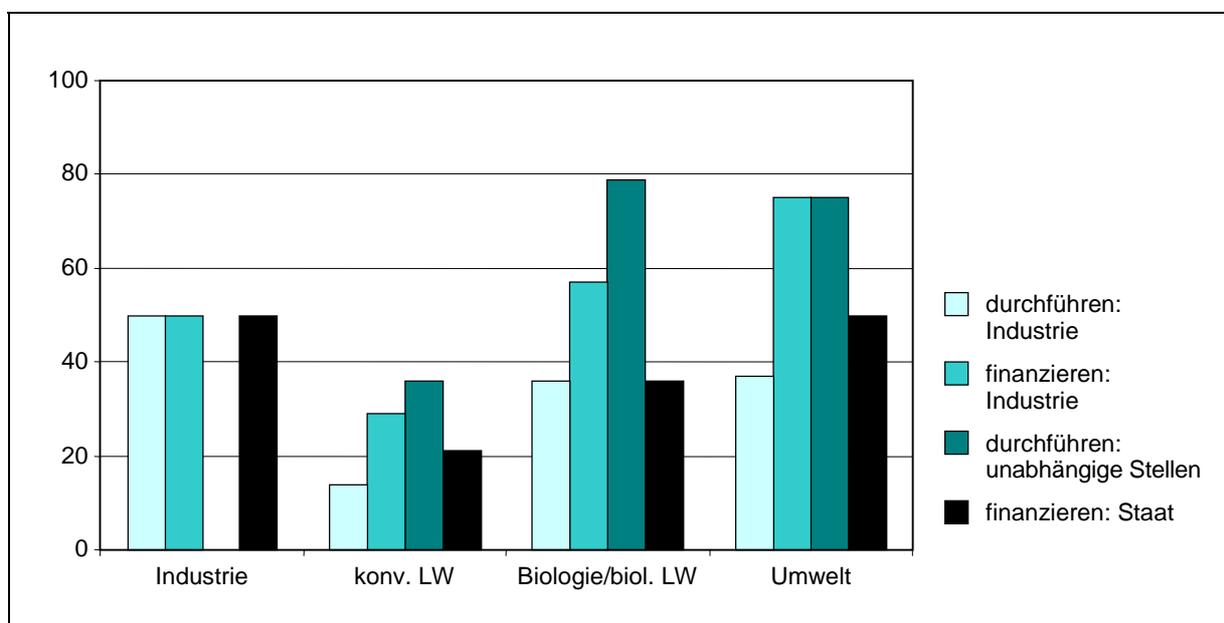


Abb. 10: Antworten auf Frage 16 des Fragebogens:  
 „Wer sollte Sicherheitsforschung in geschlossenen Systemen und im Rahmen von Freisetzungsversuchen durchführen und finanzieren?“  
 (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

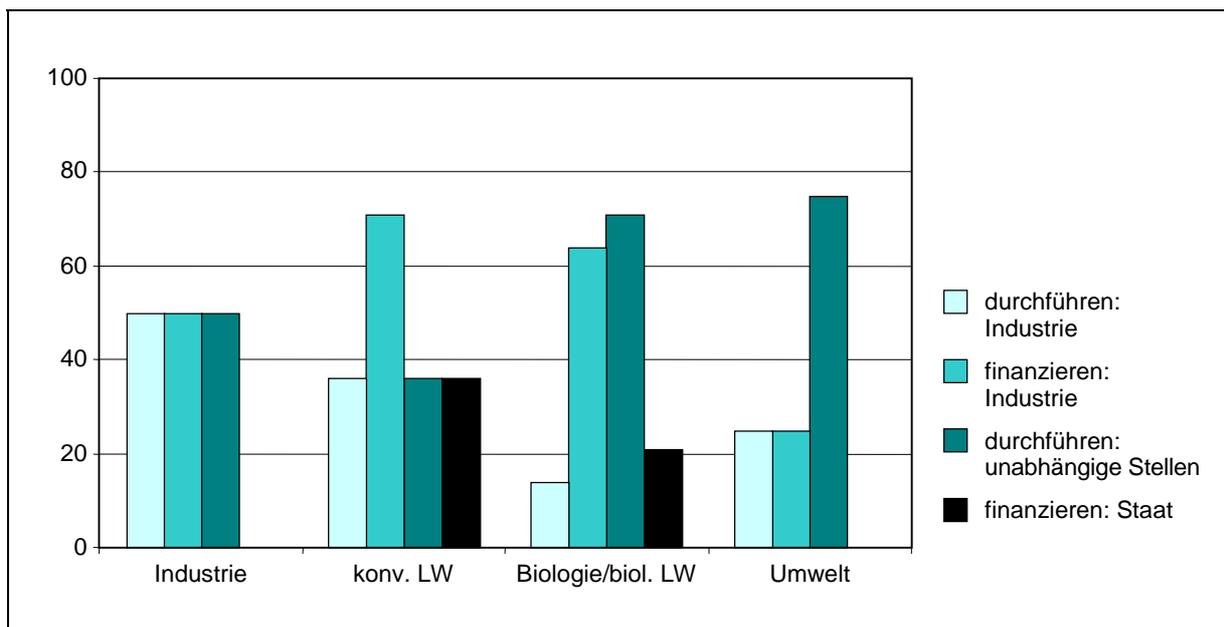


Abb. 11: Antworten auf Frage 17 des Fragebogens:  
 „Wer sollte Untersuchungen im Rahmen eines Monitoringprogramms nach dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen durchführen und finanzieren?“  
 (Angaben in Prozent der beantworteten Fragebögen aus der jeweiligen Interessensgruppe).

## 4 FACHWORKSHOP ZU GLUFOSINAT-RESISTENTEM RAPS

Im Umweltbundesamt Wien wurde ein vom Österreichischen Forschungszentrum Seibersdorf (ÖFZS) organisierter und moderierter Fachworkshop abgehalten (Teilnehmerliste in Anhang A.3), dessen Ziel es war, anhand von Glufosinat-tolerantem Raps Konzepte für Sicherheitsforschung, ökologische Begleitforschung und Monitoring nach dem Inverkehrbringen zu diskutieren. Zu diesem Workshop wurde auch ein ausführlicher Bericht vom ÖFZS erstellt (SESITSCH & SCHAFLEITNER 1998). Als Modellpflanze wurde der gentechnisch veränderte Glufosinat-resistente Raps der Sorte Falcon GS40/90pHoe6/Ac (AgrEvo) ausgewählt, der in den USA und Canada bereits seit einigen Jahren angebaut wird. Diese Pflanze exprimiert das PAT-Protein (Phosphinothricin-N-acetyltransferase) aus dem Bakterium *Streptomyces viridochromogenes* unter der Kontrolle des 35S-Promotors. Dieses Enzym acetyliert Glufosinat (Phosphinothricin) und macht es damit für die Pflanze unschädlich. Ein Antibiotikaresistenzgen liegt nicht vor.

Eine Zulassung dieser Glufosinat-resistenten Rapsorte nach der Freisetzungsrichtlinie 90/220/EWG (RAT DER EG 1990) und ihrer Ergänzungsrichtlinie 94/15/EG (KOMMISSION DER EG 1994) wurde bereits beantragt, das Verfahren ist jedoch noch nicht abgeschlossen. Bei diesem Verfahren werden nur mögliche Gefahren durch die gentechnisch veränderte Pflanze selbst, nicht jedoch Umwelteffekte durch den Einsatz des Komplementärherbizids behandelt. Diese sind im Rahmen der Pflanzenschutzmittelzulassung zu berücksichtigen. Für die Zulassung neuer Pflanzenschutzmittelwirkstoffe muss nach der Richtlinie 91/414/EWG (RAT DER EG 1991) neben der Toxizität für Säugetiere auch die Toxizität für Vögel, Fische, Daphnien, Regenwürmer, Bienen, und vier Arten von Nutzarthropoden überprüft werden und sollte bestimmte Grenzen nicht übersteigen. Andernfalls muss der praktische Beweis erbracht werden, dass keine unannehmbaren Auswirkungen eintreten. Diese Untersuchungen sind sowohl für den Wirkstoff selbst, als auch für seine Metaboliten in Pflanze oder Boden und für die entsprechende Pflanzenschutzmittelformulierungen durchzuführen. Ausserdem muss das Abbau- und Verteilungsverhalten des Wirkstoffes und seiner Metaboliten in der Umwelt sowie die Auswirkungen auf die Atmungsaktivität der Bodenmikroorganismen untersucht werden. Glufosinat war schon vor dem Inkrafttreten dieser Richtlinie in Verwendung. Es muss jedoch für die spezielle Anwendung an Glufosinat-tolerantem Raps nach dem österreichischen Pflanzenschutzmittelgesetz zugelassen werden, bevor es zu diesem Zweck eingesetzt werden darf. Diese Zulassung kann auch aufgrund von Feldversuchen in anderen Regionen Europas mit ähnlichen landwirtschaftlichen und klimatischen Bedingungen erfolgen. Laut Amtlichem Pflanzenschutzmittelverzeichnis 1997 ist Glufosinat in Österreich unter anderem für die Vorauflaufbehandlung (d. h. vor dem Auskeimen der Kulturpflanze) von Mais, Zuckerrüben und Gemüse zugelassen, sowie gegen Unkräuter im Wein- und Obstbau und auf nichtlandwirtschaftlichen Flächen. Jede Sorte von Glufosinat-resistentem Raps bedarf weiters einer Sortenzulassung. Dabei gelten folgende Zulassungskriterien, die in mehrjährigen Feldversuchen überprüft werden: Unterscheidbarkeit von anderen Sorten, Homogenität der Sorte und Beständigkeit der Merkmale. Die Sortenzulassung erfolgt nach dem österreichischen Saatgutgesetz (1997) oder EU-weit.

Im Mittelpunkt des Workshops stand die Frage, welche Monitoringkonzepte geeignet wären, mögliche Umweltauswirkungen des Anbaus von Glufosinat-resistentem Raps unter Berücksichtigung der Anwendung des Komplementärherbizids zu untersuchen. Nach kurzen Einleitungsreferaten (Pascher, Blümel, Schinner, Gaugitsch) wurden Möglichkeiten zur Untersuchung von

- Auskreuzung mit verwandten Wildpflanzen und
- Auswirkungen des Anbaus des Glufosinat-resistenten Raps auf Nützlinge, Beikrautflora und Bodenmikroorganismen

besprochen. Außerdem wurde andiskutiert, wer ökologische Begleitforschung und Monitoring durchführen und finanzieren sollte.

## 4.1 Auskreuzen

Raps hat in Österreich eine Reihe möglicher Kreuzungspartner (PASCHER, Kurzvortrag). Eine Kreuzung mit Ackersenf (*Sinapis arvensis*), verwildertem Raps (*Brassica napus*), Rübsen (*Brassica rapa*) und *Raphanus raphanistrum* wäre durchaus realistisch, da diese Pflanzen häufig vorkommen und zeitgleich mit Raps blühen. Von Industrieseite wird unter natürlichen Bedingungen nur eine Kreuzung mit *B. rapa* oder der seltenen Art *Brassica juncea* für möglich gehalten. Hybride können nicht mit Sicherheit an morphologischen Merkmalen erkannt werden, für ihren Nachweis müssen daher Resistenztests mit dem Herbizid oder molekularbiologische Untersuchungen durchgeführt werden.

Ein Durchwuchs von herbizidresistentem Raps in Folgekulturen wird von seiten der Industrie nicht für ein Problem gehalten. Begründet wurde diese Meinung damit, dass die nach der Rapsernte durch Druschverlust auf dem Feld verbleibenden Rapssamen zu 90 % auskeimen und durch Unterpflügen beseitigt werden können. In der Folgekultur (zumeist Getreide) aufwachsender Raps wird durch Dikotylenherbizide abgetötet. Da Rapssamen bis zu zwölf Jahre keimfähig bleiben, ist jedoch zu erwarten, dass auch in darauffolgenden Kulturen noch herbizidresistenter Raps auskeimen wird, der durch Bodenbearbeitung wieder an die Oberfläche kommt. Die Vertreter der Industrie sind allerdings der Meinung, dass dadurch keine Probleme in der Unkrautbekämpfung auftreten werden.

Ein Monitoring von Veränderungen von Pflanzengemeinschaften durch Auskreuzen von Glufosinat-tolerantem Raps wurde nur auf Flächen für sinnvoll gehalten, die unter dem Einfluss dieses Herbizids stehen, d. h. Acker- und Ackerrand. Solche Dauerbeobachtungsflächen an Ackerrändern gibt es bereits in Niederösterreich, wo vom Distelverein Individuenzählungen der Pflanzenarten durchgeführt werden. Molekularbiologisches Monitoring von Auskreuzung mit verwandten Wildpflanzen wurde aber auch für angrenzende Naturräume empfohlen, um Informationen über die Auskreuzungsbiologie von Raps zu gewinnen. Solche Untersuchungen sollten in den verschiedenen biogeographischen Regionen Österreichs durchgeführt werden, sofern dort Raps angebaut wird.

## 4.2 Wirkung auf die Beikrautflora

Von seiten der Industrie wurde die Meinung vertreten, dass eine gewisse Unkrautmenge im Acker in vielen Fällen tolerierbar sei und Glufosinat-resistenter Raps die Möglichkeit für einen erosionsmindernden Anbau ohne Bodenbearbeitung böte, da bei zu stark werdendem Unkrautdruck die Möglichkeit eines späten Herbizideinsatzes offen bliebe. Glufosinat ist ein Kontaktherbizid, das nur die grünen Pflanzenteile vernichtet, die Wurzeln der Ackerunkräuter bleiben erhalten und tragen so weiter zum Erosionsschutz bei.

Von seiten der Ökologen wurde betont, dass die Beikrautflora sowohl als Habitat für Nützlinge, als auch im Hinblick auf Landschaftsschutz und Artenschutz von Bedeutung ist und auch Ackerunkräuter der UN-Konvention über die biologische Vielfalt unterliegen. In diesem Zusammenhang wird von seiten der Ökologen die Einrichtung eines Netzes von zehn Meter breiten Ackerrandstreifen empfohlen (Traxler, persönliche Mitteilung).

Ein Monitoring der Artenzusammensetzung der Ackerbegleitflora, z. B. durch eine Erhebung der Samenbank, sollte in allen biogeographischen Regionen erfolgen. Für einen Vergleich mit der Wirkung des Anbaus von nichttransgenem Raps ist auch darauf zu achten, dass die Fruchtfolgen der Vergleichsfelder übereinstimmen.

### 4.3 Wirkung auf Nützlinge

Eine Wirkung auf Nichtzielorganismen ist nicht direkt durch den Glufosinat-resistenten Raps, sondern durch die Anwendung des Komplementärherbizids zu erwarten. Sie kann sowohl durch direkte Toxizität des Herbizids für manche Organismengruppen, als auch indirekt über Auswirkungen auf die Beikrautflora erfolgen.

Zur Unkrautbekämpfung in Rapsfeldern stehen auch derzeit einige Herbizide zur Verfügung, die im Nachaufverfahren eingesetzt werden können. Die durchschnittliche Aufwandmenge an Herbiziden in der Ölrapskultur in Österreich wird auf 0.6 kg Wirkstoff pro Hektar geschätzt (ZWATZ 1996). Insektizide werden zur Saatgutbehandlung und bei Stengelbefall eingesetzt. Glufosinat wird vermutlich in zwei Behandlungen im Herbst oder jeweils einer Behandlung im Herbst und im Frühjahr angewendet werden.

Es wurde zusammengefasst, was über die Wirkung von Glufosinat auf Nützlinge bekannt ist (BLÜMEL, Kurzvortrag). Die Toxizität von Glufosinat wurde an 25 Arthropodenarten (Gliedertiere), sowie an Nematoden (Fadenwürmer) und Pilzen getestet. Dabei wurde festgestellt, dass Spinnen und Milben durch Glufosinat stark beeinträchtigt werden, während es z. B. für Parasitoide (wie Schlupfwespen) und Regenwürmer relativ unschädlich ist. Für Springschwänze (Collembolen) liegen keine Untersuchungen vor. Milben sind vermutlich als Nützlinge im Rapsbau nicht von Bedeutung. Spinnen sind, wie die Laufkäfergattungen *Poecilus* und *Bembidion*, wichtige Bodennützlinge. Auch Parasitoide spielen im Rapsanbau eine wichtige Rolle. Die Larven des Kohlschotenrüsslers werden z. B. von etwa 35 Parasitoidenarten befallen. Die Wichtigkeit der verschiedenen Nützlinge für den Rapsbau und die Auswirkungen von Glufosinat und seiner Formulierungen auf Wechselwirkungen zwischen Schadorganismen, Parasitoiden und Nützlingen ist weitgehend unbekannt. Die Wirkung von Glufosinat auf Bienen wird derzeit für die Pflanzenschutzmittelzulassung getestet.

Das *pat*-Gen wird im Pollen kaum exprimiert. Trotzdem wurde die Wirkung von Glufosinat-resistentem Raps auf Bienen im Auftrag von AgrEvo an Bienenminivölkern bei Freisetzungsversuchen getestet und erbrachte keinen Hinweis auf eine schädigende Wirkung.

Es wurde vorgeschlagen, im Rahmen eines Monitorings genauer zu untersuchen, welche Nützlingsarten im Rapsanbau eine wichtige Funktion ausüben (Schlüsselorganismen). Wenn diese sich in Labortests als empfindlich gegenüber Glufosinat erweisen, sollte beobachtet werden, ob auch im Freiland eine Schädigung und ein dadurch bedingter erhöhter Schädlingsbefall auftritt. Wegen des zu erwartenden großflächigen Einsatzes von Glufosinat in verschiedenen Kulturen, erscheint auch eine Beobachtung von Spinnen, die besonders empfindlich sind, sinnvoll.

### 4.4 Wirkung auf Bodenmikroorganismen

Der Boden enthält eine hohe Zahl von Bakterien und Pilzen, die für den Abbau toter Biomasse und ihre Umwandlung in Pflanzennährstoffe wesentlich sind. Die meisten sind unbekannt, da sie einer Charakterisierung wegen fehlender Methoden zu ihrer Kultivierung bisher nicht zugänglich sind. Veränderungen in der Artenzusammensetzung können zum Teil mit Hilfe molekularbiologischer Methoden festgestellt werden, z. B. anhand von Analysen des Fettsäuremusters oder von 16S-rRNA-Sequenzen. Hier gibt es allerdings noch großen Forschungsbedarf für methodische Verbesserungen. Eine Schädigung der Bodenmikroorganismen ist durch eine verminderte Bodenatmung bzw. durch verschiedene Enzymtests erkennbar. Nach Richtlinie 91/414/EWG sollte die Stickstoff- und Kohlenstoffmineralisierung hundert Tage nach der Pestizidanwendung nicht um mehr als 25 % gegenüber dem Ausgangszustand vermindert sein. Es wurde von Untersuchungen berichtet, die keinen Zusammenhang

zwischen Aktivitätsänderungen der Bodenmikroorganismen und Prozessen im Boden wie z. B. Nährstoffmobilisierung, nachweisen konnten. Bei Ausfall einzelner Arten von Mikroorganismen würde deren Funktionen von anderen Arten übernommen (SCHINNER, Kurzvortrag).

Neben der Zersetzungstätigkeit üben einzelne Bodenmikroorganismen noch andere wichtige Funktionen aus, wie die Umwandlung des beim Abbau organischen Materials freiwerdenden Ammoniaks zu Nitrat (Nitrifikanten), oder das Binden von Luftstickstoff (Rhizobien). In der Bakteriengattung *Pseudomonas* gibt es sowohl Pflanzenpathogene, als auch Arten, die das Pflanzenwachstum fördern oder Krankheitserreger hemmen. Untersuchungen der Wirkung von Glufosinat auf solche Mikroorganismen, die zum Großteil in der Rhizosphäre konzentriert sind, wären von Interesse.

Ein Gentransfer auf Bodenmikroorganismen wurde für möglich, ein diesbezügliches Monitoring aber nicht für sinnvoll gehalten.

#### 4.5 Durchführung und Finanzierung von Monitoringprogrammen

Es wurde auf die folgenden offenen Fragen in Zusammenhang mit einem Monitoring nach dem Inverkehrbringen verwiesen:

- Wer erstellt entsprechende Monitoringkonzepte?
- Wer soll Monitoring durchführen?
- Wer trägt die Kosten?
- Wer koordiniert das Monitoring?
- Was passiert mit den Ergebnissen?
- Wie erfolgt die Einbindung und Information der Öffentlichkeit?

Zur Zeit gibt es kein rechtlich verbindlich vorgeschriebenes Monitoring nach dem Inverkehrbringen. Der Änderungsvorschlag für die Freisetzungsrichtlinie 90/220/EWG sieht derzeit aber vor, dass der Antragsteller beim Antrag auf Inverkehrbringen einen Überwachungsplan vorlegen muss, der garantieren soll, dass eventuelle Umweltauswirkungen transgener Pflanzen rechtzeitig erkannt werden. Von seiten der Industrie wurde berichtet, dass Antragsteller bereits jetzt von der EU-Kommission aufgefordert werden, Monitoringkonzepte für ihre Produkte vorzulegen. Eine Informationsquelle nach dem Inverkehrbringen können Rückmeldungen der Landwirte an die saatzguterzeugende Firma sein. Monitoring, das sich nicht auf ein bestimmtes Produkt bezieht, wie ökologische Dauerbeobachtungen, sollte von unabhängigen Fachleuten konzipiert und durchgeführt werden.

Um die Unabhängigkeit und Glaubwürdigkeit der Untersuchungen zu garantieren, wurde auch von Industrieseite die Meinung vertreten, dass öffentliche Institutionen die Durchführung des Monitorings nach dem Inverkehrbringen übernehmen sollten. Die Finanzierung könnte eventuell über einen von Staat und Industrie gemeinsam finanzierten Fonds erfolgen. Das Umweltbundesamt käme als koordinierende Stelle in Frage.

## 4.6 Schlussfolgerungen

Ein Monitoring möglicher Umwelteffekte des Anbaus von Glufosinat-resistentem Raps sollte sich nach Meinung der Ökologen auf Acker und Ackerrand konzentrieren, da Herbizideinsatz dort als Selektionskriterium wirken kann. Die Verschiedenheit der biogeographischen Regionen sollte dabei berücksichtigt werden. Die wichtigsten zu beobachtenden Parameter sind die quantitative Artenzusammensetzung der Ackerbegleitflora, ein molekularbiologisches Screening nach Kreuzung mit wildwachsenden Verwandten (auch in angrenzenden Naturräumen) und die Wirkung auf wichtige bzw. Glufosinat-empfindliche Nützlinge, z. B. Spinnen. Eventuell könnte auch die Wirkung von Glufosinat auf Nitrifikanten und stickstofffixierende Bakterien untersucht werden. Von Industrieseite wird die Wahrscheinlichkeit eines Auskreuzens von herbizidresistentem Raps mit wilden Verwandten für vernachlässigbar gering gehalten. Monitoring nach dem Inverkehrbringen sollte – abgesehen von Rückmeldungen der Landwirte an die Industrie – vorwiegend durch unabhängige Institutionen oder Fachleute erfolgen, wobei das UBA die Koordination übernehmen könnte. Die Kosten könnten durch einen Fonds gedeckt werden, in den öffentliche Hand und Industrie einzahlen.

## 5 DISKUSSIONSWORKSHOP

Zum Projektabschluss fand im Umweltbundesamt ein vom Österreichischen Ökologie-Institut organisierter und von Dr. Armin Spök vom Interuniversitären Forschungszentrum für Technik, Arbeit und Kultur Graz moderierter ganztägiger Workshop zum Thema „Sicherheitsforschung, ökologische Begleitforschung und Monitoring bei gentechnisch veränderten Pflanzen“ statt. 28 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (siehe Anhang A.4) aus den Bereichen Ökologie, Landwirtschaft, Behörden, Umweltschutz und Industrie diskutierten anhand eines vom Ökologieinstitut in Zusammenarbeit mit dem Umweltbundesamt erstellten Vorschlags über

- Definitionen für die im Titel der Veranstaltung genannten Begriffe und über
- Konzepte für diesbezügliche Minimalprogramme, die EU-weit als Mindestqualitätsstandards für gentechnisch veränderte Kulturpflanzen eingehalten werden sollten.

### 5.1 Zusammenfassung der Diskussion

#### 5.1.1 Diskussion zu den Begriffsdefinitionen

##### Vorschlag zu "SICHERHEITSFORSCHUNG" laut Diskussionsgrundlage

*"Untersuchung möglicher Auswirkungen gentechnisch veränderter Organismen in geschlossenen Systemen (Labor, Klimakammer, Gewächshaus,...) und bei Freisetzungen sowie die Entwicklung von Techniken zur Erhöhung der Sicherheit gentechnisch veränderter Organismen."*

##### Änderungsvorschläge

Zu dieser Definition gab es zwei Änderungsvorschläge: Erstens die Frage, ob der Ausdruck „Sicherheitsforschung“ nur für geschlossene Systeme verwendet werden sollte, und zweitens den Wunsch nach einer Eingrenzung der Definition auf „schädliche, unerwünschte oder sicherheitsrelevante“ Auswirkungen oder durch Hineinnahme des Ziels der Untersuchungen (Abschätzen der Sicherheit im Hinblick auf Freisetzung oder Inverkehrbringen).

Befürworter der Eingrenzung des Begriffs auf geschlossene Systeme (inklusive Freisetzungen mit Einschließungsmaßnahmen) führten als Begründung an, dass nur Pflanzen freigesetzt würden, die sicher seien. Das wurde von Seiten der Ökologen bezweifelt, da es nicht möglich sei, aus Laborversuchen das Verhalten von Pflanzen im Freiland vorherzusagen. So hätten sich einzelne aus anderen Kontinenten eingeführte Pflanzen erst nach langer Latenzzeit plötzlich überraschend stark verbreitet.

Über die Frage, ob die Definition auf „schädliche“, „unerwünschte“ oder „sicherheitsrelevante“ Auswirkungen eingegrenzt werden sollte, herrschte Uneinigkeit. Für eine solche Eingrenzung spricht, dass aufgrund der gesetzlichen Bestimmungen andere Auswirkungen für die Genehmigung nicht relevant sind. Andererseits gibt es unterschiedliche Auffassungen darüber, welche Auswirkungen schädlich oder sicherheitsrelevant sind. Diese Frage ist selbst Gegenstand der Sicherheitsforschung.

##### Vorschlag zu "ÖKOLOGISCHE BEGLEITFORSCHUNG" laut Diskussionsgrundlage

*"Zeitlich begrenzte Untersuchungen der ökologischen Auswirkungen gentechnisch veränderter Organismen im Freiland, d. h. bei Freisetzungen oder nach dem Inverkehrbringen."*

## Änderungsvorschläge

Von Seite der Ökologen und von Behördenseite wurde eine Eingrenzung des Begriffs "ökologische Begleitforschung" auf Freisetzungsversuche empfohlen, da ökologische Begleitforschung einen Hinweis darauf liefern sollte, welche Folgen auftreten könnten, und so eine Hilfe für die Erstellung eines Monitoringprogramms sein sollte. Zeitlich beschränkte Untersuchungen, die (aufgrund einer vorher formulierten Hypothese) nach dem Inverkehrbringen stattfinden, sollten besser als "*spezielles Monitoring*" bezeichnet werden. Im Fall der ökologischen Begleitforschung wurde akzeptiert, dass das Ergebnis nicht im Voraus abschätzbar ist und daher eine Eingrenzung auf schädliche Auswirkungen nicht sinnvoll wäre.

## Vorschlag zu "MONITORING" laut Diskussionsgrundlage

*"Langfristig angelegte bzw. zeitlich nicht begrenzte Untersuchungen in Ökosystemen, die durch das Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen beeinflusst werden könnten."*

## Änderungsvorschläge

Von seiten der Ökologen wurde empfohlen, in Zusammenhang mit Monitoring zwischen "speziellem Monitoring" und "allgemeinem Monitoring oder genereller Dauerbeobachtung" zu unterscheiden. Unter speziellem Monitoring wären zeitlich begrenzte Untersuchungen zu bestimmten Fragestellungen aufgrund vorher formulierter Hypothesen zu verstehen, die nach der Zulassung transgener Pflanzen zum großflächigen Anbau durchgeführt werden. Beim allgemeinen Monitoring werden bestimmte ökologisch relevante Parameter im Hinblick auf Veränderungen langfristig beobachtet. Auch hier herrschte Übereinstimmung, dass Monitoring nicht auf schädliche Auswirkungen eingrenzbar ist. Es wurde sogar betont, dass auch auf positive Auswirkungen geachtet werden sollte.

### 5.1.2 Diskussion zum Vorschlag für ein Minimalprogramm

#### 5.1.2.1 Untersuchungen in geschlossenen Systemen (Labor, Gewächshaus) und Studien zu den Empfängerpflanzen

##### Vorschlag laut Diskussionsgrundlage

- Untersuchungen über Abbaubarkeit und Toxizität der in der Pflanze gebildeten neuen Inhaltsstoffe inklusive deren Metaboliten
- Untersuchung der Expressionshöhe in den verschiedenen Pflanzenteilen (eventuell auch in Abhängigkeit vom Wachstumsstadium der Pflanze)
- Vergleich mit nicht-transgenen Sorten hinsichtlich Vitalität und Samenverhalten
- Erstellen einer vollständigen Liste möglicher Kreuzungspartner in Regionen in denen die transgene Pflanze freigesetzt bzw. angebaut werden soll, sowie Durchführung von Studien zum Auskreuzungspotential auch mit anderen Kulturpflanzen (Blühzeitpunkt, Fremdbestäubungsanteil, Pollenflugweite etc.)
- Untersuchungen möglicher Selektionsvorteile von Hybriden der transgenen Pflanze mit möglichen Kreuzungspartnern.

##### Diskussion

Von Seite der Ökologen wurde empfohlen, die Begriffe „Vitalität“ und „Samenverhalten“ durch "Konkurrenzverhalten" und "Verhalten vermehrungsfähiger Pflanzenteile (Keimung, Dormanz, Überdauerungsfähigkeit)" zu ersetzen.

Weiters wurde die Frage aufgeworfen, ob als Vergleichsobjekt für die Abschätzung der Konkurrenzfähigkeit der transgenen Pflanze die Ausgangslinie herangezogen werden müsse. Nach Angaben der Industrie könnte das bei der Zucht transgener Pflanzen aus haploiden Zellen ein Problem sein. Da es das Ziel der Untersuchung ist, sicherzustellen, dass die transgene Pflanze im Vergleich zu anderen Linien derselben Art keine erhöhte Konkurrenzfähigkeit aufweist, die eine Verwilderungstendenz bewirken oder verstärken könnte, erscheint auch ein Vergleich mit anderen Linien unter Berücksichtigung von deren Konkurrenzfähigkeit bzw. Verwilderungstendenz zulässig.

Von Industrieseite wurde angemerkt, dass für Freisetzungsanträge nach der EU-Richtlinie 90/220/EWG einige der in diesem Minimalprogramm vorgeschlagenen Untersuchungen ohnehin gemacht werden müssen, z. B. über die Genexpression in den verschiedenen Geweben, die genetische Stabilität und die Vererbbarkeit des Transgens, sowie allgemeine Angaben zur Pflanzenphysiologie. Ausführliche Toxizitätsdaten würden für den Antrag zum Inverkehrbringen vorgelegt. In diesem Zusammenhang wurde kritisch vermerkt, dass nicht klar wäre, ob gentechnisch veränderte insektenresistente Pflanzen ebenso zu prüfen seien wie Insektizide, für die ein sehr ausführliches Prüfprogramm in der Richtlinie 91/414/EWG genau festgelegt ist.

Einige Teilnehmer waren der Meinung, dass Untersuchungen über das Konkurrenzverhalten und das Verhalten vermehrungsfähiger Pflanzenteile nicht für Kulturarten gemacht werden müssten, für die diese Fragen z. B. aufgrund auszuschließender Verwilderungstendenz nicht sicherheitsrelevant seien.

Weiters wurde diskutiert, ob für die Abschätzung des Blühzeitpunkts, der Pollenflugweite und des Fremdbestäubungsanteils Literaturstudien ausreichend seien. Dies könnte für die Pollenflugweite bei ausreichender Datenlage der Fall sein. Blühzeitpunkt und Fremdbestäubungsanteil könnten aber durch die Integration des Transgens in das Genom oder wegen einer genetischen Besonderheit der transformierten Einzelzelle, aus der die transgene Linie gezüchtet worden war, verändert sein.

### 5.1.2.2 Untersuchungen bei Freisetzungen

#### Vorschlag laut Diskussionsgrundlage

- Höhe der Expression des Transgens in den verschiedenen Pflanzenteilen im Freiland (eventuell auch in Abhängigkeit vom Wachstumsstadium der Pflanze)
- Vergleich mit nicht gentechnisch veränderten Sorten hinsichtlich Vitalität und Konkurrenzfähigkeit im Freiland
- Beobachtung des Samenverhaltens im Freiland (Dormanz, Überdauerungsfähigkeit, Keimfähigkeit).

Bei herbizidresistenten Pflanzen:

- Falls wildwachsende mögliche Kreuzungspartner vorhanden sind, im Hinblick auf die Bildung herbizidresistenter Unkräuter Beobachtung des Blühzeitpunkts und des Fremdbestäubungsanteils im Freiland, sowie der Bildung von keimfähigen Hybridsamen in Mischkulturen mit diesen wilden Verwandten
- Erhebung des Herbizideinsatzes
- Wirkung des zu erwartenden Herbizideinsatzes auf die Ackerbegleitflora (Vergleich mit konventioneller Bewirtschaftung)

Bei schädlingsresistenten Pflanzen:

- Untersuchungen der Populationen möglicherweise beeinflusster Nichtzielorganismen von vergleichbaren Feldern mit gentechnisch veränderten und nichttransgenen Sorten
- Resistenzentwicklung und Ausweichverhalten von Zielorganismen auf nichttransgene Pflanzen.

## Diskussion

Von Industrieseite wurde die Frage gestellt, wozu ökologische Begleitforschung überhaupt nötig sein sollte, wenn die Sicherheit schon im geschlossenen System bewiesen worden sei, und warum ökologische Begleitforschung gerade für gentechnisch veränderte Pflanzen verlangt würde. Dem wird entgegengehalten, dass es durch die Genintegration zu unerwarteten Effekten kommen könne und dass auch für viele konventionelle Kulturpflanzen eine ökologische Begleitforschung sinnvoll gewesen wäre. In diesem Zusammenhang wird als Beispiel für ökologische Begleitforschung für konventionelle Landwirtschaft auf das Ökowerkprogramm des Distelvereins (Dauerbeobachtungsflächen an Ackerrändern), sowie auf Untersuchungen im Rahmen der Pflanzenschutzmittelzulassung verwiesen. Allerdings werden Untersuchungen über die Nebenwirkungen von Pflanzenschutzmitteln, wie z. B. die Wirkung auf Nützlinge, nicht immer in Feldversuchen gemacht.

Das gilt auch im Fall von herbizidresistenten Pflanzen, die zwar im Rahmen der Zulassung des Herbizids für diese spezielle Anwendung (inklusive Anzahl und Menge der Applikationen) Feldversuche durchlaufen müssen, bei denen aber Nebenwirkungstests nicht zwingend vorgeschrieben sind. Eine Beobachtung der Nichtzielorganismenpopulationen wird aber nicht nur für insektenresistente Pflanzen, sondern auch im Fall von herbizidresistenten Pflanzen, die mit dem Komplementärherbizid behandelt werden, für wichtig gehalten. Eine Erhebung des Herbizideinsatzes ist bei diesen Feldversuchen für die Pflanzenschutzmittelzulassung vorgesehen.

Einige Teilnehmer empfahlen, das Wort "Nichtzielorganismen" näher zu erläutern, da es in der Pflanzenschutzmittelzulassung üblicherweise mit "Nützlingen" gleichgesetzt würde.

Uneinigkeit herrschte darüber, ob es verfrüht sei, schon bei Feldversuchen Daten über die Artenvielfalt zu erheben. Von Seite der Ökologen wurde in diesem Zusammenhang auf das Schutzinteresse gegenüber gefährdeten Arten verwiesen.

### 5.1.2.3 Monitoring nach dem Inverkehrbringen

#### Vorschlag laut Diskussionsgrundlage

- Monitoring der Ackerflora und -fauna von vergleichbaren Feldern mit gentechnisch veränderten und nicht-transgenen Sorten an verschiedenen Standorten über mehrere Jahre
- Großflächige Aufzeichnung von angebauter Sorte, Krankheits- und Schädlingsbefall, Dünger- und Pestizidanwendung durch die Landwirte
- Stichprobenartiges Monitoring der Ackerrandflora (Individuenzahl der einzelnen Arten)
- Molekularbiologisches Monitoring von Genintrogressionen in natürliche Populationen
- Bei herbizidresistenten Pflanzen: Screening nach Herbizidresistenz bei potentiellen Kreuzungspartnern und deren Nachkommen.
- Bei schädlingsresistenten Pflanzen: Monitoring der Resistenzentwicklung der Zielorganismen.

## Diskussion

In der Diskussion wurde vorgeschlagen, die Liste der Aufzeichnungen durch die Landwirte um Blühzeitpunkt und -dauer der transgenen Kultur und der umgebenden Kulturen zu erweitern. Einige Teilnehmer meinten, dass die Landwirte für ihre Aufzeichnungen finanziell entschädigt werden müssten. Bereits jetzt werden häufig Aufzeichnungen zur Pestizidanwendung bei verschiedenen Sorten gemacht. Für giftlizenzpflichtige Pestizide besteht eine Aufzeichnungspflicht und auch die Agrarmarkt-Austria-Vertragsbauern führen Buch. Genaue Aufzeichnungen führen die Schlagkarteilandwirte. Auch für die ÖPUL-Förderung ("Österreichisches Programm zur Förderung einer umweltgerechten, extensiven und den natürlichen Lebensraum schonen-

den Landwirtschaft" gemäß EWG-Verordnung Nr. 2078/92 des Rats vom 30.6.1992) werden Aufzeichnungen verlangt. Nach solchen Aufzeichnungen könnten die Standorte für ein Monitoring ausgewählt werden.

Eine Möglichkeit für spezifisches Monitoring würde sich bei der Sortenprüfung bieten, die in Österreich auch über die Zulassung hinaus fortgeführt werden kann und in vielen Fällen auch fortgeführt wird. Für Sortenprüfungen stehen etwa 8-15 Standorte zur Verfügung und es werden auch Versuche auf Feldern von Landwirten durchgeführt. Im Rahmen der Sortenprüfung werden Düngung, Pestizideinsatz, Anbauzeitpunkt und eventuell die Bodenbearbeitung aufgezeichnet. Allerdings können EU-weit zugelassene Sorten ohne österreichische Sortenprüfung angebaut werden. Die Flächen für die Sortenprüfung sind klein und müssten für ein Monitoring vergrößert werden.

Es wurde vorgeschlagen, allgemeines Monitoring in Agrarflächenmonitoring und Naturraummonitoring zu unterteilen. Für Agrarflächen wurde ein Monitoring der Bodenqualität und der Mikroflora empfohlen. In der BRD ist geplant, eine zentrale Koordinationsstelle für die Monitoringdaten beim Umweltbundesamt Berlin einzurichten.

Nach Auskunft der Industrie ist im Hinblick auf ein Resistenzmanagement für den Maiszünsler ein Monitoring der Resistenzentwicklung gegen *Bacillus thuringiensis* (Bt)-Toxin nach amerikanischem Vorbild vorgesehen. Außerdem ist geplant, die Landwirte eine Vereinbarung unterschreiben zu lassen, in der sie sich verpflichten, einen bestimmten Prozentsatz an konventionellem Mais anzubauen (bis 45 %). Auch die Fruchtfolge soll zum Teil mittels Vereinbarungen reglementiert werden. Von der Seite der Landwirtschaft wurde empfohlen, im Rahmen eines auch für konventionellen Mais erwünschten Sortenwechsels Bt-Mais nur auf 20 % der Maisfläche anzubauen. Einige Teilnehmer befürchteten, dass Resistenzmonitoring nicht ausreichen werde, um eine Resistenzbildung früh genug zu verhindern und treten für regionale Anbaubeschränkungen zum Schutz des Biolandbaus ein, für den Bt-Präparate die einzigen „Notfallinsektizide“ sind. Eine einmal entstandene Resistenz kann sich möglicherweise auch ohne weiteren Einsatz von Bt-Mais jahrelang in Schädlingspopulationen halten.

In Hinblick auf den Biolandbau wird außerdem die Befürchtung geäußert, dass Biobauern durch Pollenflug von benachbarten transgenen Feldern geschädigt werden könnten. Die Notwendigkeit einer Grenzwertfestsetzung zur Definition des Begriffs "gentechnikfrei" wurde unterstrichen, da die Biobauern der EU-Richtlinie für Biolandbau nach gentechnikfrei produzieren müssen. Auch von Industrieseite wurde bekräftigt, dass die Konsumenten ein Recht auf gentechnikfreie Lebensmittel hätten.

#### 5.1.2.4 Ist ein Minimalprogramm sinnvoll?

Einige Teilnehmer vertraten die Meinung, dass kulturartenspezifische Minimalprogramme sinnvoller wären als allgemeine. Sie könnten durch merkmalspezifische Minimalprogramme ergänzt werden. Es gab allerdings auch die Meinung, dass Minimalprogramme weder dem Antragsteller, noch der Behörde nützen würden. Als Gegenargument wurde angeführt, dass verpflichtende Minimalprogramme im Fall von Sicherheitsforschung für die öffentliche Diskussion von Vorteil wären. Allgemeine Minimalprogramme wären ein wichtiger Beitrag, da der Anhang VII (Monitoring) des Änderungsvorschlags zur EU-Richtlinie 90/220/EWG auch nicht fallspezifisch ausgelegt ist. Zur Sinnhaftigkeit allgemein gültiger Minimalprogramme und deren Inhalte besteht noch Diskussionsbedarf, hier sollte nach geschlossenem System, Freisetzungen und Inverkehrbringen differenziert betrachtet werden.

## 6 EMPFEHLUNGEN

Im Folgenden werden von den Autoren Empfehlungen zu Begriffsdefinitionen und Konzepten für Sicherheitsforschung, ökologische Begleitforschung und Monitoring nach dem Inverkehrbringen gegeben, die aus den Ergebnissen der Literaturrecherche, der schriftlichen Befragung der verschiedenen Interessensgruppen und den beiden Workshops abgeleitet wurden. In diesen Empfehlungen werden nur Untersuchungen zu Umwelteffekten im engeren Sinn berücksichtigt, da gesundheitliche Auswirkungen des Verzehrs gentechnisch veränderter Feldfrüchte nicht Thema dieses Projekts waren.

### 6.1 Empfehlungen zu den Begriffsdefinitionen

#### Sicherheitsforschung

Dem Ergebnis der schriftlichen Befragung zufolge wird dieser Begriff von vielen als Überbegriff gesehen, der sowohl Untersuchungen in geschlossenen Systemen, als auch bei Freisetzen und an nicht gentechnisch veränderten Pflanzen umfasst. Von anderen wird er jedoch nur für geschlossene Systeme gebraucht. Auch beim Diskussionsworkshop konnte bezüglich der Definition dieses Begriffs keine Einigung erzielt werden. Dieser Punkt wird daher bei dem folgenden Definitionsvorschlag offengelassen.

*"Untersuchungen (eventuell: in geschlossenen Systemen), um sicherheitsrelevante Auswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen zu identifizieren oder abschätzen zu können, und die Entwicklung von Techniken zur Erhöhung der Sicherheit gentechnisch veränderter Pflanzen."*

#### Ökologische Begleitforschung

Da die schriftliche Befragung bezüglich der Definition dieses Begriffs kein eindeutiges Ergebnis ergab, richtet sich die hier gegebene Empfehlung nach dem Ergebnis des Diskussionsworkshops. Sie stimmt mit der Definition des deutschen Sachverständigenrats für Umweltfragen überein.

*"Zeitlich begrenzte Untersuchungen der ökologischen Auswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen anhand bestimmter Freisetzungen."*

#### Monitoring

Der diesbezügliche Definitionsvorschlag richtet sich nach den Ergebnissen der schriftlichen Befragung und des Diskussionsworkshops.

*"Zeitlich begrenzte Untersuchungen mit bestimmten Fragestellungen zu den Auswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen auf Ökosysteme (spezielles Monitoring) oder langfristig angelegte Beobachtung von Ökosystemen, die durch das Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen beeinflusst werden könnten (allgemeines Monitoring oder ökologische Dauerbeobachtung)."*

## 6.2 Vorschläge für Minimalprogramme

Im folgenden werden – vor allem als Ergebnis des Diskussionsworkshops – Vorschläge für Minimalprogramme zu Sicherheitsforschung, ökologischer Begleitforschung bei Freisetzungen und Monitoring nach dem Inverkehrbringen abgeleitet. Diese Minimalprogramme sind als Mindeststandards gedacht. Bei Pflanzen mit wildwachsenden Kreuzungspartnern oder bei gentechnischen Veränderungen, die einen starken Selektionsvorteil bedeuten (z. B. Trockenresistenz) sind sicherlich darüber hinausgehende Untersuchungen notwendig.

### 6.2.1 Sicherheitsforschung in geschlossenen Systemen und Studien zu den Empfängerpflanzen

#### Minimalprogramm für alle Arten der gentechnischen Veränderung

- Untersuchung der Expressionshöhe des Transgens in den verschiedenen Pflanzenteilen
- Abschätzung bzw. Untersuchung der Toxizität und Abbaubarkeit des neuen Genprodukts bzw. neuer Metaboliten
- bei Kulturarten, bei denen eine Verwilderung nicht auszuschließen ist, Untersuchung der Konkurrenzfähigkeit im Vergleich zu anderen Vertretern dieser Kulturart
- Bei Kulturarten, bei denen eine Verwilderung nicht auszuschließen ist, Untersuchung von Überdauerungsfähigkeit, Dormanz und Keimfähigkeit vermehrungsfähiger Pflanzenteile
- Erstellen einer vollständigen Liste möglicher Kreuzungspartner in Regionen, in denen die Pflanze freigesetzt bzw. angebaut werden soll.

#### Minimalprogramm zusätzlicher Untersuchungen für Pflanzen, die ein für diese Pflanzenart neues Toxin enthalten:

- Erstellen einer Liste der an der Toxin-exprimierenden Pflanzenteilen fressenden Ziel- und Nichtzielorganismen
- Untersuchung auf posttranslationale Modifikation des Toxins
- Untersuchungen über Abbaubarkeit und Toxizität des Toxins analog zur EU-Richtlinie 91/414/EWG (Pflanzenschutzmittelzulassung) unter Berücksichtigung wichtiger einheimischer Nutzarthropoden
- Untersuchung der Zielorganismen des Toxins im Hinblick auf eine Prognose der Resistenzentwicklung
- Abschätzung der möglichen Auswirkungen eines Transfers des Toxingens auf Bakterien oder Pilze.

#### Minimalprogramm zusätzlicher Untersuchungen für herbizidresistente Pflanzen

- Bei Herbizidresistenz aufgrund eines zusätzlichen Enzyms Untersuchungen über die Spezifität dieses Enzyms.

#### Minimalprogramm zusätzlicher Untersuchungen für virusresistente Pflanzen

- Expressionshöhe des Fremdgens bei Infektion mit den Viren, die die Pflanze üblicherweise befallen.

## 6.2.2 Ökologische Begleitforschung bei Freisetzungsversuchen

### Minimalprogramm für alle Arten der gentechnischen Veränderung

- Expressionshöhe des Fremdgens in den verschiedenen Pflanzenteilen
- bei Kulturarten, bei denen eine Verwilderung nicht auszuschließen ist, Untersuchung der Konkurrenzfähigkeit im Vergleich zu den anderen Vertretern dieser Kulturart
- bei Kulturarten, bei denen eine Verwilderung nicht auszuschließen ist, Untersuchung von Überdauerungsfähigkeit, Dormanz und Keimfähigkeit vermehrungsfähiger Pflanzenteile
- Beobachtung des Blühzeitpunkts im Freiland
- Beobachtung des Krankheits- und Schädlingsbefalls an verschiedenen Standorten
- bei Kulturarten, die wildwachsende Kreuzungspartner haben, Auskreuzungspotential im Freiland (Fremdbestäubungsanteil, Hybridsamen an Wildpflanzen).

### Minimalprogramm zusätzlicher Untersuchungen für Pflanzen, die ein für diese Pflanzenart neues Toxin enthalten

- Expressionshöhe des Transgens in Abhängigkeit vom Wachstumsstadium
- Beobachtung von Nichtzielorganismen und der Bodenfauna des Felds
- Beobachtung des Zielorganismus im Hinblick auf Resistenzentwicklung und Ausweichverhalten.

### Minimalprogramm zusätzlicher Untersuchungen für herbizidresistente Pflanzen

- Ermittlung der vom ökologischen Standpunkt aus verträglichsten Art des Herbizideinsatzes an verschiedenen Standorten
- Beobachtung der Artenvielfalt der Ackerbegleitflora
- Beobachtung von Nichtzielorganismenpopulationen, bei denen aufgrund der Toxizitätstests der Verdacht auf Schädigung durch das Komplementärherbizid besteht.

## 6.2.3 Monitoring nach dem Inverkehrbringen

### Minimalprogramm für Monitoring nach dem Inverkehrbringen

- Aufzeichnung von angebauter Sorte, Krankheits- und Schädlingsbefall, Dünger- und Pestizid-anwendung und Bodenbearbeitung durch die Landwirte
- Beobachtung der Ackerflora und -fauna vergleichbarer Felder mit gentechnisch veränderten und nicht-transgenen Sorten
- Allgemeine Beobachtung von Insektenpopulationen in Ackerbaugebieten mit besonderer Berücksichtigung gefährdeter Arten
- Großflächiges stichprobenartiges Monitoring der Ackerrandflora (Individuendichte der einzelnen Arten)
- molekularbiologisches Screening nach Hybridbildung bei potentiellen Kreuzungspartnern gentechnisch veränderter Pflanzen und deren Nachkommen
- Bei schädlingsresistenten Pflanzen Monitoring der Resistenzentwicklung von Zielorganismen.

Monitoring nach dem Inverkehrbringen sollte einerseits als Frühwarnsystem im Fall direkter negativer Umweltauswirkungen transgener Pflanzen dienen und andererseits Informationen über indirekte Effekte des Anbaus transgener Pflanzen auf Agrarökosysteme und benachbarte Gebiete liefern, die aus Veränderungen der landwirtschaftlichen Praxis resultieren. Es sollte in Form einer langfristigen routinemäßigen Überwachung angelegt sein und folgende Anforderungen erfüllen:

- der von transgenen Pflanzen unbeeinflusste Zustand sollte rechtzeitig dokumentiert werden
- Schäden sollten erkannt werden, bevor sie irreversibel sind
- beobachtete Veränderungen sollten auf bestimmte Ursachen rückführbar sein
- auch langfristige Umweltauswirkungen sollten erkannt werden.

Um diese Punkte zu erfüllen, müssen Monitoringprogramme so bald wie möglich etabliert werden, um den Ausgangszustand zu kennen. Sie sollten unbefristet angelegt sein, da mit der weiteren Zulassung neuer transgener Pflanzen zum großflächigen Anbau zu rechnen ist. Eine Standardisierung der Untersuchungsmethoden wäre aus Gründen der (europaweiten) Vergleichbarkeit sinnvoll, die Monitoringprogramme müssten aber offen sein für Veränderungen, die durch neue Forschungsergebnisse notwendig werden.

Da zu erwarten ist, dass potentielle Umweltauswirkungen transgener Pflanzen zuerst im Umkreis der Anbauflächen auftreten, sind Agrarflächen und benachbarte Ökosysteme die wichtigsten Beobachtungsgebiete. Besondere Aufmerksamkeit sollte dabei den gefährdeten Arten dieser Lebensräume geschenkt werden. Zusätzlich sollten auch andere ökologisch gestörte Flächen wie Straßenränder, Ruderalflächen und Flussufer in die Untersuchungen miteinbezogen werden, da dort wegen der Ähnlichkeit der Standortverhältnisse zu landwirtschaftlichen Flächen bzw. des Entstehens neu besiedelbarer Flächen die Etablierung verwildeter transgener Kulturpflanzen am wahrscheinlichsten ist (Flüsse sind auch Transportmittel für vermehrungsfähige Pflanzenteile).

Die Bestimmung von Referenzflächen kann sich allerdings in der Praxis als sehr schwierig erweisen.

### **Beobachtung der landwirtschaftlichen Praxis**

Als Grundlage für eine Optimierung der Anwendung transgener Pflanzen und einer Bewertung des Nutzens, den bestimmte transgene Pflanzen den Landwirten und der Allgemeinheit bringen, sollte eine Erhebung der landwirtschaftlichen Praxis in bezug auf Fruchtfolge, Einsatz von Pflanzenschutzmitteln (Menge und Zeitpunkt), Düngung und Erträge in größerem Umfang durchgeführt werden. Dazu wären genaue Aufzeichnungen von Landwirten nötig, was zum Teil durch Schlagkartelandwirte und „buchführende Betriebe“ schon verwirklicht ist und in geringerem Ausmaß auch für die ÖPUL-Förderung gemacht wird. Für den zusätzlichen Aufwand sollten die Landwirte finanziell entschädigt werden. Diese Daten wären für die Auswahl der Monitoringstandorte und für die Interpretation der Ergebnisse sehr hilfreich.

### **Artenmonitoring**

Wichtig wäre in allen Fällen der gentechnischen Veränderung eine Beobachtung der Artenzusammensetzung der Flora und Fauna des Felds, des Feldrands und des näheren Umkreises von Feldern mit transgenen Pflanzen in der Fruchtfolge. Dies sollte mit Feldern, auf denen ausschließlich nichttransgene Pflanzen konventionell und nach den Richtlinien des integrierten Pflanzenschutzes angebaut werden verglichen werden. Eine Voraussetzung für die Vergleichbarkeit ist eine möglichst große Ähnlichkeit der Standorte (auch im Hinblick auf die umliegenden Felder bzw. Ökosysteme), der Ackerränder (Breite der Ackerrandstreifen) und das Anlegen von Fruchtfolge und Düngung. Da im Voraus nicht bekannt ist, welche Arten bedroht sein könnten, sollte sich dieses Monitoring nicht auf einzelne Indikatororganismen konzentrieren, sondern versuchen, einen Überblick über das ganze Artenspektrum des Felds und seiner Umgebung zu geben. Besteht aufgrund vorhergehender Untersuchungen ein Verdacht auf Schädigung bestimmter Tiergruppen, sollten diese gezielt beobachtet werden. Dasselbe gilt für gefährdete Tier- und Pflanzenarten dieses Lebensraums.

Ein solches Artenmonitoring müsste für die verschiedenen in Österreich anzutreffenden Standorttypen (Klima/Boden) für jede gentechnische Veränderung an mehreren Vergleichsgruppen mit der betreffenden transgenen bzw. konventionellen Pflanze in der Fruchtfolge durchge-

führt werden und sich zumindest über einige Jahre erstrecken, um auch langfristige Effekte und unterschiedliche klimatische Jahresbedingungen zu erfassen. Zu diesem Zweck müssten Landwirte gefunden werden, die bei entsprechender Entschädigung bereit sind, sich vertraglich zur Einhaltung des Anbauplans zu verpflichten.

Zusätzlich sollte eine weiträumigere Dauerbeobachtung von Ackerrändern und in landwirtschaftlich stark genutzten Gebieten auch von Insektenpopulationen durchgeführt werden. Landwirte und botanisch Interessierte sollten dazu animiert werden, bei Ackerrändern und anderen gestörten Ökosystemen auf verwilderte Kulturpflanzen zu achten.

### **Monitoring einer Genverbreitung durch Auskreuzen**

Im Falle zunehmender Zulassungen verschiedener herbizidresistenter Kulturpflanzen mit wildwachsenden Kreuzungspartnern werden sich vermutlich Herbizidresistenzgene in Populationen von Wildpflanzen ausbreiten. Da Herbizidapplikation oder molekularbiologische Untersuchungen ein relativ einfaches Verfolgen der Genintrogression ermöglichen, sollten diese Untersuchungen durchgeführt werden. Die auf diese Weise beobachtbare Verbreitung von Fremdgenen, die keinen erkennbaren Selektionsvorteil bringen, gibt einen Hinweis auf die minimale Verbreitung in natürlichen Populationen, mit der auch bei Toxingenen und Virusresistenzgenen gerechnet werden müsste, selbst wenn diese keinen Selektionsvorteil unter natürlichen Bedingungen bringen.

### **Resistenzmonitoring**

Die Möglichkeit der Resistenzentwicklung bei Schadinsekten gegen *Bacillus thuringiensis*-Toxine macht zum Zweck der Früherkennung ein Monitoring ihrer Resistenzentwicklung notwendig. Für Maiszünsler liegt bereits ein Vorschlag für ein EU-weites Monitoringprogramm vor (POHL-ORF & SCHUPHAN 1998). Die Resistenz der verschiedenen Maiszünslerpopulationen soll alle vier Generationen getestet werden und eine Weiterzucht unter Selektionsdruck durch Bt soll eine Vorraussage der in der nächsten Zukunft zu erwartenden Entwicklung ermöglichen. Von Industrieseite sollten Landwirte dazu ermutigt werden, jeden Verdacht auf resistente Schadinsekten dem Hersteller zu melden.

Ein Resistenzmonitoring herbizidresistenter Unkräuter sollte von den Landwirten selbst durchgeführt werden

## 7 LITERATUR

- ALLISON, R. F.; GREENE, A. E. & SCHNEIDER, W. L. (1996): RNA recombination in virus resistant transgenic plants. BRARG (biotechnology risk assessment research grants programm) Symposia papers 1996, <http://nbiap.biochem.vt.edu>.
- ARPAIA, S. (1996): Ecological impact of *Bacillus thuringiensis*-transgenic plants: 1. Assessing possible effects of CryIIIB toxin on honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. J. Genet. Breed., 50/4: 315-319.
- ASHOURI, A.; OVERNEY, S.; MICHAUD, D. & CLOUTIER, C. (1998): Fitness and feeding are affected in the two-spotted stinkbug, *Perillus bioculatus*, by the cystein proteinase inhibitor, oryzastatin I. Arch. Insect Biochem. Physiol., 38/2: 74-83.
- BARTSCH, D.; EDMONDS, A. & HAAG, C. (1995): Autecological biosafety research on transgenic sugar beets: seed emergence and competitiveness in the vegetation period 1994. Verh. Ges. f. Ökologie, 24: 635-640.
- BARTSCH, D. & POHL-ORF, M. (1996): Ecological aspects of transgenic sugar beet: Transfer and expression of herbicide resistance in hybrids with wild beet. Euphytica, 91/1: 55-58.
- BARTSCH, D. & SCHMIDT, M. (1997): Survey of beet populations in seed production area of northern Italy demonstrates gene flow from seed beet to wild beet. J. Vegetation Science, 8/1: 81.
- BERGELSON, J.; PURRINGTON, C. B. & WHICHMAN G. (1998): Promiscuity in transgenic plants. Nature, 395/6697: 25-25.
- BORJA, M.; RUBIO, T.; SCHOLTHOF, H. B. & JACKSON A. O. (1999): Restoration of wild-type virus by double recombination of tombusvirus mutants with a host transgene. Mol. Plant Microbe Interactions, 12/2: 153-162.
- BROER, I.; DRÖGE-LASER, W. & GERKE, M. (1996): Examination of the putative horizontal gene transfer from transgenic plants to agrobacteria. In: E. R. SCHMIDT & T. HANKELN (eds): Transgenic organisms and biosafety, horizontal gene transfer, stability of DNA and expression of transgenes. Springer Verlag, Heidelberg.
- BRONSTAD, K.; DRONEN, K.; OVREAS, L. & TORSVIK, V. (1996): Phenotypic diversity and antibiotic resistance in soil bacterial communities. J. Industrial Microbiol., 17/3-4: 253-259.
- BROWN, T. M. (1996): Applications of molecular genetics in combatting pesticide resistance; an overview. ACS Symposium Series, 645: 1-9.
- CHADDOEF, 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, 58/3: 197-204.
- CHAPMAN, M. H. & HOY, M. A. (1991): Relative toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* to the two-spotted spider-mite (*Tetranychus urticae* Koch) and its predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari, Tetranychidae and Phytoseiidae). J. Appl. Entomol., 111: 147-154.
- CHARMIER, B.; LORENZ, M. G. & WACKERNAGEL, W. (1993): Natural transformation of *Acinetobacter calcoaceticus* by plasmid DNA adsorbed on sand and groundwater aquifer material. Appl. Environ. Microbiol., 59: 1.662-1.667.
- CHIANG, H. C. (1978): Pest management in corn. Annu. Rev. Entomol., 23: 101-123.
- CONCAR, D. (1999): Dispatches from killing fields. This Week Science and Technology News, New Scientist, 27 February.
- CRAWLEY, M. J.; HAILS, R. S.; REES, M.; KOHN, D. & BUXTON, J. (1993): Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. Nature, 363: 620-623.
- CRECCHIO, C. & STOTZKY, G. (1998a): Binding of DNA on humic acids: effect on transformation of *Bacillus subtilis* and resistance to DNase. Soil Biol. Biochem., 30/8-9: 1.061-1.067.
- CRECCHIO, C. & STOTZKY, G. (1998b): Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bound to humic acids from soil. Soil Biol. Biochem., 30/4: 463-470.

- DACHLER, M.; HÖSCH, J. & KERNMAYER, I. (1997): Förderungsprogramme unter besonderer Berücksichtigung der ÖPUL. In: Bodenschutz in Österreich. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.
- DARMENCY, H.; LEFOL, E. & FLEURY, A. (1998): Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. *Mol. Ecology*, 7/11: 1.467-1.473.
- DEML, R. & DETTNER, K. (1998): Wirkungen von Bt-Toxin-produzierenden Pflanzen auf Ziel- und Nichtzielorganismen – eine Standortbestimmung. UBA Texte, 36/98, Umweltbundesamt Berlin.
- DONEGAN, K. K.; SCHALLER, D. L.; STONE, J. K.; GANIO, L. M.; REED, G.; HAMM, P. B. & SEIDLER, R. J. (1996): Microbial populations, fungal species diversity and plant pathogen levels in field plots of potato plants expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* endotoxin. *Transgenic Research*, 5/1: 25-35.
- DONEGAN, K. K.; SEIDLER, R. J.; FIELAND, V. J.; SCHALLER, D. L.; PALM, C. J.; GANIO, C. M.; CARDWELL, D. M. & 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. *J. Appl. Ecology*, 34/3: 767-777.
- DONEGAN, K. K. & SEIDLER, R. J. (1998): Effects of cotton expressing the "*Bacillus thuringiensis*" var. "*kurstaki*" endotoxin on soil microorganisms. *Govt Reports Announcements & Index*, Issue 5, NTIS/PB97-122709.
- EGGERS, T. (1993): Artenrückgang bei Ackerunkräutern. *Spektrum d. Wissenschaft*, 7: 107-108.
- EHRENDORFER, F. (1998). Vortrag im Rahmen der Veranstaltung "Amending Directive 90/220/EEC: Safety and Control of GMOs" des Österreichischen Bundeskanzleramts am 23. September 1998 in Wien.
- FDA, (1998): Guidance for industry: Use of antibiotic resistance marker genes in transgenic plants. Draft released for comment on September 4, 1998, Food and Drug Administration, <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/opa-armg.html>.
- FELDMANN, S.; BRANDES, S.; MATZK, A.; PFEILSTETTER, E. & SCHIEMANN, J. (1998): Ökologische Begleituntersuchungen zur Freisetzung gentechnisch veränderter, herbizidresistenter Rapspflanzen. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- FREDSHAVN, J. R. & SILBERG POULSEN, G. (1996): Growth behavior and competitive ability of transgenic crops. *Field Crops Research*, 45: 11-18.
- FRISCHMUTH, T. & STANLEY, J. (1998): Recombination between viral DNA and transgenic coat protein gene of African cassava mosaic geminivirus. *J. Gen. Virology*, 79/5: 1.265-1.271.
- FUCHS, M. & GONSALVES, D. (1998): Risk assessment of gene flow from virus-resistant transgenic squash into a wild relative. In: Ecological risks and prospects of transgenic plants, where do we go from here? A dialogue between industry and science. 28.-31. January 1998. Abstracts. Bern, Switzerland.
- GEBHARD, F. & SMALLA, K. (1998). Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64/4:1.550-1.554.
- GIRARD, C.; PICARD-NIZOU, A. L.; GRALLIEN, E.; ZACCOMER, B.; JOUANIN & L., PHAM-DELEGUE, M. H. (1998): Effects of proteinase inhibitor ingestion on survival, learning abilities and digestive proteinases of the honeybee. *Transgenic Research*, 7/4: 239-246.
- GLANDORF, D. C. M.; BAKKER, P. A. H. M. & VAN LOON, L. C. (1997): Influence of the production of antibacterial and antifungal proteins by transgenic plants on the saprophytic soil microflora. *Acta Botanica Neerlandica*, 46/1: 85-104.
- GOULD, F. (1998): Sustainability of transgenic cultivars: Integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology*, 43: 701-726.
- GREENE, A. E., ALLISON, R. F. (1994). Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts. *Science*, 263/5152: 1.423-1.425.

- GREENE, A. E. & ALLISON, R. F. (1996): RNA recombination between transgenic RNA and viral RNA in CCMV (*Nicotiana benthamiana*) can be reduced significantly by omitting or disrupting the 3'-UTR in a transgene. *Virology*, 225/1: 231-234.
- HASSAN, S. A. (1984): Nebenwirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Nützlinge. *Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, 82: 515-521.
- HAILS, R. S.; REES, M.; KOHN, D.D. & CRAWLEY, M. J. (1997): Burial and seed survival in *Brassica napus subsp. olerifera* and *Sinapis arvensis* including a comparison of transgenic and non-transgenic lines of crop. *Proceedings of the Royal Society of London – Biological Sciences*, 264/1378: 1-7.
- HAUSER, T. P.; SHAW, R. G. & OSTERGARD, H. (1998a): Fitness of F1 hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, 81/4: 429-435.
- HAUSER, T. P.; JORGENSEN, R. B. & OSTERGARD, H. (1998b): Fitness of backcross F-2 hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, 81/4: 436-443.
- HEINEMANN, J. A. (1997): Assessing the risk of interkingdom DANN transfer. In: *Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants*, June 12-13, 1997, Oslo, Norway (Norwegian Biotechnology Advisory Board).
- HILBECK, A.; BAUMGARTNER, M.; FRIED, P. M. & BIGLER, F. (1998): Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.*, 27/2: 480-487.
- HOFFMANN, M. P.; ZALOM, F. G.; WILSON, L. T.; SMILANICK, J. M.; MALYJ, L. D.; KISER, J.; HILDER, V. A., & BARNES, W. M. (1992): Field evaluation of transgenic tobacco containing genes encoding *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin or cowpea trypsin inhibitor: efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 85: 2.516-2.522.
- HUANG, F. N.; HIGGINS, R. A. & BUSCHMAN, L. L. (1997): Baseline susceptibility and changes in susceptibility to Bt subspecies *kurstaki* under selection pressure in European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 90/5: 1.137-1.143.
- JACOT, Y. & SCHULTE, E. (1994): Tools for safety assessment. The release of transgenic plants. Hybridisation between crops and their wild relatives. Part 1. Grasses and other species with relevance for Switzerland. BATS-Reports 1/94, Fachstelle Biosicherheitsforschung und Abschätzung der Technikfolgen des Schwerpunktprogramms Biotechnologie des Schweizerischen Nationalfonds, Basel.
- JACQUET, C.; DELECOLLE, B.; RACCAH, B.; LECOQ, H.; DUNEZ, J. & RAVELONANDRO, M. (1998): Use of modified plum pox virus coat protein genes developed to limit heteroencapsidation-associated risks in transgenic plants. *J. Gen. Virology*, 79/6: 1.509-1.517.
- JORGENSEN, R. B.; ANDERSEN, B.; HAUSER, T. P.; LANDBO, L.; MIKKELSEN, T. R. & OSTERGARD, H. (1998): Introgression of crop genes from oilseed rape (*Brassica napus*) to related wild species – An avenue for the escape of engineered genes – Invited paper. *Brassica*, 97/459: 211-217.
- KELLER, B. & LANGENBRUCH, G. A. (1993): Control of coleopteran pests by *Bacillus thuringiensis*. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J. & HIGGS, S. (eds.): *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice. Wiley and Sons.
- KIRALY, L.; BOURQUE, J. & SCHOELZ, J. E. (1998): Temporal and spatial appearance of recombinant viruses formed between cauliflower mosaic virus (CaMV) and CaMV sequences present in transgenic *Nicotiana bigelovii*. *Mol. Plant Microbe Interactions*, 11/4: 309-316.
- KOMMISSION DER EG (1994): Richtlinie 94/15/EG der Kommission vom 15. April 1994 zur ersten Anpassung der Richtlinie 90/220/EWG des Rates über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt an den technischen Fortschritt. *Amtsblatt L126*, 22.5.91, 22.
- KOSKELLA, J. & STOTZKY, G. (1997): Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63/9: 3.561-3.568.

- KOWARIK, I. (1998): Vortrag im Rahmen der Veranstaltung „Ökologische Risikoabschätzung von gentechnisch veränderten Pflanzen: Auskreuzung und Bewertung agronomisch relevanter Resistenzen“ des Instituts für Pflanzenphysiologie der Universität Wien und des Bundeskanzleramts Sektion VI am 19. Juni 1998 in Wien.
- KRUG, M. (1998): Monitoringprogramme in Sachsen-Anhalt – Überblick und spezielle Aspekte des Bio-monitoring bei transgenen Rapskulturen. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- LANDBO, L. & JORGENSEN, R. B. (1997): Seed germination in weedy *Brassica campestris* and its hybrids with *Brassica napus*: implications for risk assessment of transgenic oilseed rape. *Euphytica*, 97/2: 209-216.
- LANGENBRUCH, G. A. (1986): Verfahren zur praktischen Anwendung von *Bacillus thuringiensis* im Pflanzenschutz. Mitt. BBA Berlin-Dahlem, 233: 51-68.
- LAVRIK, P. B.; BARTNICKI, D. E.; FELDMAN, J.; HAMMOND, B. G.; KECK, P. J.; LOVE, S. L.; NAYLOR, M. W.; ROGAN, G. J.; SIMS, S. R. & FUCHS, R. L. (1995): Safety assessment of potatoes resistant to Colorado potato beetle. ACS Sympos. Ser., 605: 148-158.
- LEFOL, E.; SEGUINSWARTS, G. & DOWNEY, R. K. (1997): Sexual hybridisation in crosses of cultivated *Brassica* species with the crucifers *Erucastrum gallicum* and *Raphanus raphanistrum*: Potential for gene introgression. *Euphytica*, 95/2: 127-139.
- LINDER, C. R.; TAHA, I.; SEILER, G. J.; SNOW, A. A. & RIESEBERG, L. H. (1998): Long-term introgression of crop genes into wild sunflower populations adjacent to cultivated fields. *Theor. Applied Genetics*, 96/3-4: 339-347.
- LINDER, C. R. (1998): Potential persistence of transgenes: Seed performance of transgenic canola and wild x canola hybride. *Ecol. Applications*, 8/4: 1.180-1.195.
- MAYER, M.; WURZ, A.; JÜLICH, R.; ROLLER, G. & TAPPESE, B. (1995): Anforderungen an die Überwachung von Freisetzungen gentechnisch veränderter Pflanzen und Mikroorganismen als Landesaufgabe im Rahmen des Vollzugs des Gentechnikgesetzes. Studie des Öko-Instituts im Auftrag des Ministeriums für Umwelt, Naturschutz und Raumordnung von Sachsen-Anhalt.
- MELLON, M. & RISSLER, J. (1995): Transgenic Crops: USDA data on small-scale tests contribute little to commercial risk assessment. *Bio/Technology*, 13: 96.
- MELLON, M. (1998): UCS Introduction. In: MELLON, M & RISSLER J. (eds.): Now or never: serious new plants to save natural pest control. UCS Publ., Cambridge.
- NEEMANN, G. & SCHERWASS, R. (1998): Vorstellung des Monitoring-konzepts zu Umweltauswirkungen von gentechnisch veränderten Pflanzen. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- NIELSEN, K. M.; GEBHARD, F.; SMALLA, K.; BONES, A. & VAN ELSAS, J. D. (1997a): Evaluation of possible horizontal gene transfer from transgenic plants to the soil bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* BD413. *Theor. Appl. Genetics*, 95/5-6: 815-821.
- NIELSEN, K. M. (1997b): Horizontal gene transfer from genetically modified plants (GMP) to soil associated bacteria. In: Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants. June 12-13, Oslo, Norway (Norwegian Biotechnology Advisory Board).
- NIELSEN, K. M.; van WEERELT, M. D. M.; BERG, T. N.; BONES, A. M.; HAGLER, A. N. & van ELSAS, J. D. (1997c): Natural transformation and availability of transforming DNA to *Acinetobacter calcoaceticus* in soil microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 1.945-1.952.
- NIELSEN, K. M.; BONES, A.; SMALLA, K. & VAN ELSAS, J. D. (1998): Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria – a rare event? *FEMS Microbiol. Reviews*, 22/2: 79-103.
- OECD, (1996): Consensus document on general information concerning the biosafety of crop plants made virus resistant through coat protein gene-mediated protection. OECD Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, No.5. Paris 1996.
- ONSTAD, D. W. & GOULD, F. (1998): Modeling the dynamics of adaptation to transgenic maize by European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econom. Entomol.*, 91/3: 585-593.

- ORR, D. B. & LANDIS, D. A. (1997): Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *J. Econom. Entomol.*, 90/4: 905-909.
- PAGET, E.; JOCTEUR-MONROZIER, L. & SIMONET, P. (1992): Adsorption of DNA on clay minerals: protection against DNase I and influence on gene transfer. *FEMS Microbiol. Lett.*, 97: 31-40.
- PALM, C. J.; DONEGAN, K. K.; HARRIS, D. & SEIDLER, R. J. (1995): Detection in the environment of pesticidal compounds produced by transgenic plants. BRARG (biotechnology risk assessment research grants programm) Symposia papers 1995, <http://nbiap.biochem.vt.edu>.
- PALM, C. J.; SCHALLER, D. L.; DONEGAN, K. K. & SEIDLER R. J. (1996): Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* delta-endotoxin. *Canadian J. Microbiol.*, 42/12: 1.258-1.262.
- PALUKAITIS, P. & ZHANG, L. (1996): Risk assessment of recombination and transcapsidation of tobacco mosaic virus with the cucumber mosaic virus coat protein. BRARG (biotechnology risk assessment research grants programm) Symposia papers 1996, <http://nbiap.biochem.vt.edu>.
- PASCHER, K.; GOLLMANN, G.; ALBERT, R. & PAULUS, H. (1997): Ökologische Risikoabschätzung von Freisetzungen gentechnisch veränderter Organismen für die spezielle Situation in Österreich. *Forschungsberichte 4/97*, Bundeskanzleramt Sektion VI.
- PICARDNIZOU, A. L.; GRISON, R.; OLSEN, L.; PIOCHE, C.; ARNOLD, C. & PHAMDELEGUE, M. H. (1997): Impact of proteins used in plant genetic engineering: toxicity and behavioral study in the honeybee. *J. Econom. Entomol.*, 90/6: 1.710-1.716.
- PIETRAMELLARA, G.; DAL CANTO, L.; VETTORI, C.; GALLORI, E. & NANNIPIERI, P. (1997): Effects of air-drying and wetting cycles on the transforming ability of DNA bound on clay minerals. *Soil Biol. Biochem.*, 29: 55-61.
- PILCHER, C. D.; OBRYCKI, J. J.; RICE, M. E. & LEWIS, L. C. (1997): Preimaginal development, survival and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.*, 90/2: 660-678.
- POHL-ORF, M.; BRAND, U.; SCHUPHAN, I. & BARTSCH, D. (1998): Monitoring the environmental impact of transgenic sugar beet *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris altissima* DÖLL – are we able to ask the right questions? In: *Ecological risks and prospects of transgenic plants, where do we go from here? A dialogue between industry and science*. 28.-31. January 1998. Abstracts. Bern, Switzerland.
- POHL-ORF, M. & SCHUPHAN, I. (1998): Bt-Expression in transgenen Kulturpflanzen – Vorstellung des geplanten Monitoringprogramms in der EU. In: *Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP)*. UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- POWER, A. G. & REMOLD, S. K. (1996): Incidence of barley yellow dwarf virus in wild grass populations: implications for biotechnology risk assessment. BRARG (biotechnology risk assessment research grants programm) Symposia papers 1996, <http://nbiap.biochem.vt.edu>
- PUKALL, R.; TSCHÄPE, H. & SMALLA, K. (1994): Untersuchungen zum Nachweis von Streptothricin-Resistenzgenen in Bodenhabitaten und zum Überleben und Transfer solcher Resistenzgene in Modellökosystemen und unter Feldbedingungen. In: BUCHHOLZ, C. (ed.): *Forschung Biotechnologie. Biologische Sicherheit*, Band 3: 289-313, Forschungszentrum Jülich, Jülich.
- RAT DER EG (1990): Richtlinie des Rates vom 23. April 1990 über die absichtliche Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen in die Umwelt. *Amtsblatt L117*, 8.5.90, S.15.
- RAT der EG (1991): Richtlinie 91/414/EWG des Rates vom 15. Juli 1991. *Amtsblatt L126*, 22.5.91, 22.
- RAYBOULD, A. F. & GRAY, A. J. (1993): Genetically modified crops and hybridization with wild relatives: a UK perspective. *J. Appl. Ecol.*, 30: 199-219.
- RAYBOULD, A. F.; MOYES, C. L.; MASKELL, L. C.; MOGG, R. J.; WARDLAW, J. C.; ELMES, G. W.; EDWARDS, M.-L.; COOPER, J. I.; CLARKE, R. T. & GRAY, A. J. (1998): Predicting the ecological impacts of transgenes for insect and virus resistance in natural and feral populations of *Brassica species*. In: *Ecological risks and prospects of transgenic plants, where do we go from here? A dialogue between industry and science*. 28.-31. January 1998. Abstracts. Bern, Switzerland.

- RIDDICK, E. W. & BARBOSA, P. (1998): Impact of CryIIIA-intoxicated *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) and pollen on consumption, development and fecundity of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the Entomological Soc. of America*, 91/3: 303, 307.
- RIDDICK, W. W.; DIVELY, G. & BARBOSA, P. (1998): Effect of a seed-mix deployment of Cry3A-transgenic and nontransgenic potato on the abundance of *Lebia grandis* (Coleoptera: Carabidae) and *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals Entomol. Soc. America*, 91/5: 647-653.
- RIEGLER, M. & STAUFFER, C. (1998): Rekombinante *Bacillus thuringiensis* Toxin Pflanzen in Land- und Forstwirtschaft, Studie im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit und Konsumentenschutz, Wien.
- ROTE LISTEN GEFÄHRDETER TIERE ÖSTERREICHS (1994). Bundesministerium für Umwelt, Jugend und Familie (Hrsg.) Wien.
- RUFENER, A. L.; MAZYAD, P. & AMMANN, K. (1998): Monitoring in der Kommerzialisierungsphase transgener Nutzpflanzen – Ein Bericht zur internationalen Konferenz in Bern vom Januar 1998. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- SALAMA, H. S.; ZAKI, F. N. & SHARABY, A. F. (1982): Effect of *Bacillus thuringiensis* Berl. on parasites and predators of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Z. Angew. Entomol.*, 94: 498-504.
- SALTER, M. G.; PAINE, J. A.; RIDDELL, K. V.; JEPSON, I.; GREENLAND, A. J.; CADDICK, M. X. & TOMSETT, A. B. (1998): Characterisation of the ethanol-inducible alc gene expression system for transgenic plants. *Plant Journal*, 16/1: 127-132.
- SESSITSCH, A. & SCHAFLEITNER, R. (1998): Bericht zum Fachworkshop „Ökologische Begleitforschung zur Freisetzung gentechnisch veränderter Pflanzen in Österreich“. Seibersdorf Report OEFZS-A-4506, Österreichisches Forschungszentrum Seibersdorf Ges.m.b.H..
- SCHLÜTER, K.; POTRYKUS, I. (1995): "Horizontal" gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs – if at all – at an extremely low frequency. *Bio/Technology*, 13: 1.094-1.098.
- SCHÜTTE, G. & RIEDE, M. (1998): *Bacillus thuringiensis*-Toxine in Kulturpflanzen. In: SCHÜTTE, G.; HEIDENREICH, B. & BEUSMANN, B. (Hrsg.): Die Diskussion von Versuchsergebnissen und Szenarien zur Biosicherheit, UBA Texte 47/98 Umweltbundesamt Berlin, oder <http://www.rrz.uni-hamburg.de/BIOGUM/agbiosich/uba09>.
- SIKORSKI, J.; GRAUPNER, S.; LORENZ, M. E. & WACKERNAGEL, W. (1998): Natural genetic transformation of *Pseudomonas stutzeri* in a non-sterile soil. *Microbiology-UK*, 144/2: 569-576.
- SIMS, S. R. (1995). *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (CryIAc) protein expressed in transgenic cotton: effects on beneficial and other non-target insects. *Southwestern Entomologist*, 20/4: 493-500.
- SIMS, S. R. (1997). Host activity spectrum of the CryIIA *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* protein. Effects on Lepidoptera, Diptera, and non-target arthropods. *Southwestern Entomologist*, 22/4: 395-404.
- SIMS, S. R. & MARTIN, J. M. (1997): Effect of the *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins CryIAb, CryIAc, CryIIA and CryIIIA on *Folsomia candida* and *Xenylla grisea* (Insecta: Collembola). *Pedobiologia*, 41/5: 412-416.
- SIMS, S. R. & REAM, J. E. (1997): Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIIA insecticidal protein within transgenic cotton tissue: laboratory microcosm and field studies. *J. Agric. Food Chemistry*, 45/4: 1.502-1.505.
- SMALLA, K.; VAN OVERBEEK, L. S.; PUKALL, R. & VAN ELSAS, J. D. (1993a): Prevalence of ntpII and Tn5 in kanamycin-resistant bacteria from different environments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 13: 47-58.
- SMALLA, K.; PRAGER, R.; ISEMANN, M.; PUKALL, R.; TIETZE, E.; VAN ELSAS, J. D. & TSCHÄPE, H. (1993b): Distribution of streptothricin acetyltransferase encoding determinants among environmental bacteria. *Mol. Ecology*, 2: 27-33.

- SMALLA, K.; WELLINGTON, E. & VAN ELSAS, J. D. (1997): Natural background of bacterial antibiotic resistance genes in the environment. In: Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants, June 12-13, 1997, Oslo, Norway (Norwegian Biotechnology Advisory Board).
- SNOW, A. A.; MORANPALMA, P.; RIESEBERG, L. H.; WSZELAKI, A. & SEILER G. J. (1998): Fecundity, phenology, and seed dormancy of F-1 wild-crop hybrids in *sunflower* (*Helianthus annuus*, Asteraceae). *Ann. J. Botany*, 85/6, 794-801.
- SOJA, G. & SOJA, A.-M. (1995): Analyse ökologischer Auswirkungen von land-und forstwirtschaftlichen Nutzpflanzen und eingeführten standortfremden Pflanzen als Basis für die Risikoabschätzung gentechnisch veränderter Pflanzen. Seibersdorf Report, Zwischenbericht Juni 1995, 2. Teil, OEFZS-A-3467.
- STEINHÄUSER, K. G. (1998): Einleitung. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- STEWART, C. N.; ALL, N. J.; RAYMER, P. L. & RAMACHANDRAN, S. (1997): Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under selection pressure. *Mol. Ecology*, 6/8, 773-779.
- SUKOPP, U. & SUKOPP, H. (1994): Ökologische Langzeiteffekte der Verwilderung von Kulturpflanzen. In: Verfahren zur Technikfolgenabschätzung des Anbaus von Kulturpflanzen mit gentechnisch erzeugter Herbizidresistenz, Heft 4, Abteilung Normbildung und Umwelt des Forschungsschwerpunkt Technik, Arbeit, Umwelt des Wissenschaftszentrums Berlin für Sozialforschung, Berlin.
- SUKOPP, H. (1998): Ökologische Begleitforschung und Dauerbeobachtung von gentechnisch veränderten Kulturpflanzen – Vorschläge des Rats von Sachverständigen für Umweltfragen (SRU) im Gutachten 1998. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- SUNDIN, G. W.; MONKS, D. E. & BENDER, C. L. (1995): Distribution of the streptomycin-resistance transposon Tn5393 among phylloplane and soil bacteria from managed agricultural habitats. *Can. J. Microbiol.*, 41/9, 792-799.
- TABASHNIK, B. E.; GROETERS, F. R.; FINSON, N.; LIU, Y.-B.; JOHNSON, M. W.; HECKEL, D. G.; LUO, K. & ADANG, M. J. (1996): Resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. ACS Symposium Series 645.
- TABASHNIK, B. E.; LIU, Y.-B.; MALVAR, T.; HECKEL, D. G.; MASSON, L.; BALLESTER, V.; GRANERO, F.; MENSUA, J. L. & FERRE, J. (1997A): Global variation in the genetic and biochemical basis of diamondback moth resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 12.780-12.785.
- TABASHNIK, B. E.; LIU, Y. Y.; B., FINSON, N.; MASSON, L. & HECKEL, D. G. (1997b): One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 1.640-1.644.
- TANG, J. D.; GILBOA, S.; ROUSH, R. T. & SHELTON, A. M. (1997): Inheritance, stability, and lack of fitness costs of field selected resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) from Florida. *J. Econom. Entomol.*, 90/3, 732-741.
- THOMAS, P. E.; HASSAN, S.; KANIEWSKI, W. K.; LAWSON, E. C. & ZALEWSKI, J. C. (1998): A search for evidence of virus/transgene interactions in potatoes transformed with the potato leafroll virus replicase and coat protein genes. *Mol. Breeding*, 4/5, 407-417.
- VITALE, M.; PUPILLI, F.; LABOMBARDA, P. & ARCIONI, S. (1998): RAPD analysis reveals a low rate of outcrossing in burr medic (*Medicago polymorpha* L.). *Genet. Resources Crop Evol.*, 45/4, 337-342.
- WALKER, A. J.; FORD, L.; MAJERUS, M. E. N.; GEOGHEGAN, I. E.; BIRCH, N.; GATEHOUSE, J. A. & GATEHOUSE, A. M. R. (1998): Characterisation of the midgut digestive proteinase activity of the two-spot ladybird (*Adalia bipunctata* L.) and its sensitivity to proteinase inhibitors. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28/3, 173-180.
- WHITTON, J.; WOLF, D. E.; ARIAS, D. M.; SNOW, A. A. & RIESEBERG, L. H. (1997): The persistence of cultivar alleles in wild populations of sunflowers five generations after hybridization. *Theor. Applied Genetics*, 95/1-2, 33-40.

- WICKE, G. (1998): Erfassung der Ackerbegleitflora und der Kulturarten durch Monitoring auf extensiv bewirtschafteten Ackerrandstreifen. In: Monitoring von Umweltwirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP). UBA Texte 77/98, Umweltbundesamt Berlin.
- WIDMER, F.; SEIDLER, R. .; DONEGAN, K. K. & REED, G. L. (1997): Quantification of transgenic plant marker gene persistence in the field. *Mol. Ecology*, 6/1, 1-7.
- WILSON, F. D.; FLINT, H. M.; DEATON, W. R.; FISCHHOFF, D. A.; PERLAK, F. J.; ARMSTRONG, T. A.; FUCHS, R. L.; BERBERICH, S. A.; PARKS, N. J. & STAPP, B. R. (1992): Resistance of cotton lines containing a *Bacillus thuringiensis* toxin to pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) and other insects. *J. Econ. Entomol.*, 85, 1.516-1.521.
- WINTERMANTEL, W. M. & SCHOELZ, J. E. (1996): Isolation of recombinant viruses between CaMV and a viral gene in transgenic plants under conditions of moderate selection pressure. *Virology*, 223/1, 156-164.
- XIONG, Z. & WENG, Z. (1996): Recombination of a transgene transcript with both the plus strand and the minus strand viral RNA in plants. BRARG (biotechnology risk assessment research grants programm) Symposia papers 1996, <http://nbiap.biochem.vt.edu>.
- YU, L.; BERRY, R. E. & CROFT, B. A. (1997): Effects of *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic cotton and potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Orbatidae). *J. Econom. Entomol.*, 90/1, 113-118.
- ZEMETRA, R. S.; HANSEN, J. & MALLORYSMITH, C. A. (1998): Potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). *Weed Science*, 46/3, 313-317.
- ZWATZ, B. (1996): Pflanzenschutz im Ackerbau. In: KÖCHL, A. (Hrsg.), Ökologische Evaluierung des ÖPUL, Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.

## ANHANG

### A.1 Vorgangsweise bei der Literaturrecherche

#### Durchsuchte Datenbanken:

CC Search ® 5 Sci. Ed. (bis Ende Februar 1999)  
CC Search ® Sci. Ed. Part 1-4 (97-97)  
MEDLINE ® Advanced 1994-1997  
Toxline Plus 1996 und 1997

#### Verwendete Suchbegriffe:

OUTCROSSING and CROP  
TRANSGENE ESCAPE  
INTROGRESSION) and CROP  
VERTICAL GENE TRANSFER  
TOX\* and TRANSGEN\* and PLANT\*  
POLLEN DISPERSAL  
TRANSGEN\* and PLANT\* and (FITNESS or SURVIVAL)  
TRANSGEN\* and MONITOR\* and PLANT\*  
TRANSGEN\* and NON-TARGET  
TRANSGEN\* and PREDATOR\*  
TRANSGEN\* and WILDLIFE  
TRANSGEN\* and FAUNA  
TRANSGEN\* and PHYTOPHAG\*  
TRANSGEN\* and ARTHROPOD\*  
TRANSGEN\* and INSECTIVOR\*  
TRANSGEN\* and HERBIVOR\*  
TRANSGEN\* and FEEDING and (PLANT\* or CROP)  
TRANSGEN\* and SOIL and PLANT\*  
SAFETY and (FIELD or CROP) and TRANSGEN\*  
TRANSGEN\* and SAFETY and PLANT\*  
TRANSGEN\* and ECOL\* and PLANT\*  
BACILLUS THURINGIENSIS AND NON-TARGET  
TRANSGEN\* and POISON\*  
VIRUS\* and TRANSGEN\* and PLANT\* and MONITOR\*  
VIRUS\* and TRANSGEN\* and RECOMBINATION  
VIRUS\* and TRANSGEN\* and RISK  
VIRUS\* and TRANSGEN\* and SAFETY

**Ausgangsseiten der Internetrecherche:**

<http://binas.unido.org/binas>

Biosafety Information Network

<http://www.oecd.org/ehs>

OECD's Work on Environmental Health and Safety

<http://europa.eu.int/comm/dg12/biot1.html>

Biotechnologie-Seite der DG XII der EU-Kommission

<http://www.ucsus.org>

Union of Concerned Scientists

<http://www.gentechnik.gv.at>

österreichische Gentechnik-Internetseite

<http://www.rki.de>

Robert Koch Institut, BRD

<http://www.bba.de>

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, BRD

<http://www.bats.ch>

Fachstelle Biosicherheitsforschung und Abschätzung der Technikfolgen des Schwerpunktprogramms Biotechnologie des schweizerischen Nationalfonds

<http://biosafety.ihe.be>

Belgian Biosafety Server

<http://www.environment.detr.gov.uk/acre>

Advisory Committee on Releases to the Environment, Großbritannien

<http://www.aphis.usda.gov/biotech>

Animal and Plant Health Inspection Service, US Department of Agriculture

<http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/biotechm.html>

Food and Drug Administration, USA

<http://nbiap.biochem.vt.edu>

National Biological Impact Assessment Programme, USA

## A.2 Fragebogen

### FRAGEBOGEN

#### Entwicklung von Grundlagen für begleitende Untersuchungen bei Freisetzungen und Inverkehrbringen gentechnisch veränderter Pflanzen in Österreich

1. Halten Sie begleitende Untersuchungen zur Abschätzung der Umweltauswirkungen von gentechnisch veränderten Pflanzen für notwendig?

	notwendig	interessant, aber nicht unbedingt notwendig	nicht notwendig
a) in geschlossenen Systemen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b) im Rahmen von Freisetzungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c) nach dem Inverkehrbringen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Was verstehen sie im Zusammenhang mit der Untersuchung gentechnisch veränderter Pflanzen unter

- a) Sicherheitsforschung?
- b) ökologischer Begleitforschung?
- c) Umweltmonitoring?
- d) Technikfolgenabschätzung?

3. Bei welchen Arten der gentechnischen Veränderung halten Sie die folgenden Untersuchungen in geschlossenen Systemen oder bei Freisetzungsversuchen für notwendig?

IR .....Insektenresistenz,                      HR .....Herbizidresistenz,  
 VR .....Virusresistenz,                      ASR .....andere Schädlingsresistenzen,  
 vl .....veränderte Inhaltsstoffe,        AR .....Antibiotikaresistenzgen

- a) Wirkung transgener Pflanzen auf Bodenorganismen:

IR     HR     VR     ASR     vl     AR     bei keinen

- b) Genübertragung auf Bodenbakterien und -pilze (horizontaler Gentransfer):

IR     HR     VR     ASR     vl     AR     bei keinen

- c) toxische Wirkungen auf pflanzenfressende Insekten und Wirbeltiere (Nichtzielorganismen):

IR     HR     VR     ASR     vl     AR     bei keinen

- d) Auswirkung auf höhere Glieder der Nahrungskette:

IR     HR     VR     ASR     vl     AR     bei keinen

- e) Abschätzung von Wahrscheinlichkeit und Folgen der Verwilderung und Auskreuzung transgener Pflanzen:

IR     HR     VR     ASR     vl     AR     bei keinen

4. Umwelteffekte transgener insektenresistenter Pflanzen:
  - a) Welche Untersuchungen in geschlossenen Systemen oder im Freiland halten Sie für wichtig, um die Wahrscheinlichkeit der Resistenzbildung bei Insekten abzuschätzen?
  - b) Welche Maßnahmen halten Sie für notwendig, um eine Resistenzbildung beim Inverkehrbringen von insektenresistenten Pflanzen zu minimieren?
  - c) Welche Untersuchungen sind notwendig, um Auswirkungen auf die Bodenfauna und auf höhere Glieder der Nahrungskette zu erfassen?
  - d) Welche Untersuchungen zur Auskreuzung und zum Auswildern transgener, insektenresistenter Pflanzen sind notwendig?
5. Umweltauswirkungen transgener herbizidresistenter Pflanzen:
  - a) Welche Maßnahmen halten Sie für notwendig, um eine Resistenzbildung von Unkräutern beim Inverkehrbringen von herbizidresistenten Pflanzen zu minimieren?
  - b) Welche Maßnahmen halten Sie für notwendig, um eine Verringerung der Artenzahl der Ackerrandflora durch eine Zunahme des Einsatzes von Totalherbiziden zu verhindern?
  - c) Welche Untersuchungen sind notwendig, um Auswirkungen auf Bodenorganismen, auch in Verbindung mit der Anwendung des Komplementärherbizids, zu erfassen?
  - d) Welche Untersuchungen zur Auskreuzung und zum Auswildern transgener, herbizidresistenter Pflanzen sind notwendig?
6. Welche Maßnahmen halten Sie für notwendig, um eine erhöhte Wahrscheinlichkeit des Entstehens neuer Pflanzenviren durch den Anbau virusresistenter Pflanzen zu minimieren?
7. Umweltauswirkungen von Pflanzen mit veränderten Inhaltsstoffen: welche Effekte sind zu erwarten, welche Parameter sollten untersucht werden?
8. Welche weiteren Untersuchungen im Rahmen eines Monitoringprogramms zu Umweltauswirkungen eines großflächigen Anbaus von transgenen Pflanzen halten Sie für sinnvoll?
9. Sollte ein Konzept für begleitende Untersuchungen allgemein spezifisch für jede einzelne Anwendung (Pflanze/Eigenschaft) entworfen werden?
10. Welche Methoden zur Untersuchung von Umweltauswirkungen transgener Pflanzen sollten standardisiert werden und wer sollte diese Aufgabe übernehmen?
11. In welchen Fällen halten Sie eine regionale Beschränkung bei der Zulassung transgener Pflanzen für den Anbau für eine notwendige Maßnahme zum Schutz der Umwelt?
12. Halten Sie eine zeitliche Befristung der Zulassung zum Inverkehrbringen für notwendig? Wenn ja, in welchen Fällen?
13. Sind Sie der Meinung, dass in Nicht-EU Ländern, in denen transgene Pflanzen bereits großflächig angebaut werden, noch länger Erfahrungen gesammelt werden sollen, bevor solche Pflanzen auch in der EU zum Anbau zugelassen werden? Wenn ja, bei welchen Pflanzen, bzw. Eigenschaften?

14. Sollte vor dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen eine Nutzen-Risiko-Analyse durchgeführt werden und, wenn ja, mit welchem Vergleichsszenario (z. B.: Literaturstudien, Vergleich mit ökologischem oder traditionellem Landbau,...)? Welche Parameter erachten Sie als sinnvoll für eine Nutzen-Risiko-Analyse?
15. Auswirkungen auf den biologischen Landbau:
  - a) Halten Sie ein Monitoring der Kontamination von Produkten aus biologischer Landwirtschaft durch Pollenflug von transgenen Pflanzen für notwendig?
  - b) Sehen Sie in dem möglichen Verlust relativ umweltfreundlicher Insektizide, wie Bacillus thuringiensis-Toxine, durch Resistenzbildung bei Insekten ein Problem für den biologischen Landbau?
  - c) Welche anderen Auswirkungen auf den biologischen Landbau sind für Sie vorstellbar?
16. Wer sollte Sicherheitsforschung in geschlossenen Systemen und im Rahmen von Freisetzungsversuchen durchführen und finanzieren?
17. Wer sollte Untersuchungen im Rahmen eines Monitoringprogramms nach dem Inverkehrbringen transgener Pflanzen durchführen und finanzieren?
18. Kennen Sie bestehende Monitoringprogramme oder Datenerhebungen, in die diesbezügliche Untersuchungen integrierbar wären?
19. Könnten Sie selbst zur Durchführung begleitender Untersuchungen personell oder finanziell etwas beitragen?

### A.3 Teilnehmerliste des Fachworkshops über Glufosinat-resistenten Raps

#### Moderation:

Dr. Angela SESSITSCH  
Bereich Lebenswissenschaften  
Österr. Forschungszentrum Seibersdorf

#### Teilnehmerinnen und Teilnehmer:

Dr. Sylvia BLÜMEL  
Inst. f. Phytomedizin  
Bundesamt u. Forschungszentrum  
f. Landwirtschaft

Dr. Helmut GAUGITSCH  
Umweltbundesamt

Dr. Alois HASLINGER  
BM f. Wissenschaft u. Verkehr  
Abt. Präs. 4

Dr. Andreas HEISSENBERGER  
Umweltbundesamt

Dr. Bernhard JANK  
Bundeskanzleramt, Sektion VI

Mag. Susanne KAMPFER  
Zentrum f. angewandte Genetik  
Universität f. Bodenkultur, Wien

Dr. Karl KIENZL  
Umweltbundesamt

DI Werner MÜLLER  
Inst. f. ökologischen Landbau  
Universität f. Bodenkultur, Wien

Dr. Anita OLSEN  
TB Agrartechnik

Mag. Katrin PASCHER  
Inst. f. Vegetationsökologie  
Universität Wien

Dr. Beatrix PFANZAGL  
Österr. Ökologie-Institut

Mag. Roland SCHAFLEITNER  
Bereich Lebenswissenschaften  
Österr. Forschungszentrum Seibersdorf

Prof. Franz SCHINNER  
Inst. f. Mikrobiologie  
Universität Innsbruck

DI Josef SCHMIDT  
Bereich Lebenswissenschaften  
Österr. Forschungszentrum Seibersdorf

Dr. Armin SPÖK  
Interuniversitäres Forschungszentrum  
f. Technik, Arbeit u. Kultur Graz

Dr. Andreas TRAXLER  
Vegetationsökologe

Dr. Klaus TRINKS  
AgrEvo

## A.4 Teilnehmerliste des Diskussionsworkshops

### Moderation:

Dr. Armin SPÖK  
Interuniversitäres Forschungszentrum f. Technik, Arbeit u. Kultur Graz

### Teilnehmerinnen und Teilnehmer:

Dr. Sylvia BLÜMEL Inst. f. Phytomedizin Bundesamt u. Forschungszentrum f. Landwirtschaft	Dr. Franziska LÖSCHENBERGER Probstdorfer Saatzucht
Dr. Helmut GAUGITSCH Umweltbundesamt	Dipl. Biol. Anne MIEHE Umweltbundesamt Berlin
Dr. Alois HASLINGER BM f. Wissenschaft und Forschung	DI Werner MÜLLER Inst. f. biologischen Landbau, Universität für Bodenkultur, Wien
Dr. Andreas HEISSENBERGER Umweltbundesamt	Dr. Beatrix PFANZAGL Österr. Ökologieinstitut
DI Josef HINTERHOLZER Inst. f. Pflanzenbau Bundesamt u. Forschungszentrum f. Landwirtschaft	Dipl. Biol. Marion POEL BM f. Umwelt, Naturschutz u. Reaktorsicherheit, Bonn
Dr. Bernhard JANK Bundeskanzleramt, Sektion VI	DI Josef SCHMIDT Bereich Lebenswissenschaften Österr. Forschungszentrum Seibersdorf
Dr. Othmar KAEPEL BATS, Basel	Dr. Angela SESSITSCH Bereich Lebenswissenschaften Österr. Forschungszentrum Seibersdorf
Ing. Hermann KOROSCHETZ TB Agrartechnik	Dr. Christian STAUFFER Inst. f. Forstentomologie Universität für Bodenkultur, Wien
DI Christian KRUMPHUBER Landwirtschaftskammer Oberösterreich	Dr. Josef TOMASICH Pioneer Saaten
Dr. Margit LAIMER Inst. f. Angewandte Mikrobiologie Universität für Bodenkultur, Wien	Dr. Andreas TRAXLER Vegetationsökologe
Dr. Christa LETHMAYER Inst. f. Phytomedizin Bundesamt u. Forschungszentrum f. Landwirtschaft	Dr. Klaus TRINKS AgrEvo
DI Rupert LINDNER Präsidentenkonferenz d. Landwirtschaftskammern	Dr. Johann VOLLMANN Inst. f. Pflanzenbau u. Pflanzenzüchtung Universität für Bodenkultur, Wien
Andreas LOINIG Interuniversitäres Forschungszentrum f. Technik, Arbeit u. Kultur Graz	DI Michael ZOKLITS Ernte für das Leben
	Dr. Bruno ZWATZ Inst. f. Phytomedizin Bundesamt u. Forschungszentrum f. Landwirtschaft

*Vertreter der Umweltorganisationen Greenpeace und Global 2000 (Friends of the earth Österreich) waren eingeladen, nahmen aber nicht teil.*

## A.5 Glossar

**Arthropoden:** Gliedertiere, wie Insekten, Milben, Spinnen, Asseln, Tausendfüßer

**chromosomale DNA:** DNA, die den überwiegenden Teil der Erbinformation trägt

**DNA:** Desoxyribonucleinsäuren, Erbsubstanz

**Expression eines Gens:** Übersetzung des Gens in ein Genprodukt (RNA oder Protein)

**Genom:** gesamte Erbsubstanz einer Zelle

**Genprodukt:** Endprodukt der Abschrift eines Gens (RNA oder Protein)

**heterologe Enkapsidierung:** Verpackung viraler RNA oder DNA in das Hüllprotein eines anderen Virus

**homologe DNA-Sequenzen:** DNA-Abschnitte mit gleicher Sequenz

**horizontaler Gentransfer:** Gentransfer durch DNA-Übertragung von einem Organismus auf einen anderen Organismus, der nicht sein Nachkomme ist

**Plasmid-DNA:** extrachromosomale ringförmige DNA-Moleküle, häufig bei Bakterien

**Posttranslationale Modifikation:** Modifikation von zellulären Proteinen nach ihrer Synthese, z. B. durch Addition von Zuckerresten

**Promotor:** vor dem Anfang der proteinkodierenden Sequenz liegende DNA-Sequenz, an die RNA-Synthese-Enzyme binden müssen, um die RNA-Synthese zu beginnen

**Protein:** Eiweiß

**Rekombination:** Umorganisation von DNA durch Schnitt und neue Verknüpfung

**Ribosomen:** Komplexe aus Proteinen und RNA, die mit RNA als Vorlage Proteine synthetisieren

**RNA:** Ribonucleinsäuren, DNA-Abschrift, die z. B. als Anleitung für die Synthese von Proteinen dienen

**16S-rRNA:** Bestandteil der kleinen Untereinheit bakterieller Ribosomen (Proteinsynthesekomplexe). Sie kann zur Erstellung von Stammbäumen verwendet werden, da sie in allen Bakterien vorkommt und sich im Laufe der Evolution nur langsam verändert hat  
**somaklonale Variation:** genetische Verschiedenheit der Einzelzellen eines mehrzelligen Organismus, die durch Mutationen in der DNA der Einzelzellen entstanden ist

**T-DNA:** DNA von *Agrobacterium tumefaciens*, die bei der Infektion auf Pflanzen übertragen wird

**Transformation:** Übertragung von DNA in Zellen

**Transposon:** im Genom mobile DNA-Sequenzen

**vertikaler Gentransfer:** Gentransfer auf Nachkommen