

Österreichische Akademie der Wissenschaften
Forschungsstelle für Technikbewertung



Federal Environmental Agency Austria

BEURTEILUNGSKRITERIEN FÜR FREISETZUNGEN GENTECHNISCH VERÄNDERTER ORGANISMEN

Vorschläge für eine Vorgangsweise zur Bewertung von Freisetzungsanträgen in Österreich

Helge TORGERSEN
Alois PALMETSCHOFER
Helmut GAUGITSCH

**MONOGRAPHIEN
BAND 39**

Wien, September 1993

Bundesministerium für Umwelt, Jugend und Familie



Durchführung: Dr. Helge Torgersen
Dr. Alois Palmethofer
(Forschungsstelle für Technikbewertung,
Österr. Akademie der Wissenschaften)

Projektleitung: Dr. Helmut Gaugitsch (Umweltbundesamt)

Editorische Betreuung,
Graphik und Layout: Nancy Cao, Manuela Kaitna, Johannes Mayer (alle UBA)

Übersetzung: Andrew Poulter

Titelfotos: Kurt Farasin, Rapsfeld – *mit gentechnisch veränderten Rapspflanzen finden zurzeit die meisten Freisetzungen statt*
Helmut Gaugitsch, Kühe – *an diesen Nutztieren laufen zurzeit gentechnische Experimente zur Gewinnung von Pharmazeutika aus der Milch*
H. Berg und G. Fonte, E. coli-Bakterium – *Standard-Bakterium in der gentechnischen Forschung*

Eine Studie im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt, 1090 Wien, Spittelauer Lände 5
Druck: Styria, A-8011 Graz

© Umweltbundesamt, Wien, September 1993
Alle Rechte vorbehalten
ISBN 3-85457-127-5

ZUSAMMENFASSUNG	1
SUMMARY	3
1 EINLEITUNG	7
1.1 GENTECHNISCH ODER GENETISCH VERÄNDERTE ORGANISMEN	8
1.2 SICHERHEITSKONZEPTE	9
1.2.1 Die EG-„Freisetzungs“-Richtlinie 90/220	10
1.3 PROBLEME BEI DER UMSETZUNG	10
1.4 MOTIVATION UND AUFTRAG DER VORLIEGENDEN STUDIE	11
1.5 INHALT DER STUDIE	13
1.6 DANKSAGUNG	13
2 ARBEITSGRUPPEN ZUR FREISETZUNG VON GENTECHNISCH VERÄNDERTEN MIKROORGANISMEN, PFLANZEN UND TIEREN	15
2.1 AUSGANGSPUNKT: WORKSHOP „FREISETZUNG GENTECHNISCH VERÄNDERTER ORGANISMEN, WEGE ZUR BEURTEILUNG ÖKOLOGISCHER AUSWIRKUNGEN“ ..	15
2.2 ARBEITSGRUPPE „MIKROORGANISMEN“	17
2.2.1 Teilnehmer und Arbeitsweise	17
2.2.2 Freisetzung von gentechnisch veränderten <i>Clavibacter xyli</i> var. <i>cynodontis</i> mit einem Gen für das Endotoxin-Protein von <i>Bacillus thuringiensis</i>	18
2.2.2.1 Ausgangspunkt	18
2.2.2.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe	21
2.2.2.3 Resümee	28
2.2.3 Freisetzung eines rekombinanten Rabies-(Tollwut-)Impfstoffs auf Basis von Vaccinia-Virus	29
2.2.3.1 Ausgangspunkt	29
2.2.3.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe	30
2.2.3.3 Resümee	35
2.2.4 Freisetzung von <i>Rhizobium leguminosarum</i> var. <i>viciae</i> mit einem Markergen	36
2.2.4.1 Ausgangspunkt	36
2.2.4.2 Frühere Freisetzungen von <i>Rhizobium</i> in den USA	36
2.2.4.3 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe	38
2.2.4.4 Resümee	46
2.2.5 Ergebnisse der Arbeitsgruppe Mikroorganismen	46
2.2.5.1 Anforderungen an die Beurteilungskriterien	48
2.3 ARBEITSGRUPPE „PFLANZEN“	48
2.3.1 Teilnehmer und Arbeitsweise	48
2.3.2 Freisetzung von Tabakpflanzen (<i>Nicotinia tabacum</i>) mit Markergenen (GUS- und NPTII)	49
2.3.2.1 Ausgangspunkt	49
2.3.2.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220	50
2.3.2.3 Resümee	61

2.3.3	Freisetzung von Kartoffelpflanzen (<i>Solanum tuberosum</i>) mit dem Gen für das insektizide Protein <i>Cecropin</i>	61
2.3.3.1	Ausgangspunkt	61
2.3.3.2	Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220	62
2.3.3.3	Resümee	71
2.3.4	Freisetzung von Marillenbäumen (<i>Prunus armeniaca</i>) mit Resistenz gegen die Sharka-Virose	71
2.3.4.1	Ausgangspunkt	71
2.3.4.2	Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220	72
2.3.4.3	Resümee	81
2.3.5	Vorschläge der Arbeitsgruppe "Pflanzen"	82
2.3.5.1	Anforderungen an die Beurteilungskriterien	84
2.4	ARBEITSGRUPPE "TIERE"	85
2.4.1	Teilnehmer und Arbeitsweise	85
2.4.2	Allgemeine Bestimmungen zur Freisetzung transgener Tiere	86
2.4.2.1	Zuchtbedingungen	86
2.4.2.2	Geschlossenes System	86
2.4.2.3	Freisetzung	87
2.4.2.4	Stufenprinzip	87
2.4.2.5	Kleiner Maßstab	87
2.4.2.6	Großer Maßstab	87
2.4.2.7	Inverkehrbringen	88
2.4.2.8	Einteilung in Kategorien	88
2.4.2.9	Vereinfachtes Verfahren	89
2.4.2.10	Kommission	89
2.4.3	Anforderungen an die Beurteilungskriterien (nach K. Schellander, F. Führer)	90
2.5	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE DER ARBEITSGRUPPEN	92
3	MONITORING	95
3.1	ZWECK DES MONITORING	96
3.2	ALLGEMEINE PRINZIPIEN FÜR DAS MONITORING	96
3.2.1	Experimentelle Planung	97
3.2.2	QUALITÄTSKRITERIEN FÜR MONITORINGTECHNIKEN	97
3.3	MONITORING VON MIKROORGANISMEN	97
3.3.1	Methoden	98
3.3.1.1	Plattierung	98
3.3.1.2	Mikroskopie	99
3.3.1.3	Markergene	100
3.3.1.4	Nukleinsäure-Techniken	100
3.3.1.5	Bewertung von Monitoring-Methoden für Mikroorganismen (nach Drahos, 1991)	101
3.3.2	Beispiele	102
3.3.3	Zukünftige Aufgaben	103
3.4	MONITORING VON VIRALEN IMPFSTOFFEN FÜR DIE IMMUNISIERUNG VON WILDTIEREN	104
3.4.1	Monitoring-Methoden für virale Impfstoffe	105

	INHALT	Seite
3.5	MONITORING VON PFLANZEN	105
3.5.1	Untersuchungsparameter für das Monitoring	105
3.5.2	Methoden	107
3.5.3	Beispiele	108
3.5.4	Methodenkatalog für die Beurteilung des ökologischen Risikos genetisch veränderter Pflanzen	108
3.5.4.1	Leitprinzipien für das Monitoring von Pflanzen	109
3.6	MONITORING VON TIEREN	110
3.6.1	Das Monitoring von transgenen Fischen	110
3.6.1.1	Beispiel	111
3.6.2	Das Monitoring von terrestrischen Arthropoden	111
3.7	BEURTEILUNG VON PLÄNEN FÜR DAS MONITORING BEI ANTRÄGEN AUF FREISETZUNG	111
4	INTERNATIONALE REGELUNGEN ZUR FREISETZUNG	113
4.1	GRUNDLEGENDE KONZEPTE FÜR DIE RISIKOABSCHÄTZUNG	113
4.1.1	OECD	113
4.1.1.1	Good Developmental Principles	113
4.1.1.2	Neuere Entwicklungen: Scale Up	118
4.1.2	Europarat: Ecological Impact Of Genetically Modified Organisms	122
4.1.3	Royal Commission on Environmental Pollution: GENHAZ	127
4.1.4	U.S. Ecological Society: The Planned Introduction of Genetically Modified Organisms; Ecological Considerations and Recommendations	129
4.1.5	U.S. National Research Council: Field Testing of Genetically Modified Organisms: Framework for Decisions	131
4.2	RICHTLINIEN UND GESETZLICHE REGELUNGEN	132
4.2.1	Regelung in der EG: Die Freisetzungsrichtlinie 90/220	133
4.2.1.1	Umsetzung der Richtlinie 90/220 in Großbritannien	135
4.2.1.2	Regelung in Dänemark	139
4.2.1.3	Regelung in Deutschland	140
4.2.1.4	Regelung in Frankreich	141
4.2.1.5	Regelung in den Niederlanden	141
4.2.2	Regelungen in EFTA-Ländern	142
4.2.2.1	Regelung in Norwegen	142
4.2.2.2	Regelung in der Schweiz	144
4.2.3	Regelungen in außereuropäischen Ländern	145
4.2.3.1	USA	145
4.2.3.1.1	FDA: Novel Foods	147
4.2.3.1.2	USDA: Supplement to Minutes	149
4.2.3.1.3	EPA: Regelung von biologischen Pestiziden	152
4.2.3.2	Vergleich zwischen der Regulierung der EG und der USA	155
4.2.3.3	Australien	157
5	SCHLUSSFOLGERUNGEN	163
5.1	VORAUSSETZUNGEN	163

INHALT

Seite

5.2	ERFAHRUNGEN: DURCHFÜHRBARKEIT VON RISIKOABSCHÄTZUNGEN	164
5.2.1	Erfahrungen, die eine Risikoabschätzung vereinfachen	164
5.2.2	Verbleibende Fragen, die eine Risikoabschätzung erschweren	167
5.3	MÖGLICHKEITEN FÜR DIE BEURTEILUNG	169
5.3.1	Empfehlungen für eine Vorgangsweise	169
5.3.2	Inhaltliche Schwerpunkte bei der Risikoabschätzung	172
5.3.3	Ökologische Beurteilung	173
5.4	ERGEBNISSE DER ARBEITSGRUPPEN, VORSCHLÄGE FÜR MODIFIZIERUNGEN DES ANHANGS II DER EG-RICHTLINIE 90/220	174
5.4.1	Empfehlungen für die Beurteilung von Mikroorganismen	174
5.4.2	Empfehlungen für die Beurteilung von Pflanzen	177
5.4.2.1	Vorschlag für einen Kriterienkatalog zur Beurteilung von Freisetzungen transgener Pflanzen	179
5.4.3	Empfehlungen für die Beurteilung von Tieren	183
5.4.3.1	Vorschlag für einen Kriterienkatalog zur Beurteilung von Freisetzungen transgener Tiere (nach K. Schellander und F. Führer)	184
5.5	VORGANG DER RISIKOABSCHÄTZUNG	189
5.6	SCHLUSSBEMERKUNG	191
6	LITERATUR	192
	ANHANG	199
	VOR EINER FREISETZUNG ANZUGEBENDE INFORMATIONEN NACH ANHANG II DER RICHTLINIE 90/220	199

ZUSAMMENFASSUNG

Im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 zur Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen (GVO) werden die für eine Vorabbewertung des Versuchs geforderten Informationen aufgelistet, die der Antragsteller anzugeben hat. Es hat sich gezeigt, daß dieser Katalog in der Praxis zu verschiedenen Interpretationen führt, welche Anforderungen an die Risikoabschätzung im Rahmen der Vorabbewertung zu legen sind. Außerdem bestehen gewisse Defizite bei der Abschätzung der ökologischen Auswirkungen und insbesondere der Langzeitfolgen. Die Richtlinie wäre laut EWR-Vertrag in Österreich inhaltlich umzusetzen, es bleibt dabei, wie sich auch in einigen EG-Ländern gezeigt hat, ein gewisser Spielraum in der Vorgangsweise. Es sollte daher eine auf die spezifische Situation Österreichs abgestimmte Risikoabschätzung von Anträgen auf Freisetzung von GVO durchgeführt werden.

Aus diesem Grund hat sich das Umweltbundesamt gemeinsam mit der Forschungsstelle für Technikbewertung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften mit der Frage beschäftigt, wie und auf der Basis welcher spezifischer Kriterien eine solche Risikoabschätzung am besten durchzuführen wäre. Als Ergebnis eines gemeinsam mit österreichischen und internationalen Fachleuten zu diesen Problemen abgehaltenen Workshops wurden drei Arbeitsgruppen von in Österreich in verschiedenen naturwissenschaftlichen Disziplinen tätigen Experten gebildet, die die Problematik jeweils für transgene Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere getrennt weiterbehandelten. Dabei wurden fiktive Anträge zur Freisetzung von bestimmten gentechnisch veränderten Organismen anhand der Kriterien des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 untersucht. Soweit wie möglich wurden dazu Organismen herangezogen, bei denen eine Freisetzung in Österreich in der Zukunft bereits geplant oder zu erwarten ist. Die drei Arbeitsgruppen erstellten Vorschläge für die weitere Vorgangsweise im Hinblick auf eine Konkretisierung des Kriterienkataloges der EG.

Um bessere Möglichkeiten zur Abschätzung des Verhaltens von GVO im Freiland und auch von "seltenen" und Langzeiteffekten zu erhalten, wurden außerdem die derzeitigen Methoden für ein Monitoring von Organismen und Genen in der Umwelt beleuchtet. Die Anwendung verschiedenster Detektionsmethoden im Rahmen von Monitoringprogrammen dient sowohl dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn (Verhalten von Organismen und Genen in der Umwelt), als auch der Überprüfung der im Versuch vorgesehenen Begrenzungsmaßnahmen und gegebenenfalls der Überprüfung, ob nach Versuchsende der GVO aus der Umwelt entfernt wurde. Geeignete Monitoringprogramme sollten daher auch in Österreich integrale Bestandteile jedes Freisetzungsvorhabens mit GVO sein.

Da es bereits beträchtliche Erfahrungen mit der Beurteilung von GVO, insbesondere von Nutzpflanzen, vor allem in den USA, aber auch in anderen Ländern gibt, wurden weiters internationale Richtlinien und gesetzliche Regelungen dahingehend untersucht, ob sie neben der EG-Richtlinie Anhaltspunkte für eine österreichische Vorgangsweise liefern könnten. Desgleichen wurden die Vorschläge einiger wissenschaftlicher und internationaler Institutionen (insbesondere der OECD und des Europarates) betrachtet. Die von den Antragstellern in den verschiedensten Ländern mitzuteilenden Informationen sind zwar sehr ähnlich, die Vorgangsweisen zur Risikoabschätzung jedoch oft unterschiedlich.

Auf der Basis der Empfehlungen der österreichischen Wissenschaftler wurden vor dem Hintergrund internationaler Regelungen und Richtlinien Vorschläge für die Konkretisierung des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 erstellt, und zwar jeweils getrennt für Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere. Es zeigte sich, daß es aufgrund unterschiedlicher Interpretationen der Folgen von Freisetzungen transgener Mikroorganismen derzeit schwierig ist, eine einheitliche Vor-

gangsweise zu empfehlen; dennoch konnten einige generelle Vorschläge gemacht werden. So sollten die Empfängerorganismen umfassender beschrieben und auch das genetische Umfeld (Phagen und Plasmide) miteinbezogen werden. Desgleichen ist mehr Gewicht auf die genauere Kenntnis eines Organismus zu legen. Die genetische Konstruktion des GVO, einschließlich möglicher sicherheitsrelevanter Aspekte, sollte zusammenhängend dargestellt werden. Darüber hinaus wurde eine allgemeine Empfehlung ausgesprochen, Antibiotikaresistenzmarker zu vermeiden. Die ökologischen Auswirkungen von Gentransferereignissen können bedeutend sein. In einem Freisetzungsantrag sollten daher Angaben enthalten sein, die die möglichen Effekte beleuchten, falls das eingeführte Gen außerhalb des GVO in der Umwelt verbleibt. Da Unsicherheiten in der Beurteilung von Freisetzungen transgener Mikroorganismen unter anderem auch aus der mangelnden Kenntnis auf dem Gebiet der mikrobiellen Ökologie resultieren, sollte die Forschung auf diesem Gebiet intensiviert werden. Eine Adaptierung des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 wird zurzeit nicht als nötig empfunden, da dieser ohnehin im wesentlichen auf Mikroorganismen ausgerichtet ist. Zunehmende Erfahrung wird hier erst in der Zukunft eine Differenzierung nach Organismengruppen (Viren, Bakterien etc.) bzw. nach Anwendungsgebieten (Impfstoffe, Biopestizide, Biologische Düngemittel etc.) ermöglichen.

Wesentlich detaillierter waren die Vorschläge der Arbeitsgruppe für Pflanzen, die es erlaubten, eine überarbeitete Version des Anhangs II zumindest für transgene Nutzpflanzen zu erstellen. Auch hier findet sich die Forderung nach einer genaueren Kenntnis der Pflanzen. Außerdem soll in einem Antrag auf das für dieses Experiment Neue, Charakteristische wesentlich stärker hingewiesen werden. In verschiedenen Anträgen sich wiederholende Angaben (etwa für den verwendeten Empfängerorganismus) sollten durch Literaturverweise ersetzt werden können. Daten über die Umwelt sollen stärkere Berücksichtigung finden; es wurde angeregt, charakteristische Biotope in einem österreichweiten Kataster zu definieren. Die Datenanforderungen wurden neu gruppiert, eine schärfere Trennung zwischen den Anforderungen an experimentelle Freisetzungen in kleinem Rahmen und solchen in großem Maßstab wurde gefordert. Schließlich sollen Monitoring-Maßnahmen integraler Bestandteil der Versuchsplanung sein.

Auch die Arbeitsgruppe für transgene Tiere erarbeitete detaillierte Vorschläge, die es erlaubten, eine adaptierte Version des Anhangs II, zumindest für große transgene Nutztiere, zu erstellen. Die Freisetzung derartiger Tiere wirft vor allem züchterische Probleme auf. Der Vorschlag der Arbeitsgruppe für Tiere legt daher vor allem Wert auf eine eindeutige Charakterisierung der GVO. Diese Tiere befinden sich nicht in einem geschlossenen System, obwohl ihre Rückholbarkeit gesichert ist, weil unbeabsichtigte Fortpflanzung nicht ausgeschlossen werden kann. Gänzlich anders ist die Situation für transgene Tiere wie Fische oder Insekten, deren Rückholbarkeit äußerst fraglich ist. Es werden daher vier Kategorien von Tieren aufgestellt, die jeweils unterschiedliche Anforderungen an die Sicherheitsmaßnahmen im Rahmen einer Freisetzung stellen.

SUMMARY

The deliberate release of genetically modified organisms (GMOs) into the environment remains controversial. Critics argue that because not all characteristics of GMOs can be assessed in advance, serious consequences for the environment and human health cannot be excluded. Defenders of the technique counter that experience has been gained in handling several of the parental organisms. Moreover, genetic modifications can be introduced with greater precision by genetic engineering techniques. Proponents believe that the inherent risk is no higher than in other technologies and maintain that the deliberate release of GMOs should not be prevented in view of the expected benefits.

Although many studies attempt to evaluate the actual risk entailed in the deliberate release of GMOs, it is impossible to give a general answer to this question. This is because the specific risk depends on many parameters such as the parental organism, the introduced gene, the method of the genetic modification, the characteristics of the resulting GMO and, last but not least, the environment. Consequently, an internationally accepted compromise has been established: planned releases are notified and assessed in advance in order to evaluate the actual risks and to guarantee suitable risk management. On this basis, to date, about 1000 release experiments with different GMOs have been performed throughout the world.

Nearly all industrialised countries have established a scheme for the notification and risk assessment procedure. All regulations aim at minimising the risk for the environment and human health.

There are at present no regulations for the deliberate release of GMOs in Austria. However, it is to be expected that GMOs or products consisting of GMOs (vaccines, food, biopesticides etc.) will be released in the near future. As in other industrialised countries, release applications will have to be authorised. The necessary risk assessment is to be performed according to international standards, taking into account the local particularities.

Annex II of the EC Directive 90/220 on the deliberate release of genetically modified organisms into the environment offers a comprehensive list of details which an applicant has to give to facilitate a preliminary assessment of the proposed release experiment. However, this catalogue of information is open to different interpretations by the authorities in adopting a risk assessment procedure. Moreover, there are certain difficulties with regard to the assessment of ecological effects, especially the long term effects. The EEA Treaty obliges Austria to implement the directive, although, as can be seen in other EC-countries, there is a certain amount of freedom. Thus, it should be possible to work out a solution for Austria for the risk assessment of the deliberate release of genetically modified organisms (GMOs).

Consequently, the Federal Environmental Agency, together with the Research Institute of Technology Assessment of the Austrian National Academy of Sciences, initiated a project to evaluate how and with what specific criteria such a risk assessment might be performed in Austria in the future. A Workshop, bringing together Austrian and international experts, resulted in the establishment of three Working Groups. In these Working Groups scientists representing different biological disciplines treated the subject separately for the release of transgenic microorganisms, plants and animals. In most cases hypothetical applications for the release of certain GMOs were analysed on the basis of annex II of the EC directive 90/220. Where possible, examples of GMOs were used where a release in Austria is planned or can be expected for the future. The three Working Groups elaborated suggestions for further adaptations of the catalogue of criteria (Annex II) of the EC directive.

In order to improve the assessment of the behaviour of GMOs and their specific and long-term effects on the environment, the currently available methods for an efficient monitoring of GMOs and their genetic material have been analysed. The application of various detection methods in the course of monitoring programmes helps in obtaining valuable scientific data on the behaviour of organisms and genetic material in the environment. On the other hand, the effectiveness of the confinement measures can be checked as well as the complete or sufficient elimination of GMOs from the environment where necessary.

Since a certain amount of experience in evaluating GMOs, especially crop plants, has been gained in the USA and in other countries, the guidelines and regulations of these countries have also been analysed where they include additional points worth considering in terms of a future Austrian way of handling release applications of GMOs. Similarly, recommendations of some scientific and international institutions (especially the OECD and the Council of Europe) have been discussed. The requirements regarding the information which an applicant has to provide in various countries are similar in most cases; however, the risk assessment procedure itself can differ markedly.

Based on the recommendations of the Austrian scientists in the Working Groups and taking into account international guidelines and regulations, separate recommendations for microorganisms, plants and animals have been elaborated, thereby specifying Annex II of the EC directive 90/220. Due to the different approach in the interpretation of the ecological impact of releases of transgenic microorganisms, it proved impossible to establish consistent and detailed criteria for the evaluation. However, several more general recommendations have been made. The recipient microorganism should be described in a broader sense to include the genetic surroundings (naturally occurring phages, plasmids). The concept of "familiarity" with the recipient microorganism should be stressed. The construction of the genetic elements introduced into the microorganism should be described in one text as in a scientific paper. A general recommendation has been made by the Working Group to avoid antibiotic resistance markers for the future. Because gene transfer can be of ecological significance, an application for the release of a genetically modified microorganism should include an evaluation of the possible effects if the introduced gene remains in the environment outside the GMO. Since the evaluation of releases of transgenic microorganisms is rendered uncertain by the incomplete knowledge in microbial ecology, research in this area should be intensified. A specification of Annex II of the EC directive 90/220 is currently not regarded as necessary for microorganisms because Annex II has been prepared especially for the evaluation of microorganisms. Additional experience gained in the course of time will make it possible to differentiate between certain groups of organisms (viruses, bacteria etc.) or fields of application (vaccines, biopesticides, biofertilisers etc.).

The more detailed recommendations of the Working Group on plants led to a revised version of Annex II, covering transgenic crop plants. The concept of "familiarity" with the parent plant was also regarded as very useful as a basis for the evaluation of the GMO. The applicant should emphasise the new characteristics of the organism and the experiment. Information which merely repeats the data already given in previous applications (for example the description of the recipient organism) is to be given by literature citations. There was a recommendation to include more data on the environment where the release is planned to take place. This should be made possible by the preparation of an Austrian map of specific ecosystems. In the new version of Annex II certain information requirements have been regrouped: Generally, it was stated that the requirements depend on the scale of the planned release (small-scale or large-scale). A monitoring programme will form an integral part of the experiment.

The Working Group on animals also elaborated detailed recommendations which made it possible to work out a revised version of Annex II, at least for transgenic farm animals. The problems of the release of big transgenic farm animals are integrally connected with breeding problems.

The suggestions of the Working Group therefore stress the detailed characterisation of the animal. Unintended reproduction cannot be completely excluded so that the animals are not truly contained, although it should be possible to recapture them if they escape. The situation with transgenic fish or insects is totally different: once they escape they cannot be brought back to contained facilities. As a result, four categories of animals are proposed, each requiring different safety measures in the course of a release.



1 EINLEITUNG

Die "Freisetzung", also das absichtliche Ausbringen gentechnisch veränderter Mikroorganismen, Pflanzen oder Tieren in die Umwelt ist ein nach wie vor umstrittenes Thema. Kritiker führen an, daß nicht alle Eigenschaften von gentechnisch veränderten Organismen im vorhinein abzuschätzen seien, schwerwiegende Auswirkungen auf die Umwelt und die Gesundheit des Menschen ließen sich nicht ausschließen. Andere halten diese Befürchtungen für übertrieben, weil die verwendeten Ausgangsorganismen gut bekannt und die Veränderungen genau bestimmbar seien; Einschränkungen seien angesichts des erwarteten Nutzens daher fehl am Platz.

Welche Risiken mit der Freisetzung von gentechnisch veränderten Organismen tatsächlich verbunden sind, war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (FIKSEL und COVELLO, 1988; SUSSMAN et al., 1988; KLINGMÜLLER, 1988; MOONEY und BERNARDI, 1990; GINZBURG, 1991; CASPER und LANDSMANN, 1992; siehe auch UNITED STATES CONGRESS, OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT (OTA), 1988; FINCHAM und RAVETZ, 1991; sowie UMWELTBUNDESAMT, 1991). Es erscheint unmöglich, diese Frage generell zu beantworten, da das Risiko jeweils vom Ausgangsorganismus, dem eingeführten Gen, der Methode der gentechnischen Veränderung, den jeweiligen Eigenschaften des entstandenen Organismus und nicht zuletzt von den Umweltbedingungen abhängt, denen der gentechnisch veränderte Organismus ausgesetzt wird. Eine international übliche Kompromißlösung besteht daher darin, geplante Freisetzungen im vorhinein anzumelden und einer Begutachtung zu unterziehen, um die tatsächlich damit verbundenen Risiken möglichst genau abzuschätzen und entsprechende Sicherheitsmaßnahmen ergreifen zu können. Auf diese Weise wurden bisher schätzungsweise an die tausend Freisetzungsexperimente mit verschiedenen gentechnisch veränderten Organismen durchgeführt.

Es gibt für die Anmeldung und Risikoabschätzung inzwischen in fast allen Industriestaaten behördliche Vorschriften oder zumindest Richtlinien, deren Einhaltung obligatorisch ist (DÜVELL, 1990; V.D. MEER, 1991; UMWELTBUNDESAMT, 1991). Alle Regelungen haben zum Ziel, mögliche Gefahren für die Umwelt und den Menschen so genau wie möglich zu beurteilen und so weit es geht zu minimieren.

Bisher gab es in Österreich keine derartigen Vorschriften. Allerdings ist mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß gentechnisch veränderte Organismen in absehbarer Zeit auch in Österreich freigesetzt oder daß Produkte (Impfstoffe, Lebensmittel, biologische Schädlingsbekämpfungsmittel etc.), die gentechnisch veränderte Organismen enthalten oder daraus bestehen, zum Verkauf angemeldet werden (das sogenannte "Inverkehrbringen"). Wie auch in anderen Industriestaaten üblich, soll dies zulassungspflichtig werden, wobei auf die Besonderheiten des Landes Rücksicht zu nehmen ist (siehe die Ergebnisse der Enquete-Kommission zur Technikfolgen-Abschätzung am Beispiel der Gentechnik, ÖSTERREICHISCHER NATIONALRAT, 1992). Damit ergibt sich die Notwendigkeit, eine Risikoeinschätzung nach internationalen Standards unter besonderer Berücksichtigung der österreichischen Gegebenheiten durchzuführen.

Allerdings erschweren grundsätzliche Unklarheiten über die ökologischen Auswirkungen von Freisetzungen die Beurteilung. Außerdem entstehen Probleme aus der Verschiedenheit der zu beurteilenden Organismen und der ökologischen Gegebenheiten. Dies hat in anderen Ländern (z. B. in Deutschland) zu schweren Kontroversen in der Öffentlichkeit und zu großen Schwierigkeiten bei der Entscheidungsfindung durch die Behörden geführt, die für die Genehmigung von Freisetzungen zuständig sind. Angesichts dieser Schwierigkeiten und der Kontroversen über Freisetzungen in anderen Ländern erscheint es sinnvoll, sich rechtzeitig, also noch vor dem Einbringen eines Antrags auf Freisetzung, zu überlegen, wie diese Risikoeinschätzung durchzuführen wäre.

1.1 GENTECHNISCH ODER GENETISCH VERÄNDERTE ORGANISMEN?

Zunächst stellt sich die Frage, was ein "gentechnisch veränderter Organismus" ist. Unter dem englischen Begriff "genetically modified organism" versteht man ein Lebewesen, das "gentechnisch", also mit Hilfe rekombinanter DNA-Technologie neue Eigenschaften erhalten hat; "genetisch verändert" (in der wörtlichen Übersetzung) ist im Grunde jeder Organismus, dessen vererbte Eigenschaften vom Menschen beeinflusst wurden, gleich mit welcher Technik, sodaß eigentlich alle domestizierten Nutzorganismen darunter zu verstehen wären. In der vorliegenden Studie soll der Begriff "gentechnisch verändert" synonym mit "transgen" (d. h. mit einem fremden Gen versehen) gebraucht werden. Ein "gentechnisch veränderter Organismus" (in der Folge GVO) ist also einer, der mit Hilfe rekombinanter DNA-Technologie hergestellt wurde.

Die Grenze zwischen gentechnisch veränderten und durch konventionelle Techniken beeinflussten Organismen wird (in Europa) meist dort gezogen, wo die Gentechnik Möglichkeiten für Kombinationen eröffnet, die "auf natürlichem Wege nicht zustande gekommen" wären (RAT DER EG, 1990b). Allerdings ist dieses Kriterium nicht eindeutig; es ist von vornherein nicht mit Sicherheit festzustellen, was in der Natur jemals vorkommen kann, dies hängt auch davon ab, welcher Zeitraum betrachtet wird.

In erster Linie bezieht sich das Kriterium auf die Übertragung von Erbmaterial einer Spezies über die natürlichen Artgrenzen hinweg auf eine nicht verwandte andere. Inwieweit dieser Prozeß in der Natur vorkommt, hängt von der Art des Organismus ab. Ein derartiger "horizontaler Gentransfer" (siehe z. B. BACKHAUS, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992) ist z. B. zwischen Mikroorganismen recht häufig, für die Übertragung von Pflanzen auf Pilze könnte es Hinweise geben (HOFFMANN et al., 1992), über einen Transfer zwischen Pflanzen wurde nie berichtet. Es kann prinzipiell auch nicht ausgeschlossen werden, daß auf natürlichem Weg (mit Hilfe von Viren oder mobilen genetischen Elementen) "fremde" Gene zufällig in das Genom von Tieren gelangen. Die meisten genetischen Veränderungen, die durch gentechnische Eingriffe hervorgerufen werden, wären aber in der Natur extrem unwahrscheinlich, weil die erwähnten Vorgänge selten und ungezielt ablaufen. Die molekulargenetischen Veränderungen mit Hilfe gentechnischer Methoden können dagegen sowohl schneller als oft auch spezifischer durchgeführt werden, als dies über natürlich auftretende ungerichtete Mutationen und Umlagerungen im Genom und anschließende Selektion möglich wäre. Ob die gentechnisch entstandenen Organismen auch die erwarteten Eigenschaften besitzen, muß aber erst deren Überprüfung ergeben.

Andere Eingriffe mit Hilfe rekombinanter DNA-Technologie können zu Resultaten führen, die in der Natur mit größerer Wahrscheinlichkeit anzutreffen sind, wie bestimmte Deletionen, Austausch einzelner Basen oder Umlagerungen innerhalb des genetischen Materials einer Spezies. Dies fällt daher in vielen Ländern nicht mehr unter den Begriff der "gentechnischen Veränderung".

Diese Abgrenzung anhand der "Natürlichkeit" der Veränderung wirft also Anwendungsprobleme auf und einige Länder, insbesondere die USA, verzichten (theoretisch) völlig darauf. Sie betrachten die Eigenschaften eines Organismus, ungeachtet der Methoden, mit denen er hergestellt wurde, und unterscheiden nach Typ und Einsatzgebiet (Nahrungsmittel, Pestizide etc.). In Europa dagegen steht nach wie vor die Tatsache der Anwendung gentechnischer Methoden im Vordergrund, weil mit diesen weitaus schwerwiegendere Veränderungen herbeigeführt werden können und es für die Beurteilung wichtig ist zu wissen, wie der Organismus hergestellt wurde. Obwohl diese Diskrepanz gravierend erscheint, hat sich inzwischen herausgestellt, daß die Unterschiede in der Beurteilung nicht so groß sind, wie zu erwarten wäre (siehe Kapitel 4).

Die Diskussion zwischen europäischen und amerikanischen Fachleuten für die Beurteilung von Freisetzungen war bisher von der Frage geprägt, ob alle gentechnisch veränderten Organismen

vor einer Freisetzung zu beurteilen wären (Standpunkt der EG) oder nur solche, die eine Gefahr darstellen, unabhängig von ihrer Herstellung (Standpunkt der USA) (LAKE, 1991). Welche das sind, wird in den USA aufgrund von zahlreichen, nach Anwendungsgebiet unterschiedlichen Kriterien bestimmt. Es hat sich gezeigt, daß es zuweilen Unterschiede zwischen amerikanischen und europäischen Behörden in der Praxis der Beurteilung ähnlicher Fälle gibt (JASANOFF, 1993; LEVIDOW, 1993). Allerdings verlangen die Richtlinien in allen Ländern im Prinzip ähnliche Informationen vom Antragsteller, sodaß die Unterschiede eher in der Interpretation zu liegen scheinen.

1.2 SICHERHEITSKONZEPTE

Die Risiko-Identifizierung, die Risiko-Bewertung und darauf aufbauend das Risiko-Management sollen den sicheren Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen gewährleisten. Insbesondere die Tatsache, daß einmal freigesetzte Organismen meist nicht mehr rückholbar sind, erfordert eine umsichtige Vorgangsweise. Nach Übereinkunft der OECD-Mitgliedsstaaten sind hierfür die "Good Developmental Principles" einzuhalten (OECD, 1992a). Ein Kernpunkt der darin empfohlenen Sicherheitsmaßnahmen ist das sogenannte "Stufenprinzip", wonach vor einer unbeschränkten Freisetzung (oder dem Inverkehrbringen eines Produkts aus GVO) zunächst Versuche im "geschlossenen System", also im Labor, Glashaus, etc. anzustellen sind, danach kleine Feldversuche und schließlich solche in größerem Maßstab. Weiters wird eine "Fall-zu-Fall"-Beurteilung empfohlen, die auf den jeweiligen Organismus und die betreffende Umwelt abzielt und die die Entscheidungsgrundlage für die Genehmigungspraxis der zuständigen Behörde bildet. Obwohl nie alle möglichen Gefahren mit Sicherheit ausgeschlossen werden können, sollen durch die Vorabbewertung die mit dem jeweiligen Vorhaben verbundenen Sicherheitsrisiken auf ein Mindestmaß beschränkt werden.

Der Unterschied in der öffentlichen Einschätzung in Europa ist von Land zu Land beträchtlich (MARLIER, 1992), es herrscht ein Nord-Süd-Gefälle – große Vorsicht im Norden, wenig Kritik im Süden –, wobei die Öffentlichkeit in deutschsprachigen Ländern zu einer deutlich kritischeren Haltung neigt.

Die länderweise Regelung wirft aber einige Probleme auf. Mögliche Effekte von Freisetzungen lassen sich nicht auf einzelne Länder beschränken, außerdem beklagt die Wirtschaft, daß unterschiedlich strenge Gesetze die Diffusion der Technologie und den Handel mit Produkten behindere, die mit ihrer Hilfe hergestellt wurden. Die Europäischen Gemeinschaften erachteten daher eine einheitliche Regelung für notwendig. Diese wurde im Jahre 1990 in Form einer Richtlinie zur Freisetzung erlassen (RAT DER EG, 1990b), die zusammen mit einer anderen, die die Handhabung von GVO im geschlossenen System zum Inhalt hat (RAT DER EG, 1990a), den Bereich der Gentechnik abdecken sollte. Es dauerte verhältnismäßig lange, bis alle EG-Mitgliedsländer diese Richtlinien in ihre nationale Gesetzgebung aufgenommen hatten (einige haben es bis heute nicht) und die Kritik sowohl von seiten der Umweltorganisationen als auch der Industrie und Wissenschaft war hart, wenn auch aus unterschiedlichen Gründen (LAKE, 1991). Manche erwarten eine baldige Novellierung, allerdings scheint die Wahrscheinlichkeit hierfür nach Erfahrungen mit anderen Richtlinien der EG nicht allzu groß (NENTWICH, in: UMWELTBUNDESAMT, 1993).

1.2.1 Die EG-„Freisetzungs“-Richtlinie 90/220

Die EG-Richtlinie zur Freisetzung (RAT DER EG, 1990b) basiert auf OECD-Empfehlungen (Stufenprinzip und Fall-zu-Fall-Beurteilung) und verlangt eine Risikoabschätzung und -bewertung vor der Durchführung von geplanten Freisetzungen, die hierfür notwendigen Informationen sind mindestens 90 Tage vorher anzugeben. Die zuständigen Behörden der Mitgliedsstaaten untersuchen auf dieser Basis

- Eigenschaften des Spender- und Empfängerorganismus,
- Eigenschaften des Vektors und des genetischen Konstrukts,
- Eigenschaften des entstandenen gentechnisch veränderten Organismus,
- die geplante Freisetzungsprozedur,
- Eigenschaften der Umwelt, in die die Organismen freigesetzt werden,
- Eigenschaften, die Überleben und Vermehrung der GVO beeinflussen,
- Wechselwirkungen und potentielle Auswirkungen auf die Umwelt,
- Pläne zur Überwachung,
- zur Abfallbeseitigung und
- Noteinsatzpläne.

Welche Informationen genau anzugeben sind, wird im Anhang II zur Richtlinie aufgelistet (Text siehe Anhang). Dieser Katalog gilt prinzipiell für alle GVO, wobei je nach Art des Organismus und des Experimentes bestimmte Angaben (da nicht sinnvoll) auch wegfallen können. Zur Beurteilung einer geplanten Freisetzung kann eine Expertenkommission hinzugezogen werden, die die Behörde berät. Die Kommission ist zur Verschwiegenheit verpflichtet, folgende Angaben müssen aber öffentlich zugänglich sein:

- Name und Adresse des Anmelders,
- Beschreibung und Ort der Anwendung oder Freisetzung,
- die Absicht des Versuchs und
- relevante Information zur Risikobewertung.

Im Prinzip gelten dieselben Bestimmungen auch für das Inverkehrbringen, sie werden um einige spezielle Anforderungen erweitert. Die Daten zur Risikoabschätzung müssen den Behörden der anderen EG-Mitglieder mitgeteilt werden, diese haben ein Einspruchsrecht. Ist ein Antrag zum Inverkehrbringen einmal angenommen, gilt dies für alle EG-Länder.

1.3 PROBLEME BEI DER UMSETZUNG

Das Problem derart umfassender Kataloge und Fragenlisten wie im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 liegt darin, daß für alle Organismen und Sachverhalte in allgemeingültiger Form Informationen gefordert werden, die aber in Wirklichkeit sehr spezifisch sind (man denke nur an die Unterschiede zwischen Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen). Um zu einer realistischen Risikoabschätzung zu gelangen, müßte es für jeden GVO andere relevante Kriterien geben. Dies würde aber den Umfang eines derartigen Kataloges sprengen. Solange das Fall-zu-Fall-Prinzip ernstgenommen wird, kann es auch keine zusammenfassende Kategorisierung von bestimmten Gruppen von Organismen geben (z. B. von bestimmten Nutzpflanzen, die virusresistent sind), obwohl dies die Beurteilung beschleunigen würde.

Im allgemeinen werden unter den möglichen mit einer Freisetzung verbundenen Gefahren solche verstanden, die zu unmittelbaren nachteiligen Effekten für Mensch und Umwelt führen, daneben sind aber auch langfristige Auswirkungen in die Risikobeurteilung miteinzubeziehen. Der Katalog im Anhang der EG-Richtlinie 90/220 enthält daher auch die Forderung nach Angaben zu solchen ökologisch relevanten Sachverhalten. Allerdings stößt die Fähigkeit zur Beurteilung solcher Zusammenhänge derzeit an enge Grenzen, langfristige Auswirkungen einer Freisetzung lassen sich nur äußerst schwer vorhersagen. Man ist oft auf Analogieschlüsse angewiesen, die aus der Erfahrung mit anderen Organismen in vergleichbaren Situationen stammen. Diese Unsicherheit trägt dazu bei, daß Teile der Öffentlichkeit, aber auch viele Fachleute Freisetzungen generell skeptisch gegenüberstehen. Solange nicht zweifelsfrei die Sicherheit eines derartigen Vorhabens nachgewiesen sei, könne man ein entsprechendes Risiko nicht eingehen. Befürworter von Freisetzungen weisen andererseits darauf hin, daß es sinnlos sei, Fragen zu stellen, die man nicht beantworten kann. Es wird dafür plädiert, die unmittelbaren Sicherheitsaspekte zu untersuchen, soweit sie experimentellen Techniken zugänglich sind. Darüber hinausgehende Fragen seien nach dem jeweiligen Stand der Wissenschaft zu beurteilen. Die an einer Freisetzung Interessierten meinen außerdem, daß sie nicht gerechtfertigte Nachteile erleiden, wenn die zuständige Behörde aufgrund von nicht eindeutig gesicherten Befunden eine übervorsichtige Vorgangsweise wählt.

Ein weiterer kontroversieller Punkt bei der Beurteilung betrifft mögliche Gefahren, die nicht unmittelbar von dem betreffenden Organismus ausgehen, sondern durch Sekundärwirkungen hervorgerufen werden. Insbesondere die soziale Verträglichkeit mancher Anwendungen der Gentechnik wird mitunter in Zweifel gezogen (BUNDESANSTALT FÜR BERGBAUERNFRAGEN, 1991). Dies ist zwar für die Beurteilung der (technischen) Sicherheit zunächst irrelevant, und in den meisten Ländern wird bewußt auf die Erörterung solcher Fragen verzichtet. Bei der Entscheidung, ob ein Risiko eingegangen werden soll oder nicht, können solche Überlegungen aber eine Rolle spielen oder bei der Einschätzung mitschwingen. In der vorliegenden Studie sollen sie dennoch nicht weiter berücksichtigt werden.

Die EG-Richtlinie 90/220 gibt einen Rahmen, innerhalb dessen ein Organismus, dessen Freisetzung beantragt wurde, von Fall zu Fall vorab bewertet werden soll. Da eine Richtlinie der EG keinen Gesetzestext darstellt, sondern inhaltlich umzusetzen ist, besteht keine Verpflichtung, wörtlich nach dem Text des Anhanges II vorzugehen. Bereits im Text der Richtlinie ist ja die Anforderung enthalten, aus den aufgelisteten Angabeerfordernissen diejenigen auszuwählen, die im jeweiligen Falle für die Risikobeurteilung relevant sind. Allerdings müssen die im Anhang II geforderten Informationen in einer Form eingeholt werden, die auch den Behörden der anderen EG-Länder genügen. Diese sind von einer geplanten Freisetzung durch eine formalisierte Mitteilung zu verständigen und können einen Kommentar abgeben (RAT DER EG, 1991b).

1.4 MOTIVATION UND AUFTRAG DER VORLIEGENDEN STUDIE

Die EG-Regelungen zur Gentechnik sind Bestandteil des Abkommens zum Europäischen Wirtschaftsraum. Wenn das Abkommen in Kraft tritt, ist Österreich verpflichtet, sich an diese Regelungen zu halten. Daher wurde die Richtlinie 90/220 samt Anhang II (Fragenkatalog) auch für den in Diskussion stehenden österreichischen Gentechnik-Gesetzentwurf übernommen (BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, SPORT UND KONSUMENTENSCHUTZ, 1992). Allerdings ist diese Übernahme nicht so problemlos, wie es auf den ersten Blick erscheinen mag. Wie bereits ausgeführt, hat es sich gezeigt, daß die Implementierung in das nationale Recht der EG-Mit-

gliedsstaaten zwar formal gleichartige Voraussetzungen schafft, daß es aber trotzdem auch auf die nationalen Besonderheiten ankommt, wie ein Freisetzungsprojekt beurteilt wird.

Daher ist es notwendig, daß auch Österreich sich eine eigene Position erarbeitet. Die Richtlinie der EG gibt einen Rahmen vor, der aber einen gewissen Handlungsspielraum läßt (Diskussion siehe UMWELTBUNDESAMT, 1993). Es erscheint lohnend, sich die Erfahrungen mit Kriterienkatalogen oder Vorgangsweisen zur Risikobeurteilung in anderen Ländern zunutze zu machen, die bei der Umsetzung der EG-Vorgaben hilfreich sein können. Insbesondere in den USA fanden bereits viele Freisetzungen unterschiedlicher gentechnisch veränderter Organismen statt, die einer Vorabbewertung unterzogen worden waren. Die hierfür maßgeblichen Richtlinien werden daher in der vorliegenden Studie mitberücksichtigt.

Außerdem hat sich in der Vergangenheit gezeigt, daß manche Behörden von Ländern, die zum ersten Mal einen Antrag auf Freisetzung eines gentechnisch veränderten Organismus zu beurteilen hatten, in Schwierigkeiten geraten sind. Unter Zeitdruck mußten zunächst grundsätzliche Fragen der Beurteilung gelöst werden, bevor auf den Einzelfall eingegangen werden konnte. Dadurch drohten einerseits Verzögerungen für den Antragsteller und eine international möglicherweise inkonsistente Beurteilungspraxis, andererseits bestand auch die Gefahr, daß wichtige sicherheitsrelevante Sachverhalte, insbesondere langfristiger Natur, übersehen werden könnten und daß vor allem nicht genügend Wert auf die für das jeweilige Land spezifische ökologische Situation gelegt würde.

Um dieser Gefahr zu begegnen, initiierte das Umweltbundesamt im Jahre 1992 diese Studie, um Wege für eine österreichspezifische Beurteilung von Freisetzungen gentechnisch veränderter Organismen unter besonderer Berücksichtigung der ökologischen Verträglichkeit aufzuzeigen. Dabei sollte besonderer Wert auf Möglichkeiten für eine längerfristige Beobachtung (das sogenannte Monitoring) gelegt werden. Einer zukünftigen Behörde sollten brauchbare Kriterien für die Entscheidung an die Hand gegeben werden, sodaß sie einem Antrag auf Freisetzung nicht unvorbereitet entgegentreten muß. Ziel der vorliegenden Studie ist daher die Ermittlung einer möglichst sinnvollen, sowohl für den Antragsteller als auch im Hinblick auf den vorsorgenden Umweltschutz akzeptablen Vorgangsweise bei der Beurteilung von Freisetzungsanträgen.

Um einen Überblick über die verschiedenen Erfahrungen mit der Beurteilung von Freisetzungen gentechnisch veränderter Organismen zu bekommen, organisierte das Umweltbundesamt gemeinsam mit der Forschungsstelle für Technikbewertung im April 1992 einen Workshop. Wissenschaftler und Vertreter von Behörden und beratenden Kommissionen aus fünf verschiedenen europäischen Ländern diskutierten die Problematik mit österreichischen Kollegen. Referate und Auszüge aus den Diskussionen wurden vom Umweltbundesamt veröffentlicht (UMWELTBUNDESAMT, 1992). Es zeigte sich die Notwendigkeit, die aufgeworfenen Fragen jeweils für transgene Pflanzen, Tiere und Mikroorganismen getrennt weiter zu beraten, um den Katalog im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 "mit Leben zu erfüllen". Es wurden daraufhin drei interdisziplinäre Arbeitsgruppen ins Leben gerufen, die anhand des erwähnten Anhangs der EG-Richtlinie versuchen sollten, einzelne Beispiele von Freisetzungen transgener Pflanzen, Tiere und Mikroorganismen getrennt durchzudiskutieren und dabei zu Empfehlungen für eine an die österreichischen Bedingungen angepaßte Beurteilungspraxis zu gelangen, ohne daß tatsächlich bereits Anträge auf Freisetzungen vorlägen. Soweit es möglich war, unterzogen sich dabei die Arbeitsgruppen dem "Gedankenspiel" der Bewertung von fiktiven Anträgen zur Freisetzung von solchen gentechnisch veränderten Organismen, die in Österreich bereits im geschlossenen System (Glashaus, Klimakammer etc.) gezüchtet werden und bei denen eine Freisetzung in der Zukunft geplant ist. Ansonsten wurde auf international bereits genehmigte Freisetzungsanträge zurückgegriffen, mit der Annahme, daß ein Antrag auf Freisetzung dieser Organismen in Österreich gestellt würde. Die Schlußfolgerungen der Arbeitsgruppen sollen keinesfalls eine spätere Beurteilung durch eine Behörde und/oder Gentechnikkommission präjudizieren. Mit Hilfe dieses

“Gedankenspiels” sollten die Anwendbarkeit der Kriterien des Anhangs II der EG-Richtlinie überprüft und gegebenenfalls überarbeitete Kriterien entwickelt werden.

Das Umweltbundesamt und die Forschungsstelle für Technikbewertung haben diesen Prozeß begleitet und unterstützt. Trotz mancher Schwierigkeiten gelang es, diesen Plan zu verwirklichen und zu Ergebnissen zu gelangen, die in der vorliegenden Studie vorgestellt und mit internationalen Regelungen verglichen werden sollen.

1.5 INHALT DER STUDIE

Nach dieser Einleitung als erstem Kapitel faßt das zweite Kapitel die wichtigsten Diskussionspunkte der drei Arbeitsgruppen zusammen. Besonderes Augenmerk wurde dabei der Frage gewidmet, welche Entscheidungskriterien der österreichischen Situation angemessen sind und in welchen Punkten die Meinungen österreichischer Fachleute von denen in anderen Ländern abweichen.

Das dritte Kapitel behandelt Möglichkeiten und Grenzen von “Monitoring”-Methoden. Die Risikoabschätzung eines geplanten Versuchs wird auch davon bestimmt, wie gut der gentechnisch veränderte Organismus oder das eingeführte Merkmal nachgewiesen oder unter Umständen an der Ausbreitung gehindert werden kann.

Im vierten Kapitel werden die Regelungen für die Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen in verschiedenen Ländern miteinander verglichen, insbesondere im Hinblick darauf, welche Organismen beurteilt werden, welche Informationen die Anträge enthalten sollen und welche Beurteilungskriterien maßgeblich sind.

Im abschließenden fünften Kapitel werden Möglichkeiten vorgeschlagen, wie Freisetzungsvorhaben in Österreich beurteilt werden und welche Kriterien hierfür maßgeblich sein könnten.

1.6 DANKSAGUNG

Die Autoren möchten an dieser Stelle den Teilnehmern des Workshops für ihre erwiesene Bereitschaft danken, kontroverse Themen in großer Offenheit und gegenseitigem Respekt sachlich zu diskutieren. Besondere Anerkennung ist allen Teilnehmern und insbesondere den Vorsitzenden der Arbeitsgruppen auszusprechen, die viel Zeit und Energie aufgebracht haben, um dieses oft komplizierte Thema zu diskutieren und zu Lösungen zu gelangen. Schließlich haben uns zahlreiche Diskussionspartner im In- und Ausland durch ihre Anregungen und Bemerkungen wertvolle Hinweise für die Bearbeitung dieses kontroversiellen Themas gegeben.



2 ARBEITSGRUPPEN ZUR FREISETZUNG VON GENTECHNISCH VERÄNDERTEN MIKROORGANISMEN, PFLANZEN UND TIEREN

2.1 AUSGANGSPUNKT: WORKSHOP "FREISETZUNGEN GENTECHNISCH VERÄNDERTER ORGANISMEN, WEGE ZUR BEURTEILUNG ÖKOLOGISCHER AUSWIRKUNGEN"

Im Frühsommer 1992 fand an der Akademie der Wissenschaften in Wien ein Workshop mit etwa dreißig Teilnehmern statt, auf dem Experten aus Wissenschaft und Verwaltung aus fünf europäischen Ländern mit ihren österreichischen Kollegen Fragen im Zusammenhang mit der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen diskutierten (die Vorträge und eine Zusammenfassung der Diskussionen siehe UMWELTBUNDESAMT, 1992). Den Einführungsvortrag hielt Prof. Herbert Sukopp vom Institut für Ökologie der Technischen Universität Berlin über Mechanismen der Verwilderung von Pflanzen und das "exotic species model", das das Verhalten von standortfremden Arten mit besonderen Eigenschaften in ihrem neuen Ökosystem beschreibt. Damit werden Möglichkeiten aufgezeigt, wie man Analogien bei der Risikoabschätzung von Freisetzungen mit GVO einsetzen könnte. In weiteren Vorträgen wurden der derzeitige Diskussionsstand bei der Beurteilung von Freisetzungen in den Niederlanden, in Ungarn, in der Schweiz, in Belgien und in Deutschland sowie in der OECD aus unterschiedlicher Sicht behandelt, weiters grundsätzliche Probleme von Freisetzungen transgener Pflanzen, Tiere und Mikroorganismen. Schließlich wurden juristische Fragen der Freisetzung in der österreichischen Rechtsordnung und einige praktische Probleme bei der Umsetzung der EG-Richtlinie 90/220 diskutiert.

Geht man vom Modell der "exotic species" aus und betrachtet man transgene Organismen als solche, so müßten freigesetzte GVO, um alle denkbaren ökologischen Schädwirkungen zu vermeiden, über längere Zeiträume beobachtet werden, als dies derzeit geschieht, aber auch länger, als es heute im Bereich des Möglichen liegt. Allerdings können viele transgene Nutzpflanzen nur in bezug auf wenige "neue" Eigenschaften als "exotisch" angesehen werden, da sie aus gut bekannten Sorten hergestellt wurden. Außerdem gelten viele der im Zuge der Diskussion um die Freisetzung gentechnisch veränderter Pflanzen aufgeworfenen Fragen auch für "herkömmliche" Züchtungen. Sieht man die mögliche Rückholbarkeit als entscheidendes Kriterium in der Risikoabschätzung an, müssen große transgene Nutztiere als eher unbedenklich, gentechnisch veränderte Fische oder Insekten aber als problematisch angesehen werden. Für die Abschätzung der Effekte einer Freisetzung gentechnisch veränderter Mikroorganismen stellt der horizontale Gentransfer ein Problem dar, das sich kaum kontrollieren läßt. Daher sollte die Einführung von Antibiotika-Resistenzgenen weitgehend vermieden werden. Einzelfallbeurteilung, stufenweises Vorgehen und die richtige Versuchsgestaltung bleiben zentrale Forderungen für die Freisetzung.

Die Erfahrungen mit der Bearbeitung von Anträgen auf Freisetzung waren in den einzelnen Ländern sehr unterschiedlich. Während die Niederlande (nach anfänglichen Schwierigkeiten) derzeit über ein System verfügen, das zufriedenstellend arbeitet, gab es in Deutschland große Schwierigkeiten. Die Schweiz schien von dieser Frage eher unvorbereitet getroffen worden zu sein, daher gab es auch institutionelle Probleme. Ungarn schließt sich der Kompatibilität wegen der EG-Regelung an. Belgien hat, bedingt durch die Struktur des Landes, ebenfalls Kompetenzprobleme; unterschiedliche Risikoeinschätzungen zeigen sich daher besonders deutlich. Öster-

reich steht vor dem Problem, daß etliche relevante Regelungen in Zusammenhang mit der Freisetzung Ländersache sind, die geforderte Vorabbewertung aber nur von einer Bundesbehörde sinnvoll durchgeführt werden kann.

Während die OECD versucht, zu Empfehlungen für Freisetzungen in großem Maßstab und für das Monitoring zu kommen, wird der EG-Richtlinie 90/220 vorgeworfen, daß der Katalog der geforderten Informationen einerseits zu umfangreich, andererseits nicht spezifisch genug ist und Fragen enthält, die nicht eindeutig beantwortbar sind. Insbesondere diejenigen Fragestellungen, die ökologisch relevante Sachverhalte betreffen, werden zum Teil als unbefriedigend angesehen. Die Forderung nach rigoroser Fall-zu-Fall-Bewertung und nach erleichterter, möglicherweise pauschalerer Begutachtung für "ungefährliche" Organismen scheinen sich außerdem zu widersprechen, zumindest ist eine Interpretation nötig.

Immer wieder wurde der Bereich der (naturwissenschaftlichen) Risikoanalyse überschritten und anwendungsbezogene Probleme, etwa des Einsatzes bestimmter transgener Pflanzen in der Landwirtschaft, kamen zur Sprache. Derartige Fragen lassen sich nicht in gleicher Weise wie das unmittelbare Risiko beurteilen, sie sind aber, wie sich gezeigt hat, integraler Bestandteil der Diskussion und können daher kaum aus der Betrachtung verbannt werden. Eine geeignete Form der Behandlung solcher Probleme wurde auch in anderen Ländern offensichtlich noch nicht gefunden, die Suche danach müßte intensiviert werden.

Die Teilnehmer kamen aus verschiedenen Wissenschaftszweigen und waren Freisetzungen gegenüber sehr unterschiedlich eingestellt, die große Mehrheit lehnte sie nicht prinzipiell ab. Obwohl zum Teil gravierende Meinungsverschiedenheiten zutage traten, wurde offen und sehr sachlich diskutiert. Es zeigte sich, daß noch viele Unklarheiten darüber bestehen, nach welchen Kriterien einerseits ein GVO, der freigesetzt werden soll, allgemein beurteilt werden sollte und wie im speziellen mit dem Katalog der vom Antragsteller geforderten Informationen umzugehen sei, der im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 über die Freisetzung angeführt ist. Dieser Workshop zeigte die Vielfalt der Problematik und lieferte einige Hinweise darauf, in welche Richtung bei der Suche nach österreichischen Lösungen vorzugehen sei. Es erwies sich jedoch als unmöglich (und war auch nicht intendiert), im Rahmen dieser zweitägigen Veranstaltung zu allgemein akzeptablen Kriterien zu gelangen.

Die Veranstalter und einige österreichische Teilnehmer regten an, weiterführende Gespräche in Form von drei Arbeitsgruppen zu führen, die sich jeweils mit der Problematik bei der Freisetzung transgener Pflanzen, Tiere und Mikroorganismen anhand des Anhangs der EG-Richtlinie 90/220 beschäftigen sollten. Durch eine Vorabbewertung "fiktiver" Freisetzungsanträge von einzelnen transgenen Organismen sollten Erfahrungen im Umgang mit dem Anhang der EG-Richtlinie gesammelt und Möglichkeiten für eine an die österreichischen Verhältnisse angepaßte Vorgangsweise ausgelotet werden. Ziel war es, sowohl Molekularbiologen und potentiell an einer Freisetzung Interessierte als auch Ökologen und andere Experten aus nicht unmittelbar beteiligten biologischen Fachrichtungen in diese Gespräche miteinzubeziehen, um so eine breit gestreute Expertise zu gewährleisten und eine ausgewogene Meinungsbildung zu ermöglichen. Die Leitung jeder Gruppe wurde von Wissenschaftlern mit molekulargenetischer Ausrichtung übernommen.

Die Suche nach Teilnehmern für eine ausgewogene Zusammensetzung jeder Gruppe erwies sich als nicht ganz einfach. Es konnten zwar hervorragende Experten aus den Bereichen molekulare Genetik (im weiteren Sinne) und aus anwendungsorientierten Instituten und Bundesanstalten für die Mitarbeit gewonnen werden, es erwies sich jedoch als schwierig, eher ökologisch ausgerichtete und nicht molekulargenetisch arbeitende Wissenschaftler davon zu überzeugen, daß ihre Mitarbeit sinnvoll und wichtig sei. Es scheint, als ob es nach wie vor Berührungspunkte gäbe, wenn es um transgene Organismen geht. Vielfach erklärten sich auch die betreffenden Wissenschaftler, an die die Forschungsstelle für Technikbewertung und das Umweltbundesamt

mit der Bitte um Mitarbeit herantraten, für nicht genügend kompetent auf dem Gebiet der Molekularbiologie beziehungsweise wandten ein, daß es von einem ökologischen Standpunkt aus unmöglich sei, sicher vorherzusagen, wie sich gentechnisch veränderte Organismen in einem bestimmten Ökosystem verhalten werden. Obwohl diese Argumente zu achten sind, war dadurch ein wesentlicher Teil des nötigen Sachverstandes nur ansatzweise verfügbar. Alle Teilnehmer der Arbeitsgruppen stimmten darin überein, daß es unbedingt nötig sein wird, Wissenschaftler aus nicht-molekularen Disziplinen der Biologie und solche mit ausgewiesenem ökologischen Sachverstand in die Vorabbeurteilung transgener Organismen vor deren möglicher Freisetzung einzubinden.

Alle drei Gruppen arbeiteten völlig selbständig und unabhängig voneinander, die Inhalte wurden von den Gruppenmitgliedern bestimmt. Das Umweltbundesamt war mit Dr. Gaugitsch in der "Pflanzen"- und der "Mikroorganismen"-Gruppe vertreten; die Autoren nahmen vor allem Koordinations- und Protokollfunktionen wahr, beteiligten sich aber auch an den Diskussionen.

2.2 ARBEITSGRUPPE "MIKROORGANISMEN"

2.2.1 Teilnehmer und Arbeitsweise

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. W. Lubitz (Inst. für Genetik und Mikrobiologie, Universität Wien),

weitere Teilnehmer:

Dr. H. Gaugitsch (Umweltbundesamt, Wien)

Univ.-Prof. Dr. F. Heinz (Institut für Virologie, Universität Wien)

Dr. P. Hirsch (Rothamsted Experimental Station, Harpenden, England)

Univ.-Prof. Dr. G. Högenauer (Institut für Mikrobiologie, Universität Graz)

Dr. I. Sichrovsky (Bundesministerium f. Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz, Wien)

Univ.-Doz. DDr. W. Maurer (Bundesstaatliche Serumprüfanstalt, Wien)

Dr. A. Palmeshofer (Forschungsstelle für Technikbewertung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Wien)

Univ.-Prof. Dr. K. Petzold (Institut für Bakteriologie und Tierhygiene, Veterinärmedizinische Universität Wien)

Dr. M. Sara (Institut für Ultrastrukturforschung, Universität für Bodenkultur Wien)

Univ.-Prof. Dr. F. Schinner (Institut für Mikrobiologie, Universität Innsbruck)

Univ.-Doz. Dr. H. Schwab (Institut für Biotechnologie, Technische Universität Graz)

Dr. F. Turnowsky (Institut für Mikrobiologie, Universität Graz)

Dr. H. Torgersen (Forschungsstelle für Technikbewertung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Wien)

MinR. Dr. Weber (Institut für Bakteriologie und Tierhygiene, Veterinärmedizinische Universität Wien und Bundesministerium f. Gesundheit, Sport u. Konsumentenschutz, Wien).

Die Mitarbeit bei einzelnen Themen war unterschiedlich, ein "Kern" blieb aber stets gleich. Die Arbeitsgruppe traf sich zwischen Juli 1992 und Februar 1993 insgesamt sechsmal.

Anhand des Kataloges im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 wurden zunächst ein in der Literatur beschriebener gentechnisch veränderter Mikroorganismus (*Clavibacter xyli* mit einem Gen aus *Bacillus thuringiensis*) und eine Lebendvaccine (*Vaccinia-Virus* mit einem Gen aus dem Tollwut-Virus) untersucht, die beide in anderen Ländern bereits freigesetzt worden waren. Die Frage war, ob

- dies auch in Österreich möglich gewesen wäre oder
- welche Punkte anders beurteilt worden wären als im Land der Freisetzung.

Obwohl auch Kritik an dieser Vorgangsweise geübt wurde (eine Abschätzung sei ohne tatsächlichen Handlungsbedarf durch einen Antrag auf Freisetzung weder möglich noch sinnvoll), versuchte die Arbeitsgruppe, sich grundsätzlich über den einzuschlagenden Weg und die für eine Beurteilung relevanten Informationen einen Überblick zu verschaffen sowie eigene Schlußfolgerungen zu ziehen.

Es erwies sich aber als schwierig, ausschließlich anhand von Literaturunterlagen eine Risikoabschätzung durchzuführen, da außerdem Teile der den Behörden im jeweiligen Land der Anmeldung zugänglichen Daten offensichtlich vertraulich waren. Es stellte sich heraus, daß die Beurteilung einer geplanten Freisetzung erleichtert oder eigentlich erst möglich wird, wenn der Anmelder seinen Antrag persönlich vorstellt und verteidigt. Daher erklärte sich Frau Dr. P. Hirsch (Rothamsted Experimental Station, Harpenden, England), dankenswerterweise bereit, ihren bereits in England eingereichten Antrag auf Freisetzung gentechnisch veränderter *Rhizobium*-Bakterien mit einem GUS-Markergen vor der Arbeitsgruppe vorzutragen, bevor dieser noch im zuständigen Komitee in England behandelt wurde.

2.2.2 Freisetzung von gentechnisch veränderten *Clavibacter xyli* var. *cynodontis* mit einem Gen für das Endotoxin-Protein von *Bacillus thuringiensis*

2.2.2.1 Ausgangspunkt

Clavibacter

ist ein Bodenbakterium, das als Endoparasit von Bermudagrass vorkommt, diesem aber wenig Schaden zufügt. Das Bakterium kann auch andere Pflanzen (u.a. Mais) besiedeln, jedoch nur nach Inokulation.

Bacillus thuringiensis

bildet ein insektizides Protein, das Spezies-spezifisch (je nach Stamm) für bestimmte Schadinsekten (in diesem Falle den Kornbohrer) toxisch ist. Das Gen hierfür wurde in *Clavibacter* eingeführt, um so ein neues, gegen bestimmte Schadinsekten spezifisches Pflanzenschutzmittel für Mais herzustellen.

Die für die Beurteilung nach dem Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 relevanten Informationen wurden, soweit verfügbar, aus der zitierten Literatur entnommen. Darin ist auch eine Risikoabschätzung nach der in den USA gültigen Vorgangsweise enthalten, die in der Folge kurz zusammengefaßt werden soll.

Frühere Versuche

Die angeführten Versuche waren seit 1987 zum Großteil in den USA durchgeführt worden. Zunächst wurden die Anträge zur Begutachtung an Einzelpersonen versandt. Eine Risikoabschät-

zung erfolgte im "Office of Pesticide Programs" (OPP) der EPA (Environmental Protection Agency), schließlich fanden Beratungen in einem gemeinsamen Komitee der OPP und dem "Biotechnology Science Advisory Committee" (BSAC) des US Department of Agriculture statt. Man kam zu dem Schluß, daß "kein signifikantes Risiko für Mensch und Umwelt" vom geplanten Versuch zu erwarten sei. Öffentliche Kommentare wurden im abschließenden wissenschaftlichen Gutachten berücksichtigt. Die EPA entwickelte zusätzlich Pläne für Maßnahmen, um die unbeabsichtigte Verbreitung der Pestizidaktivität zu verhindern. Weitere Anträge wurden in den Jahren 1988, 1989 und 1990 gestellt. Um die Vorgangsweise zu illustrieren, sei eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse einer Risikoabschätzung nach den USDA-Richtlinien angeführt (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1991a, es wird dabei den einzelnen Aspekten je nach angenommener Gefährlichkeit jeweils eine Sicherheitsstufe von 1 bis 4 zugeordnet; zum Vorgang der Abschätzung in vier Schritten siehe Kapitel 4):

Literatur

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991 a, Agricultural Biotechnology Research Advisory Committee, Supplement to Minutes, Document No.91-04 USDA, Washington D.C., darin Example 8: *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis*.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1990; OPP (Office of Pesticide Program) scientific position on Crop Genetics International's 1/16/90 application for a genetically engineered microorganism experimental use permit, memorandum, (wurde als background document von der United States Environmental Protection Agency beim OECD-Workshop "Monitoring of Genetically Modified Organisms in the Environment" in Kopenhagen im Dezember 1990 zur Verfügung gestellt).

PRÜFUNG NACH DEN USDA-RICHTLINIEN

SCHRITT 1: BESTIMMUNG DER HÖHE DER SICHERHEITSBEDENKEN

Ausgangsorganismus: *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis*

A. Zugängliche Umwelt: Pflanzen mit und ohne Inokulation mit dem Bakterium, Boden und Gewässer in der unmittelbaren Umgebung des Versuchs.

B. Eigenschaften des Organismus, die für die Einstufung in eine bestimmte Sicherheitskategorie von Bedeutung sind:

Etablierungspotential: Der einzige bekannte natürliche Wirtsorganismus für das Bakterium ist Bermudagrass. Die Verbreitung auf andere Pflanzen oder Insekten ist selten. Bisher konnten keine schädigenden Wirkungen auf den Wirt unter natürlichen Bedingungen beobachtet werden. Eine Ausbreitung scheint hauptsächlich durch mechanische Bearbeitung des Bodens zu erfolgen. Bei höheren Populationszahlen steigt zwar die Möglichkeit der Besiedlung innerhalb der Pflanze (endophytische Phase), nach Ernte der Pflanzen nimmt die Zahl der Bakterien aber rasch wieder ab. Das Potential für die Etablierung wurde als niedrig eingestuft: *Stufe 1*.

- "Pest/Pathogen"-Status:** Ursprünglich wurde *Cl. xyli* subsp. *cynodontis* aus *Bermudagrass* isoliert. Schädigende Wirkungen auch nach künstlicher Inokulation wurden nicht beobachtet, Ähnlichkeiten im RFLP-Muster mit anderen nicht verwandten coryneformen Bakterien traten nicht auf. Ein genetischer Austausch mit Bakterien derselben oder verschiedener Spezies konnte in Laborexperimenten nicht nachgewiesen werden. Plasmide sind für diese Spezies nicht bekannt. *Stufe 2.*
- Ökologische Beziehung zu anderen Organismen:** *Clavibacter* sp. kommt weltweit vor, *Cl. xyli* besiedelt fast ausschließlich, die Subspezies *cynodontis* ausschließlich *Bermudagrass*. Einige verwandte pflanzenpathogene coryneformen Bakterien kommen sporadisch in Zuchtökosystemen vor: *Stufe 1*
- Wahrscheinlichkeit, genetische Veränderungen in natürlichen oder künstlichen Ökosystemen zu bewirken:** Diese wird als sehr niedrig angesehen. Selbst bei Aufnahme von Fremd-DNA ist die Wahrscheinlichkeit für eine Schädigung von Mensch oder Umwelt wegen der niedrigen Persistenz und der hohen Homogenität innerhalb der Spezies sehr gering, daher *Stufe 1.*
- Möglichkeiten für die Überwachung und Kontrolle:** Vorgegangene Feldversuche haben eine geringe Verbreitung des Organismus gezeigt. Bakterielle Kontaminationen werden wahrscheinlich innerhalb kurzer Zeit inaktiviert. *Stufe 1.*
- C. Gesamtbeurteilung:** Geringe Sicherheitsbedenken. Für einige Maissorten ist jedoch das Bakterium in hohen Dosen pathogen, die aber außerhalb eines Versuchsgeländes nur schwer erreicht werden könnten.
- D. Fazit für Schritt 1:** Höhe der Sicherheitsbedenken: *Stufe 2*

SCHRITT 2: ART DER GENETISCHEN MODIFIKATION

Das insertierte Gen ist in der wissenschaftlichen Literatur gut charakterisiert, das Ausgangsbakterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* kann kommerziell erworben werden. Das modifizierte Bakterium besitzt gegenüber dem Ausgangsstamm eine eingeschränkte Vermehrungsfähigkeit. Das Protein ist insektenpathogen. Daher: *Stufe 3*

SCHRITT 3:

SICHERHEITSABWÄGUNG FÜR DEN GENTECHNISCH VERÄNDERTEN ORGANISMUS

Außer der insektiziden Wirkung haben sich keine Eigenschaften in einer Weise geändert, die eine Änderung der Einstufung rechtfertigen würde, diese bleibt daher bei *Stufe 2.*

SCHRITT 4: BEGRENZUNGSMASSNAHMEN

Zusätzlich zur guten landwirtschaftlichen Versuchspraxis sollten

1. zusätzlich Maispflanzen und Nichtzielinsekten auf mögliche Effekte hin untersucht werden,
2. bei Auftreten von Krankheitssymptomen sollten die Organismen vernichtet werden.

2.2.2.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe

Anhand des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 wurde abgeschätzt, welche Informationen für eine Freisetzung in Österreich erforderlich wären und wie diese zu interpretieren seien. An zumindest einer der drei Sitzungen nahmen teil:

Dr. H. Gaugitsch
Univ.-Prof. Dr. F. Heinz
Univ.-Prof. Dr. G. Högenauer
Univ.-Prof. Dr. W. Lubitz
Dr. A. Palmetshofer
Univ.-Prof. Dr. K. Petzold
Dr. M. Sara
Univ.-Prof. Dr. F. Schinner
Univ.-Doz. Dr. H. Schwab
Dr. H. Torgersen
Dr. F. Turnowsky.

BEURTEILUNG NACH DEM ANHANG II DER EG-RICHTLINIE 90/220

Im folgenden werden die Diskussionen zu einzelnen Punkten im Anhang II der EG-Richtlinie zusammengefaßt. Die Zahlen beziehen sich auf die Numerierung im Anhang II. Da viele der diskutierten Themen über die in einzelnen Punkten geforderten Informationen hinausgingen, werden diese im Zusammenhang dargestellt und nicht bei jedem Punkt wiederholt. Vielfach werden Punkte zusammengefaßt, weil eine Aufgliederung von den Teilnehmern nicht als sinnvoll aufgefaßt wurde.

I. ALLGEMEINE INFORMATIONEN, NAME DES ANTRAGSTELLERS ETC.

ergab generell keine Probleme und wurde in der Folge nicht mehr behandelt.

II. INFORMATIONEN ÜBER DIE GVO

A. Eigenschaften des (der) a) Spender-, b) Empfänger- oder c) (gegebenenfalls) Elternorgansimus(men):

EMPFÄNGER-ORGANISMUS:

1. *wissenschaftl. Bezeichnung,*
 2. *taxonomische Daten,*
 3. *sonstige Namen (Trivialname, Stamm Cultivar usw.),*
 4. *phänotypische und genetische Marker*
- Die taxonomische Einordnung von *Clavibacter* ist nicht eindeutig, die Verwandtschaftsverhältnisse bedürfen der Klärung. Aus der Familie der coryneformen Bakterien ist *Cl. xyli* mit *Arthrobacter*, *Microbacterium* und "*Curcobacterium*" am nächsten verwandt. Die genaue taxonomische Einordnung scheint aber für die Risikoabschätzung von entscheidender Bedeutung, um vor allem auf mögliche Nichtzielorganismen (Wirtsbereich) mit einem vertretbaren Aufwand prüfen zu können.

- 5. Grad der Verwandtschaft zwischen Spender- und Empfängerorganismus oder zwischen Elternorganismen**
- Mit *Bacillus thuringiensis* ist *Clavibacter xyli* nur sehr entfernt verwandt, *B. th.* gehört zu den Bacillaceae, *Cl. xyli* zu den Coryneformen, obwohl dies nicht völlig gesichert ist.
- 6. Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren**
- Die Angabe von phänotypischen und genetischen Markern zum spezifischen Nachweis war umstritten. Einerseits wurde die generelle Forderung erhoben, neben der Einfügung des betreffenden Toxingens zusätzlich eine nichtkodierende Sequenz einzubauen, um eine eindeutige Identifizierungsmöglichkeit auch gegenüber dem Ausgangsstamm zu haben. Der Nachteil läge im notwendigen Nachweis der genetischen Stabilität der insertierten Sequenzen, die der Antragsteller zu leisten hätte. Die allgemeine Forderung, sogenannte nichtkodierende Markersequenzen für GVO zu verlangen, ist günstig für Patentierungen, jedoch international nicht üblich. Nach OECD-Übereinkunft ist das Einfügen solcher Sequenzen nur dann zu fordern, wenn sonst keine eindeutige Charakterisierung des Organismus möglich ist. Anders als nach den Richtlinien der USDA muß in der EG auch das zusätzliche Einfügen nichtkodierender Sequenzen beantragt werden, wodurch sich der Aufwand für die Antragstellung fast verdoppelt. Eine gesonderte Risikoabschätzung und Angaben über die Zuverlässigkeit der Sequenz als Marker zur Identifizierung und zum Monitoring (siehe Kapitel 3) sind erforderlich; die Stabilität der Markersequenz muß mit der des insertierten Gens korrelieren. Ob solche Markersequenzen generell sinnvoll sind oder nur dann, wenn es sonst keine Identifizierungsmöglichkeiten gibt, blieb kontroversiell. Man einigte sich darauf, die internationalen Entwicklungen zu diesem Thema abzuwarten. Dieser Punkt sowie der folgende Punkt
- 7. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren**
- wurden generell als sehr wichtig für die Risikoabschätzung erachtet. Bei allen Methoden sind die jeweiligen Zitate anzuführen, aus denen hervorgeht, welchen Anforderungen die Methode genügt.
- 8. Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen**
- Der natürliche Lebensraum von *Clavibacter xyli* ist weltweit, der von *Cl. xyli* var. *cynodontis* vor allem auf subtropische Bereiche beschränkt. Auch die Wirtsspezifität scheint eingeschränkt auf Bermudagrass. Weitere Untersuchungen über den möglichen Befall von Nichtzielorganismen wie Mais und anderen Gräsern sind aber notwendig, weil die vorliegenden Ergebnisse aus den amerikanischen Experimenten der Arbeitsgruppe nicht eindeutig genug erscheinen. Über die Wirkungen von *Cl. xyli* auf den Wirtsorganismus gibt es ausreichende Daten. Eine Österreichspezifische Überprüfung (z. B. andere Klimaverhältnisse, Pflanzen) schiene dennoch notwendig, insbesondere fehlen Daten über die mögliche Genübertragung auf *Arthrobacter*, der im Boden praktisch ubiquitär vorkommt.
- 9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen**
- Die Häufigkeit des Gentransfers oder eines anderen genetischen Austauschs gibt Aufschluß über den Grad der genetischen Verwandtschaft der Organismen. Bei Mikroorganismen ist aber stets mit einem gewissen Maß an Gentransfer zu rech-

nen, dies ist offenbar die wichtigste Form der genetischen Durchmischung zur Anpassung an die Umwelt. Wenn für gewisse Bakterienstämme wie für *Cl. xyli* keine Plasmide oder Phagensysteme bekannt sind, kann es sie trotzdem geben. Phänomene wie die lysogene Konversion (beispielsweise bei *Salmonella*-Phagen) können zu einer Änderung des Wirtsbereichs führen. Generell könnte das tolerierbar sein, wenn die Versuche zeitlich begrenzt und die GVO nach Versuchsende sicher entfernbar sind oder ihre Überlebensfähigkeit eingeschränkt ist. Die Möglichkeit des Gentransfers könnte vermindert werden, wenn z. B. temperatursensitive Mutanten als Ausgangsstämme dienen. Zusätzlich muß überprüft werden, ob Vektoren vorhanden sind.

10. Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen

Insbesondere der Wirtsbereich muß durch Überimpfen anhand der Eigenschaften heimischer *Clavibacter*-Arten festgestellt werden.

11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:

a. Risikoeinstufung nach derzeitigen Regeln der Gemeinschaft hinsichtlich des Schutzes der menschlichen Gesundheit und/oder der Umwelt

Der Organismus wurde in die niedrigste Risikokategorie eingestuft, obwohl es sich bei *Cl. xyli* (in speziellen Fällen bei sehr hoher Populationszahl) um ein Pflanzenpathogen handelt.

b. Generationsdauer in natürlichen Ökosystemen, geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzungszyklus

Die Generationsdauer wird mit ungefähr einem Tag angenommen. Genauere Angaben darüber wären für die Abschätzung des Verbreitungspotentials wichtig. Aus dem US-Antrag im Jahre 1990 geht hervor, daß die Wachstumsrate des modifizierten Organismus langsamer ist als die des Ausgangsstammes, daß die Reversionsrate (also der Verlust des Fremdgens) bei 8×10^{-5} liegt, daß daher wahrscheinlich unter natürlichen Bedingungen das rekombinante Bakterium vom Wildtyp oder von Revertanten schnell verdrängt wird. Zusätzliche Begrenzungsmaßnahmen scheinen deshalb für Versuche im kleinen Maßstab nicht notwendig.

c. Informationen über das Überleben einschließlich der jahreszeitlichen Aspekte und Fähigkeit zur Bildung von Überlebensorganen, z. B. Bildung von Samen, Sporen und Skerotien

Es gibt keinen Hinweis auf Sporenbildung. Generell sind Bodenmikroorganismen aber auch nach dem Eintrocknen noch lebensfähig. Die Überlebensfähigkeit (Ruhestadium im Boden) muß mit mehreren Jahren angenommen werden, auch wenn nach kurzer Zeit eine Detektion nicht mehr möglich ist. Die minimale Infektionsdosis liegt bei 500 bis 1.000 Zellen pro Pflanze. Die meisten verbleibenden Bakterien sind auf Pflanzenresten zu finden, die Infektion erfolgt wahrscheinlich am Anfang der nächsten Vegetationsperiode. Um den Organismus zu beseitigen, ist ein hoher Humusgehalt des Bodens und damit eine große Zahl von Mikroorganismen günstig, die den Organismus verdrängen. Dies ist aus den unter b. genannten Gründen wahrscheinlich.

- d. Pathogenität: Infektiosität, Toxigenität, Virulenz, Allergenität, Träger (Vektor) von Pathogenen, mögliche Vektoren, Wirtsspektrum einschl. der Nichtzielorganismen, mögliche Aktivierung latenter Viren (Proviren), Fähigkeit zur Kolonisierung sonst. Organismen*
- Da das Bakterium mit der Pflanze verzehrt wird, könnte es in andere Organismen gelangen. Die Beständigkeit (Halbwertszeit) des eingefügten B. th.-Gens war nicht genau bekannt, da es eine Reihe verschiedener B.th.-Toxingene gibt, Angaben darüber fehlten.
- e. Antibiotikaresistenzen und potentielle Nutzung dieser Antibiotika an Menschen und Haustieren zur Prophylaxe und Therapie*
- Für dieses Beispiel nicht relevant. Für die Identifizierung der modifizierten Organismen wurde auf Tetrazyklinmedien selektiert, die Resistenz wurde auf natürliche Art erworben.
- f. Beteiligung an Umweltprozessen: Primärproduktion, Nährstoffumsatz, Abbau organischer Stoffe, Atmung usw.*
- Gering, normalerweise ist Clavibacter ein unbedeutendes, abbauendes Bakterium im Wurzelbereich.
- 12. Art der bereits natürlich beherbergten Vektoren**
- Für Clavibacter sind keine natürlich beherbergten Vektoren bekannt.
- 13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen**
- Angaben zu diesem Punkt wären interessant und wichtig, es ist aber unklar, ob hier auch Selektionen etc. oder nur gentechnische Veränderungen gemeint sind, die unter die Richtlinie 90/220 fallen; die Arbeitsgruppe empfiehlt letzteres.
- SPENDERORGANISMUS**
Eigenschaften des Spenderorganismus
- 11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:**
- d. Pathogenität: Infektiosität, Toxigenität, Virulenz, Allergenität, Träger (Vektor) von Pathogenen, mögliche Vektoren, Wirtsspektrum inkl. der Nichtzielorganismen, mögliche Aktivierung latenter Viren (Proviren)*
- Fähigkeit zur Kolonisierung sonstiger Organismen*
- Bacillus thuringiensis ist ein gut charakterisierter Organismus, über das Wirtsspektrum der Toxine ist viel bekannt. Die Beantwortung der einzelnen Punkte scheint ohne Probleme aus der allgemeinen Literatur möglich.
- Die Frage nach der Spezifität des Toxins ist sehr wichtig. Sind z. B. alle Lepidopteren betroffen, ist dies unakzeptabel. Eine hohe Spezifität ist wichtig, um unerwünschte Wirkungen auf die Umwelt so weit wie möglich einzuschränken. Eventuell könnte eine Abwägung gegenüber chemischen Insektiziden vorgenommen werden. Die Angaben über den Ort der Freisetzung und die Betrachtung des regionalspezifischen Ökosystems erfordern in diesem Zusammenhang noch größere Beachtung.

B. Eigenschaften des Vektors:**1. Art u. Herkunft des Vektors**

2. Sequenz von Transposons, Vektoren und anderen nichtkodierenden genetischen Sequenzen, die zur Konstruktion des GVO verwendet wurden und die Funktion des eingeführten Vektors und Genabschnitts im GVO sicherstellen

4. Informationen darüber, inwieweit der Vektor auf die DNS beschränkt ist, die zur Erfüllung der geplanten Funktion erforderlich ist

3. Häufigkeit der Mobilisierung des eingeführten Vektors und/oder die Fähigkeit zum Gentransfer und Methoden zu deren Bestimmung

Eine Freisetzung ist in vielen Punkten mit dem ersten klinischen Test eines Medikaments vergleichbar. Die Konstruktion des neuen Gens und der verwendete Vektor sind möglichst detailliert und zusammenhängend anzugeben, da sie für die Risikoabschätzung von Bedeutung sein können. Darunter fallen die genaue Beschreibung der Teile, die Sequenz etc.

Wegen der geringeren Mobilisierbarkeit ist allgemein zu fordern, daß die Integration in das Wirtschromosom erfolgt.

C. Eigenschaften des veränderten Organismus:

1. Informationen über die genetische Veränderung

Über die Konstruktion ist die detailliertest mögliche Information einzuholen, eine Geheimhaltung vor einer Begutachtungskommission wäre nicht akzeptabel. Im diskutierten Fall liegen nicht genügend Informationen für eine Stellungnahme vor.

2. Informationen über den endgültigen GVO:

a. Beschreibung der genetischen Merkmale oder phänotypischen Eigenschaften und insbesondere jeglicher neuen Merkmale oder Eigenschaften, die exprimiert werden können oder nicht mehr exprimiert werden können

Die neuen Eigenschaften des GVO müssen vor allem daraufhin geprüft werden, inwieweit sie die Überlebensfähigkeit beeinflussen. Bezüglich des B. th.-Toxins ist eine mögliche Veränderung der Toxizität, Virulenz oder des Wirtsspektrums gegenüber der Ausgangsform zu überprüfen. Dies erfordert allerdings einen hohen Aufwand.

- b. Struktur und Menge jeder Art von Vektor und/oder einer Donor-Nukleinsäure, die noch in der endgültigen Konstruktion des veränderten Organismus verblieben ist* Der Integrationsort ist anzugeben, auf möglichst gezielte Integration ist zu achten.
- c. Stabilität des Organismus in bezug auf genetische Merkmale* Durch Simulationsversuche (Simulation unterschiedlicher Umweltbedingungen) ist die Stabilität des Genoms zu prüfen.
Die restlichen Punkte in diesem Abschnitt des Anhangs II sollten in Form eines Vergleiches zwischen dem GVO und der als Spenderorganismus verwendete Variante von *Bacillus thuringiensis* mit Hilfe der in der Literatur verfügbaren Daten behandelt werden.

III. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNGSBEDINGUNGEN UND DIE UMWELT, IN DIE GVO FREIGESETZT WERDEN

A. Informationen über die Freisetzung:

- 1. Beschreibung der vorgeschlagenen absichtlichen Freisetzung einschließlich der Zielsetzung(en) und der geplanten Produkte* Die konkrete wissenschaftliche Fragestellung des Experiments ist zu beurteilen, dabei ist von rein sachlichen Aspekten auszugehen, die Risiken sind möglichst wertfrei abzuschätzen. Die Absicht ist nur auf Plausibilität hin zu prüfen, unabhängig von Alternativen. Für das unmittelbare Experiment sind Fragen, die über die reine Risikoabschätzung hinausgehen, nicht von Belang. Ein Hinweis, daß nicht die Sinnhaftigkeit angesichts des Restrisikos beurteilt werden soll, wäre vorteilhaft. Sehr wichtig ist es, die Empfindlichkeit der Nachweismethoden zum Monitoring anzugeben, nach denen die Aussagen getroffen werden.
- 10. Für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuches vorgesehene Verfahren* Eine Beseitigung oder Inaktivierung der freigesetzten GVO ist im vorliegenden Fall unmöglich, weil Bodenmikroorganismen extrem gut geschützt sind und man zur ihrer Entfernung den gesamten Boden mehrere Stunden lang autoklavieren müßte. Daher sind Maßnahmen zum biologischen Containment strikt zu fordern.

B. Informationen über die Umwelt

(sowohl am Ort der Freisetzung als auch in der weiteren Umgebung):

9. Flora und Fauna einschließlich Nutzpflanzen, Nutztiere und wandernde Arten

- 10. Beschreibung der Ziel- u. Nichtziel-Ökosysteme, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden* Diese Punkte wurden bisher unzureichend abgehandelt und sind für Österreich spezifisch anzugeben, da sie ein erhebliches Gewicht für die Risikoabschätzung haben.

IV. INFORMATIONEN ÜBER DIE WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN DEM GVO UND DER UMWELT:

A. Eigenschaften, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen:

Diese äußerst wichtigen Angaben standen nicht in der gewünschten Qualität zur Verfügung, insbesondere Angaben über den Wirtsbereich (s. o.) und einen "sicheren unteren Level", also einer in der Umwelt noch tolerierbaren Menge des GVO, da bei einer Entsorgung niemals eine vollständige Inaktivierung erreicht werden kann.

B. Wechselwirkungen mit der Umwelt:

1. *Vermutlicher Lebensraum des GVO*

Der Lebensraum ist im Vergleich zum Wildtyp zu betrachten, es erhebt sich die Frage, ob es sich in Österreich um einen "Exoten" handelt. Die Tatsache, daß der Organismus hier nicht heimisch ist, spricht für eine geringe Wahrscheinlichkeit für eine Etablierung. Allerdings bedeutet eine Freisetzung die Einführung. Die Möglichkeit für veränderte Eigenschaften müßte mitbedacht werden, zumal nicht davon ausgegangen werden kann, daß nach einer Freisetzung der Organismus regional begrenzt ist.

2. *Untersuchungen über das Verhalten und die Eigenschaften des GVO und seiner ökologischen Auswirkungen, die unter simulierten natürlichen Umweltbedingungen wie in Mikrokosmen, Klimakammern und Gewächshäusern durchgeführt werden*

Auf die Daten zu Simulationsversuchen kann nicht eingegangen werden, da sie nicht in ausreichender Form vorliegen.

3. *Fähigkeit zu Gentransfer:*

a. *Transfer genetischen Materials von dem/den GVO in Organismen in den betroffenen Ökosystemen bei der Freisetzung*

Praktisch alle Mikroorganismen besitzen die Fähigkeit zum Gentransfer. Die angegebenen Daten erscheinen daher unglaubwürdig. Für eine Risikoabschätzung sind jedoch die möglichen Folgen und die Geschwindigkeit des genetischen Austauschs bedeutsam, darauf wird bei dieser Frage in den vorliegenden Anträgen gar nicht eingegangen.

b. *Transfer genetischen Materials von einheimischen Organismen in den/die GVO, nachdem die Freisetzung stattgefunden hat*

Um diesen potentiell möglichen Transfer nachzuweisen, könnten experimentelle Freisetzungen in einem halbgeschlossenen Behälter durchgeführt werden.

- 4. Wahrscheinlichkeit einer Selektion nach der Freisetzung, die zur Ausprägung unerwarteter und/oder unerwünschter Merkmale bei dem veränderten Organismus führt** Die Entstehung eines neuen Pflanzenpathogens ist nicht gänzlich auszuschließen. Bei Beachten der GDP (Good Developmental Principles, OECD, siehe Kapitel 4) läßt sich die Wahrscheinlichkeit aber auf einem sehr geringen Niveau halten, das noch tolerabel erscheint.

V. UNTERRICHTUNG ÜBER ÜBERWACHUNG, KONTROLLE, ABFALLENTSORGUNG UND NOTEINSATZPLÄNE

wurden aus Zeitgründen nicht behandelt.

Anmerkung: Die Frage nach Alternativen

Es wurde ausführlich diskutiert, inwieweit mögliche Alternativen in die Risikobewertung einfließen sollten. Soll die Sinnhaftigkeit des Experiments beurteilt und gegen mögliche Alternativen zur Beantwortung der gleichen Fragestellung abgewogen werden? Unter welchen Bedingungen können solche Alternativen verglichen werden, und wer erarbeitet die dafür nötigen Informationen? Ist eine Vorgangsweise wie für die Zulassung von Arzneimitteln, in der u. a. die Überlegenheit gegenüber herkömmlichen Produkten oder Verfahren ein Kriterium der Beurteilung ist, für die Freisetzung von GVO möglich und zu empfehlen? Über diese Fragen konnte keine Einigkeit erzielt werden.

Einigkeit bestand jedoch darüber, daß die Risikoabschätzung per se und die Frage nach möglichen Alternativen in der Praxis nicht wirklich strikt getrennt werden können, man wird immer zu einer Gesamtbeurteilung tendieren. Allerdings könnte die Risikoabschätzung durch eine unklare Aufgabenstellung behindert und die Antragsteller durch persönliche Neigungen und Interessen der Gutachter ungleich behandelt werden. Die Frage blieb offen, ob die Sinnhaftigkeit von einzelnen Experimenten beurteilt werden kann und wessen Aufgabe dies sei.

2.2.2.3 Resümee

Da viele Einzelfragen nicht erschöpfend beantwortet werden konnten, hätte die Arbeitsgruppe empfohlen, den Antrag abzulehnen, weil das biologische Containment regional-spezifisch unbedingt zu gewährleisten sei.

Es erwies sich als schwierig, einen Antrag ohne den Antragsteller zu behandeln, der wahrscheinlich viele der offengebliebenen Fragen hätte beantworten können. Der Anhang II der Richtlinie 90/220 EWG erscheint aber trotz einiger Mängel als Grundlage für die Antragstellung geeignet. Durch die Auffassungsunterschiede innerhalb der Arbeitsgruppe wurde der Freiraum für die österreichspezifische Beurteilung deutlich. Letztlich entscheidend ist, wer die Beurteilung durchführt und welche persönliche Auffassung jenseits der wissenschaftlichen Evidenz darin zum Tragen kommt.

2.2.3 Freisetzung eines rekombinanten Rabies-(Tollwut-)Impfstoffs auf Basis von Vaccinia-Virus

2.2.3.1 Ausgangspunkt

Das Vaccinia-Virus wurde früher für die Pocken-Impfung verwendet, daher ist man mit der Handhabung des Virus vertraut und kennt dessen Eigenschaften. Diese Erfahrungen sucht man für die Herstellung neuer viraler Lebendimpfstoffe auszunutzen, im diskutierten Beispiel für einen veterinärmedizinischen oralen Impfstoff gegen Tollwut.

Hierzu wird ein bestimmter Teil des Gens für das Glycoprotein des Rabies-(Tollwut-)Erregers, das normalerweise für die Immunantwort in infizierten Tieren verantwortlich ist, in das Genom von Vaccinia eingesetzt. Das Vaccinia-Virus bildet dadurch in den befallenen Zellen des Wirtes ein Protein, das den von diesem Genstück codierten Teil des Rabies-Virusproteins enthält. Im Tier wird so eine Immunantwort sowohl gegen Vaccinia als auch gegen Rabies ausgelöst.

Auf diese Weise sollen Füchse in Tollwut-verseuchten Gebieten sicher und kostengünstig geimpft werden. Bisher wurden für diese Zwecke abgeschwächte lebende Tollwut-Erreger in ähnlicher Weise verwendet, deren Pathogenität aber nicht ganz beseitigt werden kann bzw. die zur Pathogenität zurückmutieren könnten. Als Alternative bietet sich an, die Tollwut dadurch zu bekämpfen, daß die Füchse (als Hauptüberträger) abgeschossen werden.

In großangelegten Feldversuchen in Belgien und Frankreich wurden Impfköder (mit einem Tetracyclin-Marker zum Nachweis der Aufnahme durch das Tier) ausgelegt und die Effizienz der neuen Impfmethode bestätigt sowie ihre Unschädlichkeit auch für andere Tiere demonstriert (PASTORET et al., 1992); allerdings gab es auch Kritik an diesen Versuchen (SCHENKELAARS, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992).

Literatur

- ALDHOUS, P., 1991, Zagury Challenges NIH Report [news]. *Nature* 352, 180.
- COONEY, E. L. et al., 1991, Safety of and Immunological Response to a Recombinant Vaccinia Virus Vaccine Expressing HIV Envelope Glycoprotein. *Lancet* 337, 567-572.
- DANNER, K., 1989, Smallpox Vaccination for Investigators [letter; comment]. *Lancet* 2, 1337-1338.
- KAPLAN, C., 1989, Vaccinia Virus: a Suitable Vehicle for Recombinant Vaccines? *Arch. Virol.* 106, 127-139.
- PASTORET, P.-P., BROCHIER, B., COPPENS, P., 1992, Development of a Recombinant Vaccinia-Rabies Virus for Wildlife Vaccination Against Rabies, in: Casper, R., Landsmann J. (Hrsg.), 1992, Proceedings of the 2nd International Symposium on The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig
- UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.), 1992, Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen. Wege zur Beurteilung ökologischer Auswirkungen. Tagungsberichte Nr. 6/6, Wien
- WENZEL, R.P., NETTLEMAN, M.D., 1989, Smallpox Vaccination for Investigators Using Vaccinia Recombinants, *Lancet* 22, 630-631.

2.2.3.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe

An zumindest einer der beiden Sitzungen nahmen teil:

Dr. H. Gaugitsch

Univ.-Prof. Dr. W. Lubitz

Univ.-Doz. DDr. W. Maurer

Univ.-Prof. Dr. K. Petzold

Dr. A. Palmeshofer

Univ.-Doz. Dr. H. Schwab

Dr. H. Torgersen

Dr. F. Turnowsky (sandte eine schriftliche Stellungnahme)

MinR. Dr. Weber

Anhand von publizierten Unterlagen versuchte die Arbeitsgruppe sich ein Bild von den Experimenten zu machen und zu beurteilen, wie derartige Versuche in Österreich eingeschätzt würden. Zunächst wird die Behandlung des Beispiels anhand einzelner Punkte des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 dargestellt. In der folgenden Aufstellung fehlen einige Punkte des Anhangs II, dies ergibt sich daraus, daß die jeweiligen Sachverhalte im Zusammenhang mit anderen Punkten diskutiert wurden oder die Arbeitsgruppe die betreffende Frage für das Beispiel als nicht relevant erachtete bzw. meinte, daß sie ohne Probleme aus publizierten und allgemein zugänglichen Daten beantwortet werden könne.

Im Anschluß an die Diskussion anhand des Anhangs II der EG-Richtlinie werden generelle Probleme beim Einsatz von Vaccinia-Viren behandelt, in deren Genom bestimmte Gene anderer Viren eingeschleust wurden, um damit spezifische Immunantworten auszulösen.

BEURTEILUNG NACH ANHANG II DER EG-RICHTLINIE 90/220

I. ALLGEMEINE INFORMATIONEN

wurden übersprungen.

II. INFORMATIONEN ÜBER DIE GVO

A. Eigenschaften des (der) a) Spender-, b) Empfänger- oder c) (gegebenenfalls) Elternorganismus(men):

FÜR DEN SPENDERORGANISMUS

- 1.-3.: *Charakterisierung* Rabiesvirus; die Angaben beziehen sich zum Großteil auf das entsprechende Glykoprotein, nicht auf das gesamte Virus.
4. *Phänotypische und genetische Marker* In diesem Fall sollte besser nach "relevanten Markern" gefragt werden.

8. Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen

Die natürliche Verbreitung des Spenderorganismus ist in jedem Falle anzugeben (Verweis auf relevante Literaturstellen). Kenntnis der Häufigkeit und des lokalen Auftretens sind nötig, um eventuelle epidemiologische Unterschiede und endemische Vorkommen abschätzen zu können. Wichtig ist die Unterscheidung nach Wirtssubtypen.

9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen

Dieser Punkt wird nur in wenigen Fällen erschöpfend zu beantworten sein, gegebenenfalls ist auf Referenzen zu verweisen.

10. Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen

Der Begriff "Prüfung" sollte durch "Sicherstellung" (mit entsprechendem Nachweis) ersetzt werden.

11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:

a. Risikoeinstufung nach derzeitigen Regeln der Gemeinschaft hinsichtlich des Schutzes der menschlichen Gesundheit und/oder der Umwelt

Es scheint sinnvoll, sowohl vom ursprünglichen Ausgangsstamm als auch vom verwendeten Impfstamm (bzw. für den verwendeten Teil des Virus, hier das Glycoprotein) eine Risikoeinstufung anzugeben.

d. Pathogenität: Infektiosität, Toxigenität, Virulenz, Allergenität, Träger (Vektor) von Pathogenen, mögliche Vektoren, Wirtsspektrum einschließlich der Nichtzielorganismen. Mögliche Aktivierung latenter Viren (Proviren). Fähigkeit zur Kolonisierung sonstiger Organismen

Eine Infektion von Menschen ist nicht auszuschließen, auch bei Rabies ist die Ursache für die Pathogenität nicht im Detail bekannt.

13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen

Im Zusammenhang mit Punkt 10 (Prüfung der genetischen Stabilität) zu beantworten; vor allem der Virulenzfaktor ist von Bedeutung.

FÜR DEN EMPFÄNGER-ORGANISMUS:

Für die Risikoabschätzung ist die detaillierte Beantwortung der Punkte 4, 6, 7, 8, 9, 10 und 13 dieses Abschnitts sehr wichtig, die Daten können aus der Literatur entnommen werden, im vorliegenden Fall sind sie aber unvollständig.

- 4. Phänotypische und genetische Marker** Neben phänotypischen und genetischen Markern sollte der generelle Charakterisierungsgrad des Organismus angegeben werden. Vom eingesetzten Vaccinia-Stamm sind nur wenige genetische Daten bekannt.
- 11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften** Spätestens hier wird nach Meinung einiger Teilnehmer ersichtlich, daß ein Impfstoff auf Vaccinia-Basis zur Zeit auf keinen Fall zuzulassen ist. Sie kritisierten, daß trotz der mittlerweile zahlreichen Publikationen, die die Bedenklichkeit des rekombinanten Tollwutimpfstoffs auf Vaccinia-Basis aufzeigen, noch immer mit diesem geimpft wird und dieser nicht längst europaweit verboten wurde.
- 13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen** Die Geschichte der Entwicklung des Vaccinia-Impfstamms, insbesondere die Virulenz des Ausgangs- und des verwendeten Impfstamms ist wichtig, um die mögliche Virulenz von Mutanten abschätzen zu können.

C. Eigenschaften des veränderten Organismus:

2. Informationen über den endgültigen GVO:

i. gesundheitliche Erwägungen

Die Einschränkung der Pathogenität auf immunkompetente Menschen ist nicht zulässig. Der Schutz der menschlichen Gesundheit endet nicht bei immunkompetenten Personen. Die Produktion von Vaccinia-Impfstoffen ist auch im geschlossenen System als bedenklich zu bewerten. Als problematisch sind Impfungen dann einzustufen, wenn der geimpfte Organismus nicht das Endglied der Infektionskette darstellt und das Virus weiter übertragen kann. Für die Beurteilung im Sinne einer "Freisetzung" eines transgenen Organismus ist die Überlebensfähigkeit und die Möglichkeit der Weitergabe des Impfvirus entscheidend. Die Zulassungsbestimmungen für rekombinante Vakzinen sind darüber hinaus noch strenger als die von herkömmlich hergestellten, da man kein Risiko eingehen will. Im vorliegenden Fall ist aber ein Risiko vorhanden.

III. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNGSBEDINGUNGEN UND DIE UMWELT, IN DIE GVO FREIGESETZT WERDEN

A. Informationen über die Freisetzung:

- 10. Für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuches vorgesehene Verfahren** Eine Beseitigung scheint grundsätzlich unmöglich.

- 11. Informationen und Ergebnisse früherer Freisetzungen des/der GVO, und zwar insbesondere Freisetzungen in unterschiedlichem Maßstab und in verschiedenen Ökosystemen** Nicht nur Angaben über den GVO, sondern auch über die Verwendung des Empfänger-Organismus.

**B. Informationen über die Umwelt
(sowohl am Ort der Freisetzung als auch in der weiteren Umgebung):**

- 9. Flora und Fauna einschließlich Nutzpflanzen, Nutztiere und wandernde Arten** Eine genaue Kenntnis der Fauna ist unabdingbar, insbesondere sämtliche möglichen Überträger müssen festgestellt werden.

**IV. INFORMATIONEN ÜBER DIE WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN DEM
GVO UND DER UMWELT**

A. Eigenschaften, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen:

- 1. Biologische Eigenschaften bezüglich des Überlebens, der Vermehrung und Verbreitung** Über den Mechanismus der Pathogenität beim Rabies-Virus ist zuwenig bekannt.

C. Potentielle Auswirkungen auf die Umwelt:

- 6. Wahrscheinlichkeit von Änderungen in den biologischen Wechselwirkungen oder im Bereich der Wirtsorganismen bei der Freisetzung** In diesem Zusammenhang sind Langzeiteffekte zu beachten.
- 7. Bekannte oder vorhersehbare Wirkungen auf Nichtzielorganismen in der Umwelt, Wirkung auf die Populationsniveaus der Konkurrenten, Beuteorganismen, Wirtsorganismen, Symbionten, Räuber, Parasiten und Pathogenen** Nichtzielorganismus ist der Mensch. Im Falle der Impfung von Rindern mit Vaccinia gegen Kuhpocken ist eine Beeinträchtigung der Milchleistung zu erwarten. Dieser wirtschaftliche Aspekt ist allerdings nicht im Zuge der Risikoabschätzung zu behandeln.

V. UNTERRICHTUNG ÜBER ÜBERWACHUNG, KONTROLLE, ABFALLENTSORGUNG UND NOTEINSATZPLÄNE

A. Überwachungsverfahren:

- | | |
|---|--|
| 1. Methoden zum Aufspüren des/der GVO und zur Überwachung ihrer Wirkungen | Nur der primäre Rezipient ist feststellbar (über Tetrazyklin, das im Köder gleichzeitig verabreicht wird). Sekundärinfektionen entziehen sich der Überwachbarkeit. |
| 3. Verfahren zur Ermittlung einer Übertragung der übertragenen genetischen Eigenschaften auf andere Organismen | Mögliche Rekombinationen sind in Betracht zu ziehen. |
| 4. Dauer und Häufigkeit der Überwachung | Die Überwachung muß über längere Zeiträume durchgeführt werden. |

B. Überwachung der Freisetzung:

- | | |
|---|--|
| 2. Methoden und Verfahren zum Schutz des Geländes vor dem Betreten durch Unbefugte | Das Versuchsgelände ist zu kennzeichnen. |
|---|--|

C. Abfallentsorgung:

- | | |
|-----------------------------|---|
| 3. Mögliche Gefahren | Es ist unklar, was mit infizierten Tierkadavern zu geschehen hat. |
|-----------------------------|---|

Anmerkung: Grundsätzliche Einwände

wurden von einigen Teilnehmer in bezug auf folgende Punkte geäußert:

- Vaccinia-Viren wurden bereits mehrfach als Impfstämme eingesetzt, eine Immunisierung mit rekombinanten Vaccinia ist bei Personen (oder zukünftig bei Tieren), die schon mit anderen Vaccinia-Impfstoffen behandelt wurden, nicht mehr in ausreichendem Maß garantiert.
- Vaccinia würde unter heutigen Bedingungen auch als Pocken-Impfstoff wegen möglicher Komplikationen nicht mehr zugelassen werden, weil beim Einsatz wiederholt Probleme auftraten. In den letzten Jahren mehrten sich die Befunde, daß Vaccinia eine nicht zu vernachlässigende Humanpathogenität besitzt. Vor allem immunsupprimierte Menschen können leicht an Vaccinia-Infektionen erkranken. Für HIV-positive Personen verläuft diese Infektion mit großer Wahrscheinlichkeit tödlich. Die Infektionsgefahr für Menschen ist beim großflächigen Ausbringen des Impfstoffs in Ködern nicht zu vernachlässigen.
- Der Ursprung des Vaccinia-Virus ist unklar, man diskutiert eine Abstammung vom Pocken- oder vom Kuhpocken-Virus. Das Virus könnte allerdings auch durch Hybridbildung entstanden sein oder den Prototyp eines Pockenvirus darstellen. Das Vaccinia-Virus gehört zu den größten bekannten Viren; man hatte bisher nur wenige DNA-Sequenzdaten und konnte des-

halb keine Schlüsse auf die genetische Verwandtschaft aus der Primärsequenz ziehen. Bis Ende 1993 hofft man, das Pocken-Virus zur Gänze sequenziert zu haben (ALDHOUS, 1991). Erst wenn die Sequenz bekannt ist, kann die Zuordnung der pathologischen Eigenschaften zu bestimmten Genen beginnen. Über die Pathotropie ist ebenfalls kaum etwas bekannt.

- Die lokale Population von Tieren ist für die Risikoabschätzung bei diesem Beispiel von Bedeutung. Zum Beispiel dürfte in Belgien kaum auf Pathogenität für Gamsen getestet worden sein, der Impfstoff soll aber in verschiedenen Ländern eingesetzt werden. Einige Vaccinia-Stämme konnten sich z. B. in indischen Büffeln etablieren.
- Für die Entwicklung von viralen "Lebendimpfstoffen", seien es attenuierte Erreger oder rekombinante Viren, ist die Kenntnis der Herkunft des verwendeten Stammes von entscheidender Bedeutung. Die Herkunft des verwendeten Impfstammes ist nicht genau bekannt, für die Beurteilung von rekombinanten Vaccinia-Impfstoffen ist es unumgänglich, darüber zunächst Klarheit zu erhalten.
- Für die Zulassung von Veterinärimpfstoffen ist derzeit die Veterinärabteilung des Gesundheitsministeriums zuständig. Die Zulassung eines Humanimpfstoffs fällt unter das Arzneimittelgesetz und erfordert eine Prüfung, die in einigen Punkten ähnlich der in der EG-Richtlinie 90/220 geforderten Vorabbeurteilung ist, obwohl die Zulassungspraxis für herkömmliche Vakzinen (attenuierte Erreger) kaum mit den EG-Richtlinien für rekombinante Organismen zu vergleichen ist. Für eine Beurteilung sollte die beratende Fachkommission die Risiken, die von einer rekombinanten Vakzine ausgehen könnten, mit denen des bisher verwendeten herkömmlichen Impfstoffes gegen dieselbe Krankheit vergleichen. Im Verlauf der Beurteilung eines rekombinanten Rabies-Impfstoffs sollte auch der derzeit als Impfstamm verwendete attenuierte Erreger hinsichtlich der Effizienz, der Apathogenität für Mensch und Tier und der Auswirkungen auf Nichtzielorganismen nach den gleichen Kriterien wie der rekombinante Impfstoff und außerdem nach der Wahrscheinlichkeit für eine Reversion zum virulenten Erreger beurteilt werden.
- Der Anhang der EG-Richtlinie 90/220 stellt im allgemeinen eine akzeptable Basis für die Beurteilung von Freisetzungsvorversuchen dar (für Impfstoffe dann relevant, wenn keine anderen Richtlinien zum Tragen kommen). Ein Antrag auf Freisetzung sollte nach der EG-Richtlinie zunächst unabhängig vom Zweck der Verwendung beurteilt werden, die Frage nach der Sinnhaftigkeit ist dabei nicht zu stellen. Für Vakzinen gelten bereits andere Bestimmungen (wie die Richtlinien zur Zulassung von Arzneimitteln), die die Frage nach dem Vorteil gegenüber bisherigen Präparaten aber beinhalten. Dies sollte auch im Fall rekombinanter Impfstoffe beibehalten werden. Das "Fall zu Fall"-Prinzip sollte bei der Beurteilung unbedingt eingehalten werden.

2.2.3.3 Resümee

Die Arbeitsgruppe empfahl, einen Antrag auf Freisetzung von rekombinantem Rabies-Impfstoff auf Vaccinia-Basis abzulehnen.

Dabei ist die gentechnische Veränderung in diesem Falle nicht das wesentliche Kriterium. Diese Entscheidung wäre in erster Linie aufgrund von Vorbehalten gegenüber dem Empfängerorganismus gefallen; die Strategie, mit Hilfe des Vaccinia-Virus Lebendimpfstoffe gegen verschiedene Erkrankungen sowohl für die Human- als auch die Veterinärmedizin herzustellen, stößt generell auf massive Bedenken. Demnach würde auch ein nicht gentechnisch veränderter Le-

bendimpfstoff auf Vaccinia-Basis nicht zugelassen. Es läßt sich also in diesem Fall keine klare Trennung zwischen den Bedenken gegen ein Freisetzungsexperiment und gegen die Impfstoffzulassung ziehen, da bereits bei der experimentellen Freisetzung Kriterien relevant werden, die bei der Impfstoffzulassung ausschlaggebend sind und die bereits bei der Prüfung nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 erhoben werden.

2.2.4 Freisetzung von *Rhizobium leguminosarum* var. *viciae* mit einem Markergen

2.2.4.1 Ausgangspunkt

Transgene *Rhizobium*-Stämmen mit verschiedenen eingefügten Genen waren in den letzten Jahren Gegenstand einer Reihe von Freisetzungsversuchen in den USA. Meist wurden Markergene eingesetzt, um Informationen über die Art und Weise der Ausbreitung oder die Häufigkeit des Gentransfers zu erhalten. Ähnlich wie beim Beispiel "Clavibacter" wurden daher notwendige grundlegende Informationen für eine Risikoeinschätzung von transgenen Rhizobien zunächst aus Unterlagen amerikanischer Behörden verwendet. Die United States Environmental Protection Agency stellte freundlicherweise eine Zusammenstellung ihrer Risikoeinschätzungen von Anträgen zur Freisetzung von verschiedenen transgenen Rhizobien, die in den letzten Jahren begutachtet worden waren, zur Verfügung. Dadurch wurde es möglich, sich einen Überblick über die Beurteilungspraxis in den USA zu verschaffen und so einen Ausgangspunkt für die weitere Vorgangsweise zu finden.

Literatur

- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1992, Briefing Paper, Case Number P92-399-403 on *Rhizobium meliloti*, einschließlich vorhergegangener experimenteller Freisetzungen
- HIRSCH, P.R., WADEY, R.B., BERINGER, J.E., 1984, Genetic interaction between *Rhizobium inoculum* and native strains in the field, 2nd Int. Symp. on the Molecular Genetics of the Bacteria-Plant Interaction, Ithaka, USA
- HIRSCH, P.R., SPOKES, J.R., DAY, J.M., 1987, Revised proposal to release a genetically manipulated strain of *Rhizobium leguminosarum* in the field, official proposal to ACGM from Rothamsted Experimental Station, Harpenden
- ADVISORY COMMITTEE ON GENETIC MODIFICATION (ACGM), 1993, Risk Assessment of a *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* with a Gene for GUS.

2.2.4.2 Frühere Freisetzungen von *Rhizobium* in den USA

Mehrere transgene Stämme von *Rhizobium meliloti* wurden als "neue Substanzen" (nach dem Toxic Substances Control Act) bei der EPA zur Freisetzung für Forschungs- und Entwicklungszwecke angemeldet (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA)), 1992, zum Vorgang siehe Kapitel 4). Diese Stämme enthielten u. a. Gene für die verbesserte Stickstofffixierung oder für den verbesserten Transport von Dicarbonsäuren sowie diverse Antibiotikaresistenzen als Marker. Weder die lokalen Behörden noch diverse Umweltorganisationen

meldeten in den Jahren 1988 und 1989 Einwände gegen die Freisetzungsanträge an. Aus diesem Grund wurde es nicht für notwendig erachtet, öffentliche Kommentare zu einem Antrag im Jahre 1992 abzuwarten.

Die verwendeten Rhizobium-Stämme lassen nach Einschätzung der Behörden keine schädigende Auswirkung erwarten. Sie unterscheiden sich bis auf ihre Fähigkeit zur verbesserten Stickstofffixierung nicht von den Ausgangsstämmen, die schon lange in der Landwirtschaft ohne Probleme verwendet wurden. Die amerikanischen Behörden kamen daher zu der Ansicht, daß Freisetzungsversuche in kleinem Maßstab mit diesen Organismen auch ohne eingehende Voraburteilung genehmigt werden könnten. Im Falle eines Inverkehrbringens sollten Anträge aber sehr wohl wieder im Detail behandelt werden, weil fast alle Kontrollmöglichkeiten wegfallen. Verweise auf mögliche langfristige Folgen fehlen. Es findet sich allerdings ein Hinweis, daß es zum aktuellen Stand der Entwicklungen keine konkreten Vorstellungen darüber gibt, welche Sicherheitsmaßnahmen bei einem eventuellen Inverkehrbringen als ausreichend anzusehen sind. Hierfür sollten zumindest folgende Tests durchgeführt werden:

- Bestimmung des Ernteertrags;
- Besiedlung der Wurzelknöllchen;
- Wettbewerbsfähigkeit gegenüber den Ausgangsorganismen;
- Populationstrends;
- Untersuchungen einzelner Bodenbestandteile;
- Anwesenheit von Mikroorganismen in Pflanzengewebe außerhalb der Wurzeln.

Die Gutachter der EPA wiesen darauf hin, daß die eingefügten Antibiotika-Resistenzen beim Inverkehrbringen in unerwünschter Weise verbreitet werden könnten. Die Ergebnisse der Risikoabschätzung werden im folgenden kurz zusammengefaßt:

ZUSAMMENFASSUNG DER RISIKOABSCHÄTZUNG DURCH DIE EPA

Gesundheitliche Auswirkungen:	Weder der Ausgangsorganismus noch das eingefügte genetische Material stellen (im Ausmaß der beantragten Versuche) ein signifikantes Risiko für die menschliche Gesundheit dar. Dieses Risiko wird durch die genetische Veränderung nicht erhöht.
Umwelteffekte:	Für Versuche im kleinen Maßstab kann angenommen werden, daß von den transgenen Organismen kein Umweltrisiko ausgeht und sie sich ähnlich verhalten wie die Ausgangsorganismen.
Exponierung der Beschäftigten:	Schutzmaßnahmen sind nicht nötig. Da aus früheren Versuchen bekannt ist, daß die vertikale und horizontale Ausbreitung der Organismen vernachlässigbar ist, kann für die beantragten Versuche auf diesbezügliche Überwachungsmaßnahmen verzichtet werden.
Überlebensfähigkeit der freigesetzten Organismen:	Ein bestimmter Anteil der freigesetzten Mikroorganismen ist auch nach mehreren Jahren noch im Boden nachweisbar. Werden Versuche im kleinen Maßstab durchgeführt, können diese überwacht werden. Somit ist der sichere Umgang mit den Organismen gewährleistet. Faktoren, die die Organismen beeinflussen, sind Temperatur, Feuchtigkeit, pH und die Anwesenheit anderer Mikroorganismen.

Abschätzung des Nutzens der Versuche: Das Ziel des Experiments ist es, Daten über die verbesserte Fähigkeit der Stickstofffixierung an Luzernen zu gewinnen. Zusätzlich werden Daten über das ökologische Verhalten der freigesetzten Rhizobienstämme erhoben. Lassen sich derartige Stämme erfolgreich entwickeln, wären höhere Ernteerträge beim Anbau von Luzernen zu erwarten.

2.2.4.3 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe

An der Sitzung nahmen teil:

Dr. P. Hirsch

Dr. H. Gaugitsch

Univ.-Prof. Dr. W. Lubitz

Dr. A. Palmeshofer

Dr. I. Sichrovsky

Dr. H. Torgersen

Dr. F. Turnowsky

Diskussion eines britischen Antrages auf Freisetzung transgener Rhizobien

Da es sich gezeigt hatte, daß ein Freisetzungsexperiment aus publizierten Daten alleine nicht vollständig beurteilbar ist, wurde Frau Dr. Penny Hirsch, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts., England eingeladen, der österreichischen Arbeitsgruppe ihren Antrag auf Freisetzung transgener Rhizobien, die ein GUS-Markergen enthalten, an die zuständige britische Behörde zu erläutern.

In Großbritannien gab es bereits vor der Implementierung der EG-Richtlinie 90/220 Vorschriften für Anträge auf Freisetzung von GVO und für die Risikoabschätzung (siehe Kapitel 4). Im Zuge der Implementierung der EG-Richtlinie wurden diese überarbeitet und erlangten EG-Kompatibilität. Die Antragsunterlagen sehen nunmehr Informationen nach dem Anhang II vor, im Gegensatz zu früher wird mehr Wert auf gesamtökologische Fragestellungen gelegt, allerdings weniger auf die jeweiligen spezifischen geographischen Gegebenheiten. In der Praxis erweist sich jedoch nach Angaben von Dr. Hirsch der Unterschied als gering – der Umfang der anzugebenden Informationen und die Vorgangsweise der Risikoabschätzung sind demnach fast identisch zu früher. Im Verlauf des britischen Genehmigungsverfahrens führt das begutachtende Komitee (Advisory Committee on Release into the Environment, ACRE, ein Subkomitee des Advisory Committee on Genetic Modification, ACGM), das die zuständigen Behörden (Department of Environment und Health and Safety Executive) berät, die Risikoabschätzung durch und fordert den Antragsteller auf, seinen Vorschlag persönlich zu präsentieren, mögliche Unklarheiten zu beseitigen und Vorschläge für Modifikationen zu diskutieren.

Die Vorgangsweise bei der Risikoabschätzung interpretiert die Informationen aus den Antragsunterlagen nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 und erschien der Arbeitsgruppe daher interessant. Der Anhang II wurde folglich bei der Besprechung des Beispiels nicht weiter verwendet, sondern man hielt sich an die britische Evaluation.

Im folgenden werden die freundlicherweise von der Autorin zur Verfügung gestellten Unterlagen kurz zusammengefaßt. Ohne Kenntnis der früheren Versuche zur gleichen Thematik am selben Ort ist der Sachverhalt aber schwer nachvollziehbar, da es sich um ein Folgeexperiment handelt, das die vorhergehenden Experimente voraussetzt, daher zunächst die Darstellung eines vorhergehenden Versuchs:

Vorhergehender Versuch

Ausgangspunkt:

Rhizobien, denen durch Transposonaufnahme bestimmte Antibiotikaresistenzen vermittelt wurden, sollten im Jahre 1987 freigesetzt werden, um Aussagen über die Häufigkeit des "natürlichen" Gentransfers zu erhalten. Aus Labordaten war bekannt, daß Gentransfer von Rhizobien auf andere Bakterien nicht oder nur äußerst selten zu erwarten ist. Obwohl keine im eigentlichen Sinne gentechnisch veränderten Organismen verwendet werden sollten, meinte man, daß ein Zulassungsverfahren für die Freisetzung erforderlich sei und stellte einen Antrag an das damals zuständige Advisory Committee on Genetic Manipulation (ACGM).

Versuchsbeschreibung:

Der Versuch sah vor, Erbsen mit einem Stamm von *Rhizobium leguminosarum* zu beimpfen, der die Fähigkeit zur aktiven Besiedelung von Leguminosen verloren und durch Einbau von Tn5-Transposons Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika erhalten hatte. Die Wurzelknöllchen sollten auf antibiotikaresistente Stämme untersucht werden, um Aussagen über die Frequenz des Gentransfers zu erhalten. Außerdem sollte die Überlebensrate der freigesetzten Rhizobien gemessen werden. Der Versuch war über drei Jahre geplant, im zweiten Jahr war vorgesehen, auf der Versuchsfläche Pflanzen anzubauen, die nicht von Rhizobien besiedelt werden können. Tn5 sollte vor allem wegen der breiten Wirtsspezifität und des leichten Nachweises verwendet werden.

Auflagen:

Das Komitee genehmigte den Versuch unter der Bedingung, mit einer genügend hohen Zahl von Bakterien (10^6 pro Pflanze) zu beimpfen; dazu verlangte es Informationen über die Auswirkungen, die ein Gentransfer im ungünstigsten Fall haben könnte ("worst case"-Szenario). Als bedenklich erschien dem Komitee, daß Antibiotikaresistenzen verbreitet werden könnten, vor allem auf Enterobakterien, allerdings werden die für den Versuch vorgesehenen Antibiotika kaum medizinisch verwendet. Tn5 gilt als gut bekannt, gesundheitliche Auswirkungen aufgrund des Transposons sind bislang nicht beobachtet worden.

Ergebnis:

Das erste Versuchsjahr ergab, daß die Rate des Gentransfers unter 10^{-4} lag. Überraschend war der Befund, daß die ausgebrachten Bakterien eine hohe Überlebensrate hatten. Nach zwei bis drei Jahren hatte sich die Zahl der nachweisbaren Organismen bei einem konstanten Wert zwischen 10^2 und 10^3 pro Gramm Boden eingependelt.

Zusammenfassung des Antrages für 1993 auf Freisetzung von *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viciae* mit einem GUS-Markergen

Aufbauend auf diesen Versuch wurde im Jahre 1993 ein neuer Antrag auf Freisetzung gestellt, diesmal für einen tatsächlich gentechnisch veränderten Rhizobienstamm, dem das Markergen GUS A eingefügt worden war. Dieser Antrag wurde zunächst vom lokalen Sicherheitskomitee nach den neuen britischen Richtlinien beurteilt (siehe Kapitel 4) und gebilligt. Zum Zeitpunkt der Sitzung der Arbeitsgruppe wurde dieser Antrag bei der zuständigen britischen Behörde gerade vorbereitend bearbeitet und dem ACGM vorgelegt. Dieser Versuchsvorschlag, den die Autorin vor der Arbeitsgruppe vortrug, war Gegenstand der Diskussion.

Zusammenfassende Versuchsbeschreibung:

Einem Rhizobienstamm (Vf 39), der keine Knöllchen bilden kann, weil ihm das dafür notwendige Plasmid pSym fehlt, wurde gentechnisch das GUS-A-(Glukuronidase-)Gen stabil im

Chromosom integriert (in Zusammenarbeit mit G. Pühler, Bielefeld). Dieses Gen ermöglicht den leichten Nachweis von Kolonien des Organismus, indem es die Fähigkeit verleiht, ein bestimmtes Substrat so zu verarbeiten, daß ein Farbstoff abgespalten wird, der sichtbar ist und fluoresziert. Die Rhizobien sollen auf der Fläche freigesetzt werden, die für den vorigen Versuch verwendet wurde und von der bekannt ist, daß sie 10^2 bis 10^3 Knöllchenbildende Rhizobien mit den oben beschriebenen Resistenzen pro g Boden enthält. Um die Häufigkeit des Gentransfers von pSym von Knöllchenbildenden Rhizobien auf den freigesetzten Stamm Vf 39 mit dem GUS-A-Gen zu untersuchen, werden Erbsenkeime mit diesem beimpft und ausgesetzt. Wenn es zu einem Gentransfer kommt, der zur Knöllchenbildung führt, können Kolonien von Rhizobien, bei denen Gentransfer stattgefunden hat, leicht durch Blaufärbung oder Fluoreszenz der Knöllchen erkannt werden.

Absicht:

Aufschlüsse über die Häufigkeit des Gentransfers in der Bodenmikroflora.

Art des Organismus und des genetischen Materials:

Rhizobium gehört zu den Gram-negativen Bakterien, Familie Rhizobiaceae. Die Art *leguminosarum* biovar *viciae* kommt ubiquitär im (nordeuropäischen) Boden vor. Charakteristisch ist die Fähigkeit der Symbiose mit Leguminosen, also die Bildung von Wurzelknöllchen und die Fähigkeit zur Stickstofffixierung.

Eingefügtes genetisches Material:

Das GUS-A-Gen codiert für Glukuronidase, stammt ursprünglich aus *E.coli* und wird schon lange sicher verwendet. Bisher konnte keine schädigende Wirkung nachgewiesen werden. Glukuronidase-Aktivität wurde bisher nicht in Pflanzen oder Rhizobien gefunden, in Bodenbakterien dürfte es in etwa drei Prozent der Isolate vorkommen. Es wird also keine neuartige enzymatische Aktivität in das Ökosystem des Bodens eingeführt. Deshalb sind auch durch Gentransferereignisse kaum signifikante Effekte zu erwarten. Die Integration des GUS-A-Gens in das Chromosom scheint stabil zu sein. In Laborexperimenten liegt die Transferate (wenn ein konjugatives Plasmid vorhanden ist) bei 10^{-4} bis 10^{-8} . Unter Feldbedingungen dürfte die Transferrate noch niedriger sein.

Dauerformen:

Rhizobien bilden keine Sporen, können aber (wie fast alle Bodenmikroorganismen) Dauerformen ausbilden und so lange Zeit überlebensfähig bleiben.

Monitoring:

Das GUS-A-Gen ermöglicht es, eine größere Zahl von Knöllchen auf Bakterien, die das Gen aufgenommen haben, durch einfache Färbereaktion zu untersuchen. Durch Anpflanzen von Klee und Pferdebohnen (die nicht von *Rhizobium leguminosarum* besiedelt werden) in den folgenden Jahren kann ein Transfer auf andere Rhizobienarten untersucht werden.

Überleben und Entfernung:

Der Antragsteller sollte folgende Punkte überprüfen:

- Überleben und Persistenz des neuen Organismus,
- Empfindlichkeit des Organismus auf Temperatur, Feuchtigkeit, Austrocknung, UV-Licht und andere ökologische Stressbedingungen,
- Veränderungen des Organismus, die dessen Überlebensfähigkeit und die Fähigkeit zum Gentransfer beeinflussen könnten,
- das Potential zum Gentransfer,
- Methoden zur Kontrolle oder zur Entfernung nicht erwünschter Organismen oder von Nukleinsäuren aus der Umwelt,
- mögliche Effekte der genetischen Modifikation auf das "ökologische Verhalten" des Organismus in seinem natürlichen Habitat.

RISIKOBEURTEILUNG DURCH DAS ACGM – FRAGEN & KOMMENTARE

I. ART DES ORGANISMUS UND DES EINGEFÜGTEN GENETISCHEN MATERIALS

FRAGE 1:

Wurde der Organismus bisher in die Umwelt freigesetzt und führte dies zu unerwünschten Effekten oder gibt es Anhaltspunkte dafür? Zu beachten:

- *Art des Empfängerorganismus, phänotypische und taxonomische Beschreibung, wissenschaftlicher Name, Wirtsbereich*
- *Art des Spenderorganismus*
- *Ursprung des Vektors und dessen Konstruktion*
- *Pathogenität des Rezipienten für Mensch, Tier, Pflanze oder Mikroorganismus*
- *Überlebensfähigkeit*
- *Fremde oder einheimische Spezies*

Kommentare

Schlußfolgerungen

Rh. leguminosarum wurde in den letzten 100 Jahren verbreitet eingesetzt, ohne daß es zu unerwünschten Effekten gekommen wäre. Der Stamm kommt in Nordeuropa vor. Es liegen keine Gründe für die Befürchtung vor, daß der Organismus (nativ oder GUS-transgen) schädlich sein könnte. Vektorsequenzen kommen nicht vor, die Insertion kann nachgewiesen werden. Die Gruppe, die den Stamm in Deutschland isolierte, hat große Erfahrung damit, es gibt keinen Grund anzunehmen, daß sich dieser von anderen Rh. leg.-Stämmen im Verhalten unterscheidet.

Es erscheint nachgewiesen, daß sowohl Rhizobien als auch GUS sicher sind, nichts deutet darauf hin, daß unerwünschte Nebeneffekte aus der Freisetzung des transgenen Stammes wahrscheinlich wären.

FRAGE 2:

Gibt es Anhaltspunkte dafür, daß der Organismus seine Pathogenität verändern oder unerwünschte ökologische Effekte haben könnte? Zu beachten:

- *Die Prozedur des Einfügens des Fremdgens und phänotypische Veränderung*
- *Art der veränderten Nukleinsäure, genetische Marker für das Monitoring*
- *Herkunft der DNA*
- *Funktion, Ort und Höhe der Expression des neuen Genprodukts*
- *Sicherheit, daß keine unbekannt Sequenzen im Insert vorhanden sind*
- *Genetische Stabilität*
- *Stoffwechselwege und -produkte, die durch die Modifikation beeinflusst werden*
- *Erwartete Effekte auf das Verhalten d. Organismus, auf Überlebensformen, Zielbiota*

Kommentare

Schlußfolgerungen

Es gibt keinen Grund zur Annahme, daß die GUS-Aktivität den Wirtsbereich ändert oder den Stamm pathogen werden läßt. In der Literatur der letzten Jahre wurde über hohe GUS-Expression in transgenen Pflanzen und Rhizobien (und auch Nematoden) ohne schädliche Auswirkungen berichtet. GUS scheint die symbiotischen Eigenschaften nicht zu beeinflussen. Der GUS-transgene Stamm besitzt kein symbiotisches Plasmid und kann keine Knöllchen bilden wie normale Stämme. Aufnahme von pSym von anderen Rhizobien kann diese Fähigkeit für den natürlichen Wirt wiederherstellen oder einen neuen Wirtsbereich erschließen, dies ist aber vermutlich sehr selten. Auswirkungen auf die Bodenökologie werden durch den GUS-produzierenden Stamm nicht erwartet, weil bereits einige Prozent der Bodenbakterien (aber keine Rhizobien) GUS produzieren.

Es liegen keine Gründe für die Befürchtung vor, daß der GUS-Phänotyp den Rhizobienstamm pathogen werden läßt oder unannehmbare Nebenwirkungen haben wird.

FRAGE 3:

Gibt es irgendwelche Bedenken aus Vorversuchen in Mikrokosmen, Gewächshaus usw.?

Zu beachten:

- *Veränderung der Überlebensfähigkeit und Wirtsspezifität durch die genetische Modifikation*
- *Aussagekraft früherer experimenteller Ergebnisse*
- *Einschätzung des Risikos*
- *Vergleich der beobachteten mit den erwarteten Effekten*

Kommentare

Der Stamm Vf 39 hat offensichtlich einen normalen symbiotischen Phänotyp mit GUS. Der Stamm ohne symbiotisches Plasmid erhält seine normale Aktivität durch Aufnahme von pSym zurück. Vor einer Freisetzung muß überprüft werden, ob der GUS-transgene Stamm ohne pSym sich auch symbiotisch normal verhält, wenn er wieder pSym aufgenommen hat.

Schlußfolgerungen

Gründe zur Besorgnis durch vorhergehende Labor- und Glashausexperimente wurden nicht erhoben. Bevor der Versuch beginnt, müssen die Struktur und die symbiotischen Eigenschaften des für die Freisetzung vorgesehenen Stammes nachgeprüft werden.

II. FREISETZUNG UND MONITORING**FRAGE 4:**

Gibt der Versuchsplan für die Freisetzung Anlaß zu Besorgnis?

Zu beachten:

- *Ort, Größe, Art des Versuchsgeländes, Sicherheitsbeurteilung*
- *Nähe zu anderen Biota*
- *Zielökosystem*
- *Vorbereitung, Transport, Ausmaß, Häufigkeit und Dauer der Experimente*
- *Sicherheitsvorkehrungen*

Kommentare

Hochsicherheitseinrichtungen sind am Freisetzungsort nicht angebracht. Einige Meter kultivierten Ackers sollten als Barriere innerhalb des eingezäunten Bereiches vorgesehen werden. Das Experiment wäre undurchführbar, wenn hohe Containment-Maßnahmen notwendig wären. Vorsichtsmaßnahmen gegen die Verbreitung von Organismen oder kontaminierten Bodens außerhalb des Freisetzungsgeländes sind vorzusehen. Ein Desinfektions-Fußbad am Ausgang des Geländes gibt zusätzliche Sicherheit. Das Gelände um das Freisetzungsbeet und der Acker sollten auf Ausbreitung des Organismus untersucht werden.

Schlußfolgerungen

Der Versuchsplan sieht ausreichende Sicherheitsmaßnahmen vor.

FRAGE 5:

Gibt es neben dem erwünschten Effekt die Möglichkeit eines unerwünschten schädlichen Nebeneffekts? Zu beachten:

- Vorhergesagte und beobachtete Effekte auf Ökosysteme

Kommentare**Schlußfolgerungen**

Das Experiment ist so angelegt, daß untersucht werden soll, was geschieht, es soll kein Effekt auf die Bodenökologie hervorgerufen werden.

Es gibt keinen "erwünschten" Effekt, daher erscheint die Frage irrelevant.

FRAGE 6:

Wie groß ist die Wahrscheinlichkeit für den Gentransfer auf Nichtzielorganismen und welche Konsequenzen könnten damit verbunden sein? Zu beachten:

- Transferpotential
- Einfluß der Modifikation auf die Wahrscheinlichkeit des Gentransfers

Kommentare**Schlußfolgerungen**

Das Transferpotential ist wegen der stabilen chromosomalen Integration gering. Das Experiment ist so angelegt, daß Transfer auf den und nicht vom Organismus untersucht werden soll, daher ist das Konstrukt so stabil wie möglich. Der Nachweis von GUS-Transfer auf Nicht-Rhizobien ist wegen des Hintergrunds an GUS-produzierenden Bodenbakterien schwierig, die Wahrscheinlichkeit sehr gering. Transfer auf andere Rhizobien kann durch Untersuchung der Knöllchen nachgewiesen werden, alle GUS-enhaltenden Knöllchen sind zu testen, um die Identität festzustellen. Es gibt natürlich vorkommende GUS-produzierende Bakterien im Boden, daher werden keine schädlichen Effekte des Transfers von GUS-A auf andere Bakterien erwartet.

Die Wahrscheinlichkeit eines Gentransfers vom freigesetzten Stamm ist sehr gering, es werden keine schädlichen Folgen erwartet.

FRAGE 7:

Sind die Vorschläge zur Überwachung ausreichend?

Zu beachten:

- Methoden zur Kontrolle und Eliminierung des Organismus nach der Freisetzung
- Möglichkeiten und Pläne für das Monitoring
- Methodologie und Nachweisgrenzen

Kommentare**Schlußfolgerungen**

Wenn notwendig, können bis zu 10.000 Knöllchen auf GUS-produzierende Rhizobien untersucht werden, aber damit werden nur diejenigen nachgewiesen, die pSym von anderen Rhizobien erhalten haben, vermutlich eine kleine Minderheit der Gesamtpopulation. Organismen, die im Boden überleben, können durch Ausplattieren von Bodenproben auf selektiven Medien und X-glu (Substrat für GUS) überwacht werden. Ein hoher Hintergrund von anderen resistenten Bakterien ist zu erwarten, einige davon mit GUS. Die Detektionsgrenze ist mit ca. 100-1000 GUS-Rhizobien pro g Boden anzunehmen, darunter ist der Hintergrund zu hoch. Vorherige Versuche mit *R. legumin.* auf dem Versuchsfeld haben gezeigt, daß die Zahl der Organismen nicht durch Nichtanbau der Wirtspflanzen vermindert wird.

Obwohl die Untergrenze für den Nachweis von GUS-produzierenden Rhizobien im Boden bei 100 lebensfähigen Zellen pro g Boden liegt, ist dies ausreichend, um eine Verminderung oder signifikante Vermehrung nach Freisetzen (mit 10^5 Organismen pro g Boden) feststellen zu können.

Die Verwendung von GUS und Antibiotikamarkern zum Nachweis ist nicht sehr sensitiv, kann aber Obergrenzen feststellen. Chemische Bodensterilisation kann die Zahl der Bakterien um einige Größenordnungen vermindern, aber nicht alle eliminieren. In situ-Dampfbehandlung könnte effektiver sein, als letzter Ausweg bleibt das Abtragen des Bodens.

III. ÜBERLEBEN UND ENTFERNUNG

FRAGE 8:

*Ist die Überlebensfähigkeit des Organismus begrenzt (Selbsterstörung, UV-Sensitivität)?
Zu beachten:*

- *Art der Begrenzungen*
- *Möglichkeit der Reversion durch Selektion oder Rekombination*
- *Konsequenzen aus dem möglichen Versagen solcher Systeme*

Kommentare

Schlußfolgerungen

Rhizobien sind an den Boden angepaßt und können Trockenheit überstehen, obwohl keine Sporen gebildet werden. Durch die UV-Empfindlichkeit ist es unwahrscheinlich, daß sie lange an der Oberfläche überleben, sie sind im Boden aber meist gut geschützt. *R. legumin.* stirbt bei 37 Grad C, daher ist ein Überleben im menschlichen Darm unwahrscheinlich.

Der Stamm überlebt wahrscheinlich gut im Boden, dies ist aber kein Grund, die Freisetzung abzulehnen.

FRAGE 9:

*Ist die Ausbreitung des Organismus über das Versuchsgelände hinaus wahrscheinlich?
Zu beachten:*

- *Überlebensformen*
- *Bestäubungscharakteristik*
- *Art des Versuchsgeländes, Begrenzungsmaßnahmen für den Versuch, Nähe zu Wasserläufen und anderen wichtigen Biotopen*
- *Erwartete Effekte der genetischen Veränderung auf die Überlebensformen*
- *Maßnahmen zur Beendigung des Experiments*

Kommentare

Schlußfolgerungen

Der wahrscheinlichste Verbreitungsweg ist über die Bewegung des Bodens durch Kultivierung, die im Versuchsbeet vermieden werden kann. Die Reinigung der Werkzeuge vor Verlassen des Feldes vermindert die unbeabsichtigte Übertragung auf benachbarte Flächen. Dichte, dauerhafte Grasflächen sind eine Barriere gegen die Verbreitung von Rhizobien über den Boden. Ohne Bodenbearbeitung bewegen sich die Bakterien nachweislich weniger als 0,5 m vom Auftragsort fort, wahrscheinlich durch Transport im Oberflächenwasser und in durch Wurzeln gebildeten Kanälen. Kultivierung verbreitet den Organismus über das gesamte Feld. Eine Möglichkeit für die Beendigung des Experiments wäre, die Kultivierung einzustellen und eine Grasnarbe wachsen zu lassen, um die Verbreitung zu minimieren.

Der Organismus verbreitet sich wahrscheinlich nur durch größere Bodenbewegungen, einfache Maßnahmen minimieren ein Vertragen vom Versuchsfeld.

FRAGE 10:

Kann man annehmen, daß der Organismus oder die DNA sich in der Umgebung vermehrt, in die er sich ausbreitet?

Zu beachten:

- *Wachstums-, Überlebens- und Verbreitungscharakteristik*
- *Empfindlichkeit gegen Temperaturschwankungen, UV, Trockenheit*
- *Erwartete Effekte von Überlebensformen*
- *Möglichkeiten des DNA-Transfers*
- *Konsequenzen, die sich aus dem Verbleiben von Organismen in der Umwelt ergeben*

Kommentare**Schlußfolgerungen**

Der Organismus könnte sich vermehren, nach vorhergehenden Versuchen ist eine starke Abnahme der Zahl und Stabilisierung auf niedrigerem Niveau wahrscheinlicher (Abnahme von 10^5 auf 10^2 in 6 Monaten, dann stabil).

Der Stamm wird sich wahrscheinlich im Boden nicht vermehren, sondern die Zahl wird eher abnehmen. Eine mäßige Zunahme über die freigesetzte Anzahl hinaus wird vermutlich keine Probleme hervorrufen. Eine massive und unvorhergesehene Steigerung der Zahl könnte zu einem vorzeitigen Abbruch des Experiments führen.

IV. SICHERHEITSVORKEHRUNGEN**FRAGE 11:**

Sind die Notfallmaßnahmen ausreichend, wenn Probleme auftreten?

Zu beachten:

- *Notfallpläne*
- *Methoden für den Notfall oder die Beseitigung der Organismen*
- *Kriterien für eine rasche Reaktion beim Eintreten von Notfällen*
- *Mögliche Schäden durch den GVO, die aber unwahrscheinlich sind*

Kommentare**Schlußfolgerungen**

Ein "Notfall" ist hier schwer zu definieren. Eine massive Vermehrung des Stammes von mehreren Größenordnungen über die Zahl der freigesetzten Organismen verlangt die Bodensterilisation in situ oder das Abtragen und Verbrennen. Unerwartetes Eingehen oder Erkranken von Pflanzen ohne lokale Epidemie wäre die ernsteste und unmittelbarste Bedrohung und würde sofortige Reaktion verlangen. Je nach Schärfe des Problems wäre die Sterilisierung mit Chemikalien oder Dampf in situ oder das Abtragen und Verbrennen des Bodens möglich. Das Feld würde mit Gras bepflanzt und der Zugang beschränkt.

Obwohl schädliche Auswirkungen, die eine Beendigung des Experiments erforderten, sehr unwahrscheinlich sind, böte ein derartiger seltener und unvorhergesehener Fall eine einzigartige Möglichkeit, verschiedene Bodensterilisierungsverfahren zu vergleichen. Abtragen und Verbrennen des Bodens wären der letzte Ausweg.

2.2.4.4 Resümee

Die Arbeitsgruppe hatte bei der Präsentation der geplanten Freisetzung keine nennenswerten Vorbehalte gegen den Antrag einzubringen. Etwaige Bedenken, daß Antibiotikaresistenzen im Boden weiterverbreitet werden könnten, wurden dadurch abgeschwächt, daß die betroffenen Antibiotika kaum in Therapien eingesetzt werden (vergleiche hierzu auch UMWELTBUNDESAMT, 1992). Außerdem wurden die Resistenzen bereits im Zuge der ersten Freisetzung (nicht gentechnisch veränderter Rhizobien) in den Boden eingebracht. Als bedenkenswert wurde von der Antragstellerin selbst angeführt, daß Markergene nicht unbeschränkt für Bodenorganismen verwendet werden dürfen, da sonst der "natürliche" Hintergrund an solchen Genen den spezifischen Nachweis beeinträchtigen könnte.

Es wurde diskutiert, ob durch die Einführung einer nichtcodierenden Markersequenz die Mikroorganismen besser identifizierbar würden. Allerdings ist die hierfür notwendige PCR-Methode an Isolaten aus dem Erdboden nicht genügend empfindlich und reproduzierbar. Die Möglichkeiten zur Identifizierung scheinen im vorliegenden Fall außerdem ausreichend. Das Einfügen einer zusätzlichen Markersequenz brächte also keinen Informations- oder Sicherheitsgewinn.

Der Antrag wäre von der Arbeitsgruppe mehrheitlich, aber nicht einstimmig akzeptiert worden.

Wie sich später zeigte, erhob das zuständige britische Komitee bei der Verhandlung keine weiteren Einwände gegen den Versuch, der genehmigt wurde.

2.2.5 Ergebnisse der Arbeitsgruppe Mikroorganismen

Dem Rhizobium-Versuch wäre mehrheitlich zugestimmt worden, über den *Clavibacter*-Versuch war die Meinung geteilt (hauptsächlich wegen des Informationsdefizites), so gut wie einhellig abgelehnt wurde der *Vaccinia*-Versuch, allerdings aus Gründen, die auch in den Kriterien für die Zulassung von Impfstoffen zu suchen sind und weniger auf die Tatsache der gentechnischen Veränderung zurückgeführt werden können.

Geteilte Meinungen:

In der Arbeitsgruppe gab es zwei grundsätzlich verschiedene Auffassungen über die Freisetzung gentechnisch veränderter Mikroorganismen. Einige Teilnehmer meinten, daß Freisetzungen zum gegenwärtigen Zeitpunkt insbesondere hinsichtlich ihrer langfristigen Auswirkungen nicht ausreichend genau beurteilt werden könnten. Die Tatsache, daß Gentransfer ein fast ubiquitärer Vorgang sei und die geringe Kenntnis der Vorgänge im Boden verlangten größte Vorsicht. Andere Teilnehmer sahen bestimmte Sachverhalte zumindest als so gesichert an, daß in manchen Fällen eine Freisetzung (unter näher zu bestimmenden Maßnahmen) grundsätzlich vertretbar sei.

Höhere Anforderungen an die Charakterisierung:

Die Diskussion über das Beispiel *Clavibacter* zeigte, daß die Beurteilung in den USA oder in anderen Ländern durchaus zu anderen Ergebnissen kommen kann als in Österreich. Generell wurde eingewendet, daß *Clavibacter* nach derzeitigem Wissensstand zu schlecht charakterisiert sei, um eine Freisetzung zu befürworten. Die Tatsache, daß keine Plasmid- oder Phagensysteme bekannt seien, lasse auf zu wenig genaue Untersuchungen schließen. Diese Einschätzung wäre auch nicht anders gewesen, wenn der Arbeitsgruppe alle verfügbaren Informationen vorgelegen hätten. Offensichtlich sind die Anforderungen an die Genauigkeit der Charakterisierung in Österreich höher.

Zweck des Einzelexperiments prüfen:

Die Beurteilung muß den Zweck der Freisetzung mit in die Betrachtungen aufnehmen; dies geht aus dem Text der EG-Richtlinie 90/220 hervor. Ein Abwägen von Sicherheitsüberlegungen gegen den Zweck der Freisetzung wurde in diesem Zusammenhang jedoch abgelehnt, es sollte demnach lediglich untersucht werden, ob die dem Experiment zugrundeliegende Hypothese mit der vorgeschlagenen experimentellen Strategie ausreichend beantwortet werden kann, und nicht, ob das Ziel (z. B. ein Insektizid zu entwickeln) sinnvoll ist.

Alternativen nach den gleichen Kriterien beurteilen:

Das Vaccinia-Beispiel zeigte, daß ein Organismus in manchen Fällen nicht losgelöst von seinem Verwendungszweck beurteilt werden kann. In solchen Fällen ist es für die Risikoabschätzung günstig, mögliche vorhandene Alternativen nach den gleichen Kriterien zu beurteilen wie den transgenen Organismus, um sich über bisher akzeptierte Risiken ein Bild zu machen. Für die Einschätzung einer Freisetzung kann es also durchaus wichtig sein, ob solche Alternativen existieren oder nicht. Damit darf aber keine "Grauzone" zwischen naturwissenschaftlicher Risikoabschätzung und anderen Beurteilungskriterien geschaffen werden, was in der Praxis einige Schwierigkeiten bereiten dürfte.

Vergleich mit Nicht-GVO:

Aus dem Rhizobium-Beispiel geht hervor, daß wesentliche Bedenken gegen Experimente mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen, soweit sie z. B. Antibiotikaresistenzen zum Inhalt haben, durchaus auch auf Versuche mit nicht gentechnisch veränderten Organismen zutreffen und daher die Unterscheidung zwischen GVO und Nicht-GVO nach Meinung einiger Teilnehmer in manchen Fällen fragwürdig ist. Rhizobium sp. gehört zu den am besten untersuchten Mikroorganismen und ist daher leichter einzuschätzen als etwa Clavibacter. Diese Kenntnisse im Umgang mit dem Organismus sind der Kern des Arguments vom "langen sicheren Umgang", das in den amerikanischen Richtlinien zum Tragen kommt (siehe die Diskussion der US-Richtlinien in Kapitel 4).

Keine Kategorisierung:

Eine Fall-zu-Fall-Beurteilung ist bei Mikroorganismen unbedingt einzuhalten, generelle Kategorisierungen hätte die Arbeitsgruppe abgelehnt. Desgleichen wurde die Notwendigkeit für die Einhaltung des Stufenprinzips betont, das auch in den amerikanischen Unterlagen sowohl über Clavibacter als auch über Rhizobium verteidigt wird und dort die Grundlage für die Versuchsgenehmigung bildete.

Sinnvolle britische Vorgangsweise:

Die Präsentation des Rhizobien-Beispiels zeigte, daß die Vorgangsweise bei der Risikoabschätzung, die derzeit in Großbritannien üblich ist, Zustimmung findet. Es ist also möglich, Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 inhaltlich zu erfüllen, ohne am Text des darin enthaltenen Kriterienkataloges zu "kleben".

Eignung des Anhangs II:

Der Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 ist ein brauchbarer Katalog zur Datenerhebung für die Beurteilung der Freisetzung eines gentechnisch veränderten Mikroorganismus, wenn die Konstruktion zusammenhängend dargestellt werden kann und einige Fragen von Fall zu Fall interpretiert werden können.

Persönliche Anhörung des Antragstellers:

Das "Abhaken" der Informationserfordernisse strikt nach dem Katalog scheint aber zu wenig, um zu einer richtigen Einschätzung kommen zu können. Daher ist es unabdingbar, den Antragsteller persönlich zu hören und sein Experiment verteidigen zu lassen.

2.2.5.1 Anforderungen an die Beurteilungskriterien

Trotz der anfangs erwähnten unterschiedlichen grundsätzlichen Haltungen einzelner Teilnehmer lassen sich die Ergebnisse der Arbeitsgruppe dahingehend interpretieren, daß der Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 für die Beurteilung von Freisetzungen gentechnisch veränderter Mikroorganismen brauchbar ist, daß es aber einen gewissen Bedarf nach Ergänzungen oder Präzisierungen gibt, die nicht unmittelbar aus dem Anhang II hervorgehen. Dies führt zu folgenden Anforderungen an die Beurteilungskriterien:

1. *Genaue Charakterisierung des Ausgangsorganismus einschließlich der Plasmid- und Phagensysteme.*
2. *Genaue Darstellung der bisherigen Verwendung und der Erfahrungen mit dem Ausgangsorganismus.*
3. *Zusammenhängende Darstellung der genetischen Konstruktion einschließlich möglicher sicherheitsrelevanter Details.*
4. *Beurteilung des vorgeschlagenen Experiments daraufhin, ob es geeignet ist, die gestellte Frage zu beantworten.*
5. *Möglichkeiten für die Beurteilung von Nicht-GVOs oder von alternativen Wegen zur Beantwortung der gestellten Frage nach den gleichen Kriterien.*
6. *Beziehung zu anderen Vorschriften und Beurteilungskriterien, denen der Organismus in der Folge voraussichtlich unterworfen werden wird.*

2.3 ARBEITSGRUPPE "PFLANZEN"

2.3.1 Teilnehmer und Arbeitsweise

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. Erwin Heberle-Bors (Institut f. Mikrobiologie u. Genetik der Universität Wien)

Weitere Teilnehmer:

Dr. C. Burg (Abteilung Biowissenschaften, Forschungszentrum Seibersdorf)

Univ.-Prof. Dr. M. Fischer (Botanisches Institut, Universität Wien)

Dr. H. Gaugitsch (Umweltbundesamt Wien)

Univ.-Doz. HR Dr. Hron (Bundesanstalt für Pflanzenbau, Wien)

Dr. Keck (Bundesanstalt für Pflanzenschutz, Wien)

Univ.-Doz. Dr. M. Laimer da Camara Machado (Institut für angewandte Mikrobiologie Universität für Bodenkultur, Wien)

DI. J. Schmidt (Abteilung Biowissenschaften, Forschungszentrum Seibersdorf)

Dr. I. Sichrovsky (Bundesministerium für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz nahm an einigen Sitzungen beobachtend teil)

Dr. H. Torgersen (Forschungsstelle für Technikbewertung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, Wien).

Zwischen Mai 1992 und Februar 1993 fanden insgesamt neun Sitzungen statt. Die Zusammensetzung der Arbeitsgruppe blieb meist ziemlich gleich.

Prof. Heberle-Bors, DI. Schmidt und Doz. Laimer da Camara Machado stellten jeweils eine von ihnen hergestellte transgene Pflanze vor. Nach den Kriterien des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 wurde ein "fiktiver" Antrag auf Freisetzung der jeweiligen Pflanze untersucht. Prof. Fischer vertrat als systematischer Botaniker die "klassische" Biologie und ging daher von einem nicht-molekulargenetischen Standpunkt aus. Die Mitarbeit von Univ.-Doz. HR Dr. Hron und Frau Dr. Keck ermöglichte es, die praktischen Aspekte der Sortenzucht und des Pflanzenschutzes und den Vergleich mit nicht transgenen Sorten in die Beurteilung einzubeziehen.

Folgende Beispiele wurden besprochen:

1. *Nicotinia tabacum* (Tabakpflanze) mit einem *GUS*- und *NPTII*-Markergen, das Resistenz gegenüber dem Antibiotikum Kanamycin verleiht. Diese Gene dienen ausschließlich der Identifikation, Ziel des Freisetzungsexperimentes wäre es, die Stabilität sowie Faktoren, die die Expression dieser eingesetzten Gene beeinflussen, im Freiland zu untersuchen. Ein bestimmter voraussehbarer Effekt, der auch für kommerzielle Zwecke interessant wäre, kann durch diese Gene aber nicht vermittelt werden (Beitrag von E. Heberle-Bors).
2. *Solanum tuberosum* (Kartoffel) mit einem Gen für *Cecropin*, einem antibakteriellen Protein, und *NPTII* für die Kanamycin-Resistenz als Markierung. Das Gen für *Cecropin*, ein Protein-Antibiotikum aus dem Seidenspinner *Hyalophora cecropia*, verleiht Resistenz gegen den Befall der Knollen mit dem Bakterium *Erwinia* während der Lagerung (Beitrag von J. Schmidt).
3. *Prunus armeniaca* (Marillenbaum) mit einem Gen für *NPTII* als Marker und für das *Hüllprotein* des *Plum Pox-Virus*. Dieses Virus ruft die sogenannte Sharka-Krankheit bei Marillenbäumen hervor. Durch die Produktion und die Anwesenheit des Hüllproteins in geringer Konzentration in der Pflanzenzelle entsteht eine Resistenz gegen den Befall durch das Virus, ohne daß die Pflanze geschädigt wird (Beitrag von M. Laimer da Camara Machado).

Anhand des Kataloges im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 wurden diese Beispiele durchgearbeitet. Das Ergebnis dieser Überlegungen sind Aussagen über die nach Meinung der Arbeitsgruppe für eine Risikoabschätzung erforderlichen Informationen bzw. die Art und Weise, wie diese Informationen beschafft und dargestellt werden sollten. Dabei wurde festgestellt, daß einige Punkte des Anhangs II nur für die Beurteilung von Mikroorganismen Sinn ergeben. Wo es möglich ist, soll außerdem auf publizierte Daten zurückgegriffen werden. Dabei sind diejenigen Publikationen, von denen anzunehmen ist, daß sie schwer zugänglich sind (extrem spezialisierte Fachblätter, nicht in Österreich verfügbare Zeitschriften, Auszüge aus seltenen Monographien etc.), als Kopien dem Antrag beizulegen, auf leicht einzusehende Literatur soll nur verwiesen werden. Dies gilt insbesondere für allgemeine Werke über Botanik, Ackerbau, Obstzucht etc. oder Sortenbeschreibungen. Wenn für eine erschöpfende Antwort möglicherweise zu wenig bekannt ist, also insbesondere bei ökologischen Fragen, ist auf den derzeitigen Stand des Wissens Bezug zu nehmen.

2.3.2 Freisetzung von Tabakpflanzen (*Nicotinia tabacum*) mit Markergen (GUS- und NPTII)

2.3.2.1 Ausgangspunkt

Bakterielle Gene, die Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika verleihen (wie *NPTII*, das eine Kanamycin/Neomycin-Resistenz bewirkt) oder die Fähigkeit vermitteln, bestimmte Substrate zu verwenden (wie *GUS*, das die Fähigkeit verleiht, vom speziellen Substrat "X-gal" einen

Farbstoff abzuspalten), werden als Marker verwendet, um die Technik der Genübertragung bei einer Pflanzenart zu erproben und deren Erfolg zu überwachen. Diese Gene sind meist gut charakterisiert; Individuen können erkannt werden, die das Gen enthalten und funktionell exprimieren. Der Tabak ist eine in der Grundlagenforschung häufig verwendete einjährige Pflanze, deren Fortpflanzung gut verstanden ist. Empfängerorganismus ist im diskutierten Fall eine Tabakpflanze, die bereits eine Antibiotikaresistenz trägt (Streptomycin), der Spenderorganismus das Bakterium *Escherichia coli*. Die in der Folge behandelte Pflanze ist eine Konstruktion für die Grundlagenforschung ohne jede kommerzielle Anwendbarkeit. Sie wurde gewählt, um an einem einfachen Beispiel einige Probleme der Beurteilung anhand des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 durchzuspielen. Eine tatsächliche Freisetzung könnte durchgeführt werden, um gewisse Aspekte der Genstabilität und des Pollenfluges zu untersuchen.

2.3.2.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220

Im folgenden wird die Risikoabschätzung durch die Arbeitsgruppe nach den einzelnen Punkten im Anhang II der EG-Richtlinie zusammengestellt. Die Zahlen beziehen sich auf die dortige Nummerierung. Einige Punkte wurden zusammengefaßt, weil sie nach Meinung der Teilnehmer zusammengehören, andere für Pflanzen nicht relevante Fragen wurden nicht behandelt, ebenso Abschnitt I (*Allgemeine Informationen*).

II. INFORMATIONEN ÜBER DIE GVO

A. Eigenschaften des (der) a) Spender-, b) Empfänger- oder c) (gegebenenfalls) Elternorganismus(en):

EMPFÄNGERORGANISMUS

1. *Wissenschaftliche Bezeichnung*
2. *Taxonomische Daten*
3. *Sonstige Namen (Trivialname, Stamm, Cultivar usw.)*
4. *phänotypische und genetische Marker*
5. *Grad der Verwandtschaft zwischen Spender- und Empfängerorganismus oder zwischen Elternorganismen*

Bei Pflanzen ist bei Bedarf die taxonomische Position innerhalb der Gattung anzuführen, auch eine genauere Bezeichnung zwischen Art und Gattung kann berechtigt sein, um die Verwandtschaftsverhältnisse (Auskreuzung!) klarzustellen. Die Punkte 1.–4. sind zusammenzufassen. Zur Definition der Sorte ist das Zitat der wissenschaftlichen Beschreibung oder der Züchterhinweis anzuführen. Hier: *Nicotinia tabacum* var. *Petit Havanna SRI*.

Keiner.

6. Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren

7. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren

Zur Identifikation dient das botanische und züchterische Zitat, die Daten sind nach dem Stand des Wissens anzugeben, Fragen 6 und 7 sind der methodische Teil von Frage 4.

8. Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen

9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen

Die Ökologie der Pflanze kann hier nur cursorisch angegeben werden und ist genauer beim Abschnitt über den GVO zu beantworten. Tabak kommt in Österreich nicht wild vor, der Ursprung und das natürliche Vorkommen liegt in Südamerika; Tabak wird aber weltweit kultiviert. Es gibt in Österreich keine wildwachsenden, kreuzbaren Arten, der Anbau ist auf wenige Gebiete beschränkt und eher selten.

10. Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen

Eine Prüfung ist für Nutzpflanzen nicht relevant, da diese sich als genetisch stabil erwiesen haben (sonst wären sie nicht als Nutzpflanze zugelassen).

11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:

b. Generationsdauer in natürlichen Ökosystemen, geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzungszyklus

Es handelt sich um eine einjährige Pflanze mit generativer Fortpflanzung.

c. Informationen über das Überleben einschließlich der jahreszeitlichen Aspekte und Fähigkeit zur Bildung von Überlebensorganen, z. B. Bildung von Samen, Sporen und Sklerotien

Dieser Punkt ist zu erweitern: Der Ausbreitungsmechanismus, die Lebensdauer, eventuelle Frostresistenz etc. des Samens ist anzugeben, in Österreich wurde eine natürliche Fortpflanzung bei Tabak nicht beobachtet, der Samen ist nicht winterhart.

d. Pathogenität: Infektiosität, Toxigenität, Virulenz, Allergenität, Träger (Vektor) von Pathogenen, mögliche Vektoren, Wirtsspektrum einschl. der Nichtzielorganismen

Tabak enthält natürlicherweise Nikotin in unterschiedlicher Konzentration.

Mögliche Aktivierung latenter Viren (Proviren). Fähigkeit zur Kolonisierung sonstiger Organismen

e. Antibiotikaresistenzen und potentielle Nutzung dieser Antibiotika an Menschen und Haustieren zur Prophylaxe und Therapie

12. Art der bereits natürlich beherbergten Vektoren

13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen

Streptomycin wird human- und veterinärmedizinisch als Antibiotikum genutzt.

Horizontaler Gentransfer durch Transposons ist bei Pflanzen nicht nachgewiesen, man kann davon ausgehen, daß dies in der Regel nicht stattfindet. Die Prüfung auf latente Viren erfolgt nach einer Liste, andere Anmeldungen von Freisetzungen transgener Pflanzen sind auf Präzedenzen hin durchzuschauen, eventuelle Hinweise sind anzugeben.

Es wurde eine Selektion in Zellkultur auf Streptomycin-Resistenz durchgeführt.

SPENDERORGANISMUS

Für den Spender (*E.coli*) ist der Stamm anzugeben; das NPT II-Gen ist nur der kodierende Teil eines bakteriellen Transposons; der 35S-Promotor stammt aus dem Cauliflowermosaik Virus (CMV), einem Pflanzen-DNA-Virus.

Die genetische Konstruktion läßt sich leichter anhand der Fragestellung angeben, wie sie unter B.6. im Formular für die Zusammenfassung der Anträge zur Benachrichtigung zwischen den kompetenten Behörden der EG-Länder aufscheint (RAT DER EG, 1991b). Einige wichtige Punkte sollen herausgegriffen werden:

9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen

Genetischer Austausch von Pflanzen auf *E.coli* wurde bisher nicht berichtet. Tabak ist kein Wirt für CMV, daher ist zwischen beiden kein Austausch zu erwarten.

11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:

11d. Pathogenität

Der verwendete *E.coli*-Stamm ist nicht pathogen. CMV ist pflanzenpathogen, dessen 35S-Promotor ist analog anderer Anträge (in der Literatur bzw. in Datenbanken über Freisetzungsexperimente) einzustufen. Es ist dabei zu erklären, inwieweit der Promotor an der Pathogenität beteiligt ist.

B. Eigenschaften des Vektors

Auch hier erscheint eine Vorgangsweise besser, wie sie im zitierten Formular (RAT DER EG, 1991b) für die Zusammenfassung der Anträge (Abschnitt B.) aufgeführt ist. Der Vektor ist in diesem Fall das TI-Plasmid, das Ergebnis der genetischen Veränderung ist die Kanamycin-Resistenz, der Vektor kommt im GVO nicht vor.

Zum Wirtsbereich gehören alle Agrobakterium-Arten. Die Anwesenheit des TI-Plasmids ist schließlich das taxonomische Kriterium, ob es sich um ein Agrobakterium handelt oder nicht.

3. Häufigkeit der Mobilisierung des eingeführten Vektors und/oder die Fähigkeit zum Gentransfer und Methoden zu deren Bestimmung

Der Gentransfermechanismus für das TI-Plasmid ist ausführlicher darzustellen, z. B. anhand von Literaturzitatzen.

4. Informationen darüber, inwieweit der Vektor auf die DNS beschränkt ist, die zur Erfüllung der geplanten Funktion erforderlich ist

Insbesondere ist das Plasmid in Einzelheiten zu beschreiben, ebenso die verwendete Technik zum Einschleusen der DNA. Diese Bestandteile und Methoden sind in der Literatur beschrieben und können ähnlich wie in einer wissenschaftlichen Arbeit angegeben werden, wobei bei der ersten Antragstellung eine detailliertere verständliche Darstellung zu liefern ist, auf die sich Folgeanträge berufen können. Somit kann sich der Antragsteller auf die wesentlichen Einzelheiten konzentrieren, in denen sich die Experimente unterscheiden.

C. Eigenschaften des veränderten Organismus

1. Informationen über die genetische Veränderung

Der Konstruktionsweg sollte besser nach Abschnitt B des Schemas für die Mitteilung an die verantwortlichen Behörden der anderen EG-Mitgliedsstaaten beschrieben werden (RAT DER EG, 1991b).

Eventuelle Teile der Konstruktion, deren Funktion nicht genau bekannt sind, sind möglichst genau anzugeben, es ist davon auszugehen, daß die Frage dazu auffordern soll, die verwendete Konstruktion auf nicht genau definierte oder in der Funktion unbekannt Sequenzen hin durchzusehen und diese möglichst zu eliminieren.

Obwohl z. B. die französischen Behörden die Kenntnis des genauen Insertionsortes für wichtig halten, bringt dies im vorliegenden Fall keine relevante Information, daher ist nur anzugeben, ob sich das neue Gen im chromosomalen, mitochondrialen oder plastidiären Erbmateriale befindet.

2. Informationen über den endgültigen GVO:

a. Beschreibung d. genetischen Merkmale oder phänotypischen Eigenschaften und insbesondere jeglicher neuen Merkmale oder Eigenschaften, die exprimiert werden können oder nicht mehr exprimiert werden können

Das Konstrukt und die in der Pflanze vorliegende DNA können verschieden sein. Bei der Beschreibung des Phänotyps sind die Kanamycin-Resistenz, das Auftreten neuer oder das Eliminieren anderer Merkmale durch die transferierte DNA und Hinweis auf pleiotrope Wirkungen anzugeben.

- b. Struktur und Menge jeder Art von Vektor und/oder einer Donor-Nukleinsäure, die noch in der endgültigen Konstruktion des veränderten Organismus verblieben ist* Die Erstellung der geforderten Daten bedeutet viel Arbeit, und das Ergebnis ist nicht entsprechend sicherheitsrelevant (verlässliche Angaben zur Expression des Gens sind demgegenüber wesentlich relevanter).
- c. Stabilität des Organismus in bezug auf genetische Merkmale* Anzugeben sind Ergebnisse von Southern-blots und Versuchen über die Segregation in der Nachkommenschaft, siehe f/g.
- d. Anteil und Höhe der Expression des neuen genetischen Materials, Meßverfahren und deren Empfindlichkeitsgrad*
- e. Aktivität der zur Expression gebrachten Proteine* Hier sind Untersuchungen über die Expression des neuen genetischen Materials anzugeben, wobei darzulegen ist, welche Meßverfahren verwendet werden; quantitative Angaben über die Aktivität des Produkts sind in diesem Zusammenhang sinnvoller als die bloße Messung der Transkriptionsaktivität.
- f. Beschreibung und Identifizierungs- und Nachweisverfahren einschließlich der Verfahren zur Identifizierung und zum Nachweis der eingeführten Sequenz und des Vektors*
- g. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren* Nachweisverfahren sind insbesondere dann genauer anzugeben und zu beschreiben, wenn es sich nicht um gängige Standardmethoden handelt, bei letzteren genügt der Hinweis auf relevante Literatur bzw. es wird vorausgesetzt, daß Begriffe wie "Southern blot" verständlich sind.
- h. Zusammenfassung der früheren Freisetzungen oder Anwendungen des GVO* Dieser Punkt ist wichtig und daher in der Reihenfolge der Behandlung vorzuziehen; Die Geschichte des Organismus sollte gleich zu Anfang des Antrages dargestellt werden. Darüber hinaus sollte auf vergleichbare Fälle, in denen das gleiche Gen oder die gleiche Art des Empfängerorganismus verwendet wurde, Bezug genommen werden. Auch ökologische Aspekte sind in Form einer Zusammenfassung der für eine Freisetzung relevanten Information einzubeziehen.
- i. gesundheitliche Erwägungen* Dieser Abschnitt ist vor allem für Mikroorganismen wichtig und bezieht sich auf das Inverkehrbringen; da im vorliegenden Fall keine Produkte beurteilt werden, ist dieser Punkt irrelevant.
Die Pathogenität ist nur in bezug auf neue Eigenschaften anzugeben oder wenn der Ausgangsorganismus bereits pathogen und die Pathogenität im transgenen Organismus erhöht ist.

III. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNGSBEDINGUNGEN UND DIE UMWELT, IN DIE GVO FREIGESETZT WERDEN

A. Informationen über die Freisetzung:

- | | |
|---|--|
| 1. Beschreibung der vorgeschlagenen absichtlichen Freisetzung einschließlich der Zielsetzung(en) und der geplanten Produkte | Das Ziel des vorliegenden Modellversuches wäre es, die Stabilität des GUS-Gens im Freiland festzustellen und die Pollenflugweite zu untersuchen; es wäre keine Produktion von Tabak mit Hilfe der transgenen Pflanze geplant. |
| 2. Voraussichtliche Zeitpunkte der Freisetzung und Zeitplan des Versuchs einschließlich der Häufigkeit und Dauer der Freisetzungen | (Siehe Bemerkung zum "Zeitraum" im Anschluß an die vorliegende Risikobeurteilung nach Anhang II.) |
| 3. Vorbereitung des Geländes vor der Freisetzung | Beim Gelände handelt es sich um ein gepflügtes Feld, es werden keine allgemeinen Vorschriften über die Umzäunung etc. vorgeschlagen, solche Vorschriften sollten stets vom Gen und vom Organismus abhängen. Hier wahrscheinlich: Versuchsfeld innerhalb einer landwirtschaftlichen Versuchsanstalt mit entsprechender Infrastruktur. |
| 4. Größe des Geländes | 50 Quadratmeter |
| 5. Für die Freisetzung angewandte Methode(n) | Auspflanzung pikierter Jungpflanzen |
| 6. Menge des/der freizusetzenden GVO | 100 Pflanzen |
| 9. Behandlung des Geländes nach der Freisetzung | Unter Freisetzung wird der ganze Versuch verstanden, danach wird das Feld umgepflügt. |
| 10. Für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuches vorgesehene Verfahren | Kompostierung der abgeernteten Pflanzenreste, oder abschlägeln und einackern. |
| 11. Informationen und Ergebnisse früherer Freisetzungen des/der GVO, und zwar insbesondere Freisetzungen in unterschiedlichem Maßstab und in verschiedenen Ökosystemen | Siehe Abschnitt II.C.2.h. (Eigenschaften des veränderten Organismus), dieser Punkt sollte an den Anfang des Antrages. |

B. Informationen über die Umwelt

(sowohl am Ort der Freisetzung als auch in der weiteren Umgebung):

- | | |
|---|--|
| 1. Geographische Lage des Ortes der Freisetzung und genaue Standortangabe (Raster) | Feldnummer und Schlag nach Einlagezahl im Grundbuch (Katastralgemeinde) angeben. |
|---|--|

- 2. *Physikalische oder biologische Nähe zu Menschen und zu sonstigen wichtigen Lebewesen*** Genaue Lagebeschreibung in bezug auf Siedlungsdichte, Bewirtschaftung, Weideflächen etc., die Punkte 4. und 5. sind einzubeziehen.
- 4. *Umfang der ortsansässigen Bevölkerung***
- 5. *Wirtschaftliche Tätigkeiten der ortsansässigen Bevölkerung*** Im vorliegenden Fall können dazu keine Angaben gemacht werden, weil keine Überlegungen zum Ort einer Freisetzung angestellt wurden.
- 3. *Nähe zu wichtigen Biotopen oder geschützten Gebieten***
- 6. *Entfernung zu den nächstgelegenen Gebieten, die zum Zweck der Trinkwassergewinnung und/oder aus Umweltgründen geschützt sind*** Zusammenfassende Beschreibung der nächstgelegenen, in irgend einer Weise geschützten Gebieten.
- 7. *Klimatische Merkmale des Gebiets/der Gebiete, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden***
- 8. *Geographische, geologische und pedologische Eigenschaften*** Diese Punkte gehören zur geographischen Beschreibung und sollten zusammen mit Punkt 1. behandelt werden.
- 9. *Flora und Fauna einschließlich Nutzpflanzen, Nutztiere und wandernde Arten*** Vorbehaltlich des genauen Ortes einer Freisetzung z. B. hier: typisches Ackerbaugelände mit charakteristischer Flora und Fauna (wenn die Freisetzung z. B. im Marchfeld erfolgen würde), eventuelle Angabe von Literatur, die dieses Ökosystem beschreibt.
- 10. *Beschreibung der Ziel- und Nichtziel-Ökosysteme, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden***
- 11. *Vergleich zwischen dem natürlichen Lebensraum des Empfängerorganismus und dem für die Freisetzung vorgesehenen Gebiet*** Diese Punkte gehören zur Frage nach der Ausbreitung (IV. B. 7.) und sollten gemeinsam dargestellt werden.
- 12. *Bereits bekannte, im Gebiet geplante Erschließungen oder Geländeumwidmungen, die sich auf den Umwelteinfluß der Freisetzung auswirken könnten*** Angaben hierzu gehören zur Beschreibung der Geographie in Punkt III.B.1.

IV. INFORMATIONEN ÜBER DIE WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN DEM GVO UND DER UMWELT

A. Eigenschaften, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen:

1. **Biologische Eigenschaften bezüglich des Überlebens, der Vermehrung und Verbreitung** Laut Literatur (Zitate angeben) wird die Überlebensfähigkeit der Pflanze durch eine eingeführte Kanamycin-Resistenz nicht beeinflusst. Da dies die einzige neue Eigenschaft ist, wird angenommen, daß die Überlebensfähigkeit sich nicht vom Ausgangsorganismus unterscheidet.
2. **Bekannte oder vorhersehbare Umweltbedingungen, die das Überleben, die Vermehrung u. Verbreitung beeinflussen könnten (Wind, Wasser, Boden, Temperatur, pH usw.)**
3. **Empfindlichkeit gegenüber spezifischen Agenzien** Kanamycin-Resistenz

B. Wechselwirkungen mit der Umwelt:

1. **Vermutlicher Lebensraum des GVO** Der Ausdruck "predicted" im englischen Text der EG-Richtlinie ist im Sinne von "vorgesehen" zu übersetzen, das heißt, Angaben sind nur dann zu machen, wenn Veränderungen gegenüber dem natürlichen Genotyp zu erwarten sind (z. B. bei einer Trockenresistenz).
2. **Untersuchungen über das Verhalten und die Eigenschaften des GVO und seiner ökologischen Auswirkungen, die unter simulierten natürlichen Umweltbedingungen wie in Mikrokosmen, Klimakammern und Gewächshäusern durchgeführt werden** Im vorliegenden Fall ergeben sich keine Unterschiede zum Ausgangsorganismus.
3. **Fähigkeit zu Gentransfer** Ein Gentransfer ist auf potentielle Kreuzungspartner im Freisetzungsbereich möglich (siehe II. A. 9.) und ist daher von der Dauer und der Weite des Pollenfluges und der Art der Bestäubung abhängig. Daten dazu sind anzugeben, soweit bekannt, der Versuch sollte ja auch im Hinblick auf diesbezügliche Erkenntnisse durchgeführt werden.
Die Möglichkeiten für einen horizontalen Gentransfer und andere "unkonventionelle" Formen sind nach dem Stand des Wissens zu beurteilen und derzeit nicht nachgewiesen (Zitate hierfür sind anzugeben, eine allgemeine Diskussion der Problematik aber hier fehl am Platz).

- 4. Wahrscheinlichkeit einer Selektion nach der Freisetzung, die zur Ausprägung unerwarteter und/oder unerwünschter Merkmale bei dem veränderten Organismus führt**
Die Kanamycin-Resistenz stellt kein Problem dar, weil kein Selektionsvorteil besteht, die Möglichkeit einer Selektion müßte durch Punkt IV.B.2. erst nachgewiesen werden.
- 5. Zur Sicherung und Überprüfung der genetischen Stabilität angewandte Maßnahmen, Beschreibung der genetischen Merkmale, die die Verbreitung genetischen Materials verhüten oder auf ein Minimum beschränken können. Methoden zur Überprüfung der genetischen Stabilität**
Um die Verbreitung genetischen Materiales zu vermeiden, bietet sich die Verwendung männlich steriler Pflanzen an. Da es in Österreich keine Kreuzungspartner gibt, besteht keine Gefahr der Verbreitung.
Beispiele zu letzterem: wenn es Hinweise gibt, daß sich das freigesetzte Material im Freiland vermehrt, sind zum Nachweis der transferierten DNA Tests auf DNA-Ebene durchzuführen.
- 6. Wege der biologischen Verbreitung, bekannte oder potentielle Arten der Wechselwirkungen mit dem Verbreitungsträger einschließlich der Einatmung, Einnahme, Oberflächenberührung, des Eingrabens in die Haut usw.**
Verbreitungsträger der Tabakpflanze sind Samen; sie vermehrt sich durch Zoogenie.
- 7. Beschreibung von Ökosystemen, in die der GVO sich ausbreiten könnte**
Zum Problem der Verwilderung siehe III.B.10., zum Auskreuzen IV.B.3., aus diesen Angaben läßt sich herleiten, daß Unkrauteigenschaften unwahrscheinlich sind.

C. Potentielle Auswirkungen auf die Umwelt:

- 1. Potential für eine übermäßige Populationszunahme in der Umwelt**
Eine solche müßte nach IV. B. 2. nachgewiesen worden sein und sollte auch dort abgehandelt werden.
(Die Punkte 2. bis 7. wären z. B. dann relevant, wenn eine Pflanze, die das Bacillus thuringiensis-Toxin bildet, zu begutachten wäre. Im vorliegenden Fall sind diese Punkte eher irrelevant.)
- 2. Wettbewerbsvorteil des GVO gegenüber den nichtveränderten Empfänger- oder Elternorganismen**
Siehe IV.B.4., nach publizierten Experimenten ist kein Wettbewerbsvorteil anzunehmen.
- 3. Identifizierung und Beschreibung der Zielorganismen**
Zielorganismen sind spezifisch nach Standort zu beantworten (z. B. für Gene aus Bacillus thuringiensis oder Viren). Im vorliegenden Fall ist kein Zielorganismus vorhanden, die folgenden Punkte 4.-9. sind daher nicht relevant und wurden nur theoretisch besprochen.

- 4. Voraussichtliche Mechanismen und Folgen der Wechselwirkungen zwischen dem/den freigesetzten GVO und den Zielorganismen**
In diesem Punkt sind Regelmechanismen und Reaktionen zu beschreiben, hier irrelevant (z. B. für *Bacillus thuringiensis* die Wirkungsweise des Toxins).
- 5. Identifizierung und Beschreibung der Nichtzielorganismen, die unabsichtlich beeinflußt werden könnten**
Nicht relevant. (Verwandte Zielorganismen wären z. B. bei *Bacillus thuringiensis* andere Schmetterlinge.)
- 6. Wahrscheinlichkeit von Änderungen in den biolog. Wechselwirkungen oder im Bereich der Wirtsorganismen bei der Freisetzung**
Nicht relevant.
(Für *Bacillus thuringiensis*: Die mögliche Selektion resistenter Insekten ist zu berücksichtigen.)
- 7. Bekannte oder vorhersehbare Wirkungen auf Nichtzielorganismen in der Umwelt, Wirkung auf die Populationsniveaus der Konkurrenten, Beuteorganismen, Wirtsorganismen, Symbioten, Räuber, Parasiten und Pathogenen**
Nicht relevant.
(Wie 5., hier wird eine genauere Beschreibung gefordert, daher mit 5. zusammenlegen.)
- 8. Bekannte oder vorhersehbare Beteiligung an biogeochemischen Prozessen**
Nicht relevant. (Dieser Punkt bezieht sich z.B. auf Erzlau- gung durch Mikroorganismen o. ä.)
Besonders an diesem Abschnitt über die Wechselwirkungen mit der Umwelt zeigt es sich, daß der Antrag eher frei verfaßt werden sollte, vorausgesetzt, daß tatsächlich alle relevanten Fragen umfassend beantwortet werden.

V. UNTERRICHTUNG ÜBER ÜBERWACHUNG, KONTROLLE, ABFALLENTSORGUNG UND NOTEINSATZPLÄNE

A. Überwachungsverfahren:

- 1. Methoden zum Aufspüren des/der GVO und zur Überwachung ihrer Wirkungen**
Zum Problem der Identifizierung siehe Abschnitt II. A., eventuell sind Markergene anzugeben, mögliche Wirkungen gehen aus den Angaben zur Expression des Gens hervor.
- 2. Spezifität (zur Identifizierung des/der GVO und zu ihrer Unterscheidung von den Spender-, Empfänger- oder (gegebenenfalls) Elternorganismen), Empfindlichkeit u. Verlässlichkeit der Überwachungsverfahren**
Die Sicherheit der Überwachungsverfahren ist hauptsächlich eine Frage der Spezifität, darauf wurde bei der Beschreibung des Ausgangsorganismus und des Gens bereits eingegangen.

- 3. Verfahren zur Ermittlung einer Übertragung der übertragenen genetischen Eigenschaften auf andere Organismen** Bei Herbizidresistenz wären etwa Unkräuter daraufhin zu untersuchen, ob sie dieselbe Herbizidresistenz aufweisen wie die Versuchspflanze, das hängt aber davon ab, ob es Kreuzungspartner gibt; im vorliegenden Fall läßt sich dies ausschließen.
- 4. Dauer und Häufigkeit der Überwachung** Je nach Datenlage ist ein Überwachungsplan anzugeben, hier lassen sich aufgrund des beschränkten Umfanges jederzeit alle freigesetzten Pflanzen überwachen.

B. Überwachung der Freisetzung:

- 1. Methoden und Verfahren zur Vermeidung und/oder Minimierung der Verbreitung des/der GVO außerhalb des Freisetzungsgeländes oder des zugewiesenen Nutzungsgebietes** Hierher gehört die Verwendung männlich steriler Pflanzen oder das Blütenabschneiden, im vorliegenden Falle sind keine besonderen Methoden erforderlich, weil die Pflanze nicht auskrenzbar ist.
- 2. Methoden und Verfahren zum Schutz des Geländes vor dem Betreten durch Unbefugte** Es ist ein Zaun aufzustellen, eine Hinweistafel wäre dann nötig, wenn veränderte Inhaltsstoffe eine Gefahr für Menschen darstellten. Diskutiert wurde, wie Vandalismus sich am besten vermeiden ließe, jedoch keine Einigkeit über die beste Strategie erzielt (Hinweis auf Versuchsfeld mit transgenen Pflanzen, Art der Zugangsbeschränkung etc., eine "Festung" wurde aber abgelehnt).
- 3. Methoden und Verfahren zum Schutz gegen das Eindringen anderer Organismen in das Gelände** Ein engmaschiger Zaun genügt.

C. Abfallentsorgung:

- 1. Art der erzeugten Abfallstoffe** Pflanzenreste
- 2. Voraussichtliche Abfallmenge** 100 Pflanzen ergeben ca. 20 kg Trockenabfall
- 4. Beschreibung des geplanten Entsorgungsverfahrens** Wie bereits ausgeführt, einackern

D. Noteinsatzpläne:

- 1. Methoden und Verfahren zur Kontrolle der GVO für den Fall einer unerwarteten Ausbreitung** Für den Fall, daß Einzelpflanzen vertragen werden und eine Vegetationsperiode überleben: ausreißen. Tabakpflanzen lassen sich in der näheren Umgebung des Freisetzungsortes leicht erkennen.
- 2. Methoden zur Dekontaminierung der betroffenen Geländeabschnitte, z. B. Vernichtung des/der GVO** Wenn längere Zeit kein Frost eintritt, muß nochmals geackert werden, die Anwendung eines Totalherbizids erscheint nicht nötig.

3. Methoden zur Beseitigung oder Behandlung von Pflanzen und Tieren, Böden usw., die durch die Ausbreitung oder danach dem GVO ausgesetzt waren.

Dieser Punkt gilt für Mikroorganismen.

4. Methoden zur Abschirmung des durch die Ausbreitung betroffenen Gebiets

Im Notfall die Anwendung eines Herbizids.

5. Pläne zum Schutz der menschlichen Gesundheit und der Umwelt im Falle des Auftretens unerwünschter Wirkungen

Sollten unerwartet derartige Auswirkungen erkennbar sein, ist der Versuch vorzeitig abzubrechen.

2.3.2.3 Resümee

Im Falle des Tabaks ergeben sich also wenig Bedenken. Da es sich um eine sehr beschränkte Freisetzung zu wissenschaftlichen Zwecken, nämlich alleine zur Feststellung der Expression und Stabilität des eingebrachten Gens handelt, ist die Freisetzung in größerem Ausmaß zu einem späteren Zeitpunkt ausgeschlossen. Es handelt sich um eine krautige Pflanze, die sicher einjährig ist und deren Samen frostempfindlich sind, die in Österreich nicht wild vorkommt, keine Kreuzungspartner hat und so gut wie nicht angebaut wird. Eine Ausbreitung und ein Auskreuzen ist damit extrem unwahrscheinlich. Die Resistenz gegen Kanamycin verleiht der Pflanze ebensowenig einen Selektionsvorteil wie das GUS-Gen. Die Möglichkeit einer Übertragung der Gene auf Mikroorganismen ist sehr spekulativ und bisher noch nicht nachgewiesen. Pleiotrope Effekte, die auf die eingesetzten Gene zurückzuführen sein könnten, wurden bisher nicht festgestellt. Der Versuch kann leicht abgebrochen werden.

Die Arbeitsgruppe kam zu der Ansicht, daß die vorgeschlagene Freisetzung unter diesen Umständen vorgenommen werden könnte.

2.3.3 Freisetzung von Kartoffelpflanzen (*Solanum tuberosum*) mit dem Gen für das insektizide Protein Cecropin

2.3.3.1 Ausgangspunkt

Solanum tuberosum, die Kartoffel, ist eine der am häufigsten verwendeten Nutzpflanzen, in die fremde Gene eingebracht werden. Zahlreiche Freisetzungsexperimente wurden auch in europäischen Ländern bereits durchgeführt, sodaß eine gewisse Erfahrung mit transgenen Kartoffeln vorliegt, wobei bisher keine nachteiligen Effekte berichtet wurden (OECD, 1992c). Im vorliegenden Beispiel wurde einer gebräuchlichen Kartoffelsorte neben dem GUS- und dem NPTII-Gen, die ausschließlich als Marker dienen, das Gen für Cecropin eingefügt, das aus dem Seidenspinner stammt und eine kommerziell interessante Eigenschaft verleiht. Man hofft, daß

diese Kartoffel durch die Produktion des Cecropin, das den Seidenspinner offenbar vor Bakterienbefall schützt, gegen bakteriell bedingte Fäule (vor allem durch *Erwinia*) resistent wird. Die Versuche im Österreichischen Forschungszentrum Seibersdorf sind allerdings noch nicht so weit fortgeschritten, daß ein Antrag auf Freisetzung in absehbarer Zeit erwartet werden könnte. Es ist jedoch grundsätzlich durchaus daran gedacht, diese oder eine ähnliche Pflanze zu einem geeigneten Zeitpunkt freizusetzen.

Literatur

- BOMAN, H. G., HULMARK, D., 1987, Cell-free immunity in insects, *Annual Rev. Microbiol.* 41, 103–126.
- CETINER, M.S., 1989, Studies on the Agrobacterium Mediated Transformation of Potato and Tobacco with Antibacterial and High Essential Amino Acids Encoding Genes, Dissertation, Wisconsin State University.
- DESTEFANO-BELTRAN, L., et al., 1991, pp 49 ff in: International Potato Center, Molecular Methods for Potato Improvement, Reports of the Planning Conference, 5.–9. March, 1990, Lima, c.f. J. Schmitt, pers. Mitt.
- JEFFERSON, R. A., KAVANAUGH, T.A., BEVAN, M.W., 1987, *Embo J.* 6, 3901, c.f. J. Schmidt, pers. Mitt.
- WADE, D., ANDREU, D., MITCHELL, S. A., SILVEIRA, A. M. V., BOMAN, A., BOMAN, H. G., MERRIFIELD, R. B., 1992, Antibacterial Peptides Designed as Analogs or Hybrids of Cecropins and Melittin, *Int. J. Peptide Protein Res.* 40, 429–436.

2.3.3.2 Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220

Die Vorgangsweise der Beurteilung entspricht der beim vorhergehenden Beispiel.

II. INFORMATIONEN ÜBER DIE GVO

A. Eigenschaften des (der) a) Spender-, b) Empfänger- oder c) (gegebenenfalls) Elternorganismus(men):

FÜR DEN SPENDERORGANISMUS:

1. *Wissenschaftliche Bezeichnung*
2. *Taxonomische Daten*
3. *Sonstige Namen (Trivialname, Stamm, Cultivar usw.)*
4. *Phänotypische und genetische Marker*

(siehe auch Konstruktionsprotokoll in II. B.) NPT II und GUS stammen aus *E. coli*, NOS aus dem TI-Plasmid, der 35S-Promotor aus dem Cauliflower Mosaic Virus, das Plasmid ist pBI 121 (JEFFERSON et al., 1987); dies sind Standardbestandteile, ähnlich den im Tabak-Beispiel verwendeten. Modifiziertes synthetisches Cecropin (siehe II. B.1. und 2.): Ursprünglich aus *Hyalophora cecropia* (Seidenspinner), dessen taxonomische Daten sind aus der Literatur zu entnehmen.

- 5. Grad der Verwandtschaft zwischen Spender- und Empfängerorganismus oder zwischen Elternorganismen** Es gibt keinerlei Verwandtschaft zwischen *Solanum tuberosum* (Blütenpflanze) und *Cecropia hyalophora* (Insekt).
- 6. Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren** Zum Nachweis des Cecropin-Gens gibt es eine DNA-Sonde.

FÜR DEN EMPFÄNGER-ORGANISMUS:

- 1.-4. (Text siehe oben)** *Solanum tuberosum*, europäische Subklasse, zur näheren Beschreibung der Art sind eventuell Daten aus einem Botanikbuch anzugeben. Sortenbeschreibung: Sortenname Desiree, Daten aus dem Sortenbeschreibungsblatt (Farbe, Form, sonstige Variationen, Möglichkeit epigenetischer Veränderungen) sind zugänglich. Verwandtschaft: In Europa gibt es keine Art, die mit der Kartoffel kreuzbar ist. Einzige verwandte europäische Art ist *Solanum nigrum*, die aber nicht kreuzbar ist (experimentelle Evidenz: OECD, 1992c).
- 6. Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren**
- 7. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren** Sollte zusammenhängend beschrieben werden: Für die Sorte sind Isoenzym-Marker vorhanden, ansonsten (äußere Merkmale) siehe Sortenbeschreibung.
- 8. Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen** Das Herkunftsgebiet der Kartoffel liegt in den Anden, sie ist inzwischen in der ganzen Welt verbreitet (Literatur-Hinweis: Für die Freisetzungserfahrungen in den Niederlanden wurde die Biologie der Kartoffel dargelegt, soweit sie relevant für Freisetzungen ist, nach v. d. Meer, pers. Mitt.).
- 9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen** Gentransfer ist nur vertikal auf andere Kartoffeln möglich, es gibt keine Wildformen oder kreuzbare *Solanum*-Arten in Europa (s. o.). Die Pollenflugweite beträgt nach Literaturangaben 15-20 m (OECD, 1992c).
- 10. Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen** Die Sorte "Desiree" zeichnet sich durch hohe Sortenstabilität aus, gelegentliche "Off-types" (Abweichformen) besitzen andere Wuchsformen oder Knollenfarben. Da die Pflanze über einen Klon vermehrt wurde, besteht nur geringe Variabilität. Somaklonale Variationen wurden nicht beschrieben. Es lagen der Arbeitsgruppe keine Informationen vor, ob die Sorte "Desiree" schon als GVO freigesetzt wurde.

11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:

- b. Generationsdauer in natürlichen Ökosystemen, geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzungszyklus* In gemäßigten Klimaten einjährig generativ und auch vegetativ.
- c. Informationen über das Überleben einschließlich der jahreszeitlichen Aspekte und Fähigkeit zur Bildung von Überlebensorganen, z.B. Bildung von Samen, Sporen und Skerotien* Die Sorte überlebt durch Knollen und Samen, die beide keinen Frostwechsel überstehen, daher ist es unwahrscheinlich, daß Winter mit um den Gefrierpunkt schwankenden Temperaturen, wie sie in Österreich üblich sind, überdauert werden.
- d. Pathogenität* Wie allgemein bekannt ist, enthalten Kartoffeln das schwach giftige Alkaloid Solanin.
- e. Antibiotika-Resistenz* Dieser Punkt ist Mikroorganismen-spezifisch.
- 13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen* Die bisherigen Veränderungen der Sorte gehen aus der Sortenbeschreibung für die konventionelle Züchtung hervor.

B. Eigenschaften des Vektors: und

C. Eigenschaften des veränderten Organismus:

- 1. Informationen über die genetische Veränderung* sind zusammenzufassen und in einem Konstruktionsprotokoll anzugeben.

B. Eigenschaften des Vektors:

1. Art und Herkunft des Vektors

2. Sequenz von Transposons, Vektoren und anderen nichtkodierenden genetischen Sequenzen, die zur Konstruktion des GVO verwendet wurden und die Funktion des eingeführten Vektors und Genabschnitts im GVO sicherstellen

Literatur, Sequenzen und Veränderungen sollten analog zum Formular für die Mitteilung zwischen den Behörden der EG-Länder, Abschnitt B (RAT DER EG, 1991), angegeben werden. Binäres Vektorsystem *E.coli* – *Agrobacterium tumefaciens* – Pflanze: Der binäre Vektor pBI121 (JEFFERSON et al., 1987) mit der 35S-GUS-Kassette und dem NOS NPTII-Gen diente als Basis für die weitere Konstruktion (Destefano-Beltran et al., 1991 und Cetiner, 1989) Unter der Kontrolle einer 1,3 kb 5'-Region des Kartoffel-Proteinase-Inhibitor-Gens II mit einer 0,25 kb 3'-Region desselben Gens ("WI") wurde das synthetische Gen für Cecropin (SB-37) in die HindIII-Schnittstelle von pBI121 eingesetzt. SB-37 unterscheidet sich von Cecropin B durch den Zusatz von zwei Aminosäuren (Met gefolgt von Pro) am N-Ende, den Austausch von Met-11 durch Val, sowie ein Gly anstelle von Leu-Amid am C-Ende. Näheres über Cecropine in Boman und Hulmark, 1987.

Die in die Kartoffel transformierte Sequenz sieht folgendermaßen aus: RB (NOS–Prom/NPTII/NOS–Term) (WI/C38/WI) (35S/GUS/NOS–Term) LB. Das Konstrukt wurde mit dem *Agrobacterium tumefaciens*–Wirt (Hilfsbakterium mit den Genen zur Mobilisierung des Plasmids) in die Pflanze eingebracht. Die Identifikation erfolgt über einen Southern blot mit einer Cecropin–Gen–Probe oder eine spezifische PCR (polymerase chain reaction) mit Cecropin–spezifischen Primern.

3. Häufigkeit der Mobilisierung des eingeführten Vektors und/oder die Fähigkeit zum Gentransfer u. Methoden zu deren Bestimmung

Die Möglichkeit zur Mobilisierung (Mikroorganismen–Frage!) ist Gegenstand der Forschung, bei *Agrobacterium* wird nur ein Teil des Plasmids übertragen, dieser ist nicht mobilisierbar.

4. Informationen darüber, inwieweit der Vektor auf die DNS beschränkt ist, die zur Erfüllung der geplanten Funktion erforderlich ist

Generell sind zusätzliche Sequenzen anzugeben, soweit sie bekannt sind. Hier wurde ausschließlich die Sequenz zwischen linker (LB) und rechter (RB) Begrenzung eingebracht. Soweit bekannt, enthält das Konstrukt keine Sequenzen, deren Funktion ungeklärt wäre.

C. Eigenschaften des veränderten Organismus:

1. Informationen über die genetische Veränderung:

a. zur Veränderung angewandte Methoden

Die verwendete "leaf disc"– und "microtuber"–Transformation wurde beschrieben (CETINER, 1989).

b. bis e.

Siehe oben (II.B.1 – II.B.4.)

2. Informationen über den endgültigen GVO:

a. Beschreibung der genetischen Merkmale oder phänotypischen Eigenschaften und insbesondere jeglicher neuen Merkmale oder Eigenschaften, die exprimiert werden können oder nicht mehr exprimiert werden können

Die phänotypische Beschreibung des neuen Organismus beinhaltet Angaben der laufenden Glashausversuche und der Proteinanalysen. Genetische Merkmale betreffen z. B. Resistenzen, die Wuchsform und die Knollenfarbe.

b. Struktur und Menge jeder Art von Vektor und/oder einer Donor–Nukleinsäure, die noch in der endgültigen Konstruktion des veränderten Organismus verblieben ist

Die Analyse des transgenen Organismus auf der molekularen Ebene sollte so genau sein, wie alle verfügbaren Informationen dies zulassen. Die Angabe des genauen Insertionsortes erscheint nicht notwendig.

c. Stabilität des Organismus in bezug auf genetische Merkmale

Zu untersuchen sind die vegetative Vermehrung, Genanalysen durch Southern blots von mehreren Knollen–Generationen und die Expression der Markergene.

- d. Anteil und Höhe der Expression des neuen genetischen Materials, Meßverfahren und deren Empfindlichkeitsgrad* Der Anteil und die Höhe der Expression ist nach den Ergebnissen von Protein-Analysen (Western-blot) und messengerRNA-Tests (Northern-blot) anzugeben.
- e. Aktivität der zur Expression gebrachten Proteine* Zur Überprüfung der Funktion des Proteins sind Ergebnisse aus (funktionellen) Tests über die bakteriostatische Wirkung anzugeben.
- f. Beschreibung und Identifizierungs- u. Nachweisverfahren einschließlich der Verfahren zur Identifizierung und zum Nachweis der eingeführten Sequenz und des Vektors:*
- g. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren* Diese Angaben können aus der Literatur und aus vorhandenen Labordaten entnommen werden.
- h. Zusammenfassung der früheren Freisetzungen oder Anwendungen des GVO.* Etliche Freisetzungen von transgenen Kartoffeln fanden vor allem in den Niederlanden statt (siehe DALE et al., 1992, OECD, 1992c).
- i. gesundheitliche Erwägungen:*
- *toxische oder allergene Auswirkungen der nicht lebensfähigen GVO und/oder ihre Stoffwechselprodukte* Toxikologische Daten für das Cecropin sind derzeit nicht verfügbar, es gibt jedoch nicht veröffentlichte medizinische Untersuchungen, ausgedehnte toxikologische Untersuchungen werden derzeit für die pharmazeutische Entwicklung durchgeführt (WADE et al., 1992). Eine mögliche Allergenität ist nicht bekannt. Inwieweit das Protein temperaturstabil ist, ist nicht bekannt, die Denaturierung durch Kochen ist zu untersuchen.
 - *Produkt Risiken* Produkt Risiken sind für die Durchführung eines kleinen Feldversuchs nicht wesentlich, da der Konsum ausgeschlossen ist.
 - *Vergleich des veränderten Organismus mit dem Spender-, Empfänger- oder (gegebenenfalls) Elternorganismus in Bezug auf die Pathogenität* Bezüglich der möglichen Pathogenität der Cecropine (es gibt eine Reihe verwandter Substanzen) sind möglichst viele Informationen zusammenzutragen. Der derzeitige Wissensstand: Sequenz und Wirkung sind bekannt, Cecropin-ähnliche Substanzen werden auch in Säugetieren (Verdauungstrakt von Schweinen) produziert. In Pflanzen sind (gentechnisch eingeführte) Cecropine nicht beständig, außerhalb der Pflanzenzelle werden sie rasch abgebaut. Cecropin verleiht Resistenz gegen Erwinia, aber die Wirkung scheint breiter (vielleicht auch gegen Viren und Pilze) und nicht gewebsspezifisch (d. h. gleichermaßen in Blättern, Stengeln, Knollen etc. vorhanden). Ähnlich wirkende Substanzen gibt es auch in der Preiselbeere.

III. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNGSBEDINGUNGEN UND DIE UMWELT, IN DIE GVO FREIGESETZT WERDEN

A. Informationen über die Freisetzung:

- 1. Beschreibung der vorgeschlagenen absichtlichen Freisetzung einschließlich der Zielsetzung(en) und der geplanten Produkte**

Für eine Freisetzung sind zunächst pflanzenbauliche Parameter wie bei einem Sortenversuch anzugeben. Die Bakterienresistenz wurde im Glashaus untersucht. Ziel des Freisetzungsexperiments wäre es, die Proteinexpression im Freiland auf mögliche Abweichungen zu untersuchen. Nach der Ernte sind Routineuntersuchungen der Lagerfähigkeit von Knollen im Vergleich zu solchen von nicht transgenen Pflanzen derselben Sorte anzustellen, die von Erwinia befallen sind.
- 2. Voraussichtliche Zeitpunkte der Freisetzung und Zeitplan des Versuchs einschließlich der Häufigkeit und der Dauer der Freisetzung**

Eine genaue Versuchsbeschreibung mit einem Zeitplan von April bis Oktober ist anzugeben. Wie bereits dargelegt, sollten Pflanz- und Erntetermine mit einem gewissen Spielraum angegeben werden, um auf Witterungseinflüsse reagieren zu können.
- 4. Größe des Geländes**

1/4 Hektar
- 3. Vorbereitung des Geländes vor der Freisetzung**

Normale Vorbereitung für die Aussaat.
- 6. Menge des/der freizusetzenden GVO**

16 Knollen/Quadratmeter
- 8. Maßnahme zum Schutz der Beschäftigten während der Freisetzung**

Als Schutzmaßnahme für mögliche Allergiker: Tragen von Handschuhen.
- 9. Behandlung des Geländes nach der Freisetzung**

2 x Herbizideinsatz
- 10. Für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuches vorgesehene Verfahren**

Siehe Angaben zur Beseitigung, Abschnitt V.C.
- 11. Informationen und Ergebnisse früherer Freisetzung des/der GVO, und zwar insbesondere Freisetzung in unterschiedlichem Maßstab u. in verschiedenen Ökosystemen**

siehe Abschnitt II.C. Punkt 2.h.

B. Informationen über die Umwelt (sowohl am Ort der Freisetzung als auch in der weiteren Umgebung):

- 1. Geographische Lage des Ortes der Freisetzung und genaue Standortangabe (Raster)**

Die Angabe der Katastraldaten (wie im vorangegangenen Beispiel) reicht aus. Beim Gelände handelt es sich um typisches Ackerland.

- 2. Physikalische oder biologische Nähe zu Menschen und zu sonstigen wichtigen Lebewesen**
zu den Punkten 7.–9.:
- Es soll nur einen beschränkten Zugang zum Versuchsfeld geben, das innerhalb eines agronomischen Versuchsbetriebes liegt, zum Schutz vor Tieren dient ein Zaun.
- Klimatische, geographische, biologische Angaben sowie vorangegangene Fruchtfolge und Bodenparameter werden üblicherweise bei allen landwirtschaftlichen Feldversuchen angegeben.
- 10. Beschreibung der Ziel- und Nichtziel-Ökosysteme, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden**
- Die Nachbarschaft von Kartoffelanbau ist zu vermeiden, um eine Verbreitung des Merkmals zu verhindern. Zu einem Nichtzielökosystem gehören saugende Insekten, aber die Antibiotika-Konzentration ist zu niedrig, um schädliche Wirkungen hervorrufen zu können, dies ist abhängig von den Eigenschaften des Proteins (hierzu sind Fütterungsversuche anzustellen).
- 11. Vergleich zw. dem natürlichen Lebensraum des Empfängerorganismus und dem für die Freisetzung vorgesehenen Gebiet**
- Der Acker kann als typischer Lebensraum für landwirtschaftlich genutzte Kartoffelsorten angesehen werden.

IV. INFORMATIONEN ÜBER DIE WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN DEM GVO UND DER UMWELT

Als Umwelt gilt der Freisetzungsort, als Wildtyp die Ausgangssorte.

A. Eigenschaften, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen:

Die Resistenz gegen *Erwinia* fördert theoretisch das Überleben in den Tropen, natürlicherweise gibt es keine Bakterienresistenz bei Kartoffeln, nur eine gewisse Toleranz, deren Wirkungsmechanismus nicht bekannt ist – daher sind keine Analogieschlüsse möglich. *Erwinia* ist in Österreich ein wenig bedeutsamer Gelegenheitsparasit, daher ist in dieser Hinsicht ein Vergleich mit dem "Wildtyp" möglich, weil der (theoretische) Überlebensvorteil sehr gering ist.

B. Wechselwirkungen mit der Umwelt:

- 2. Untersuchungen über das Verhalten und die Eigenschaften des GVO und seiner ökologischen Auswirkungen, die unter simulierten natürlichen Umweltbedingungen wie in Mikrokosmen, Klimakammern und Gewächshäusern durchgeführt werden**
- Weitere Versuche im Glashaus zum Abbau von Cecropin sind durchzuführen, die darüber Auskunft geben sollen, wie schnell Cecropin abgebaut wird.

- 3. Fähigkeit zu Gentransfer** Es gibt, wie dargelegt, keine Kreuzungspartner, ein horizontaler Gentransfer ist nicht nachgewiesen (Angaben nach dem Stand der Wissenschaft, siehe voriges Beispiel zum Tabak).
- 4. Wahrscheinlichkeit einer Selektion nach der Freisetzung, die zur Ausprägung unerwarteter und/oder unerwünschter Merkmale bei dem veränderten Organismus führt** Bei vegetativer Vermehrung besteht diese Gefahr nicht. Versuche im Glashaus haben gezeigt, daß somaklonale Variationen sehr selten sind, es ist aber eine Instabilität der Expression möglich.
- 5. Zur Sicherung und Überprüfung der genetischen Stabilität angewandte Maßnahmen, Beschreibung der genetischen Merkmale, die die Verbreitung genetischen Materials verhüten oder auf ein Minimum beschränken können. Methoden zur Überprüfung der genetischen Stabilität** Die genetische Stabilität kann über die erwähnten Southernblots und die Messung der Cecropin- und Markergenexpression (Bioassay, immunologischer Nachweis) gemessen werden. Eine aktive Verhinderung der Verbreitung ist nicht notwendig, da es ohnehin keine Kreuzungspartner gibt. Der Phänotyp ist erkennbar (durch vegetative Vermehrung).
- 6. Wege der biologischen Verbreitung, bekannte oder potentielle Arten der Wechselwirkungen mit Verarbeitungsgang einschließlich der Einatmung, Einnahme, Oberflächenberührung, des Eingrabens in die Haut usw.** Es besteht kein Unterschied zum Wildtyp.
- 7. Beschreibung von Ökosystemen, in die der GVO sich ausbreiten könnte** Von der Kartoffel wurde bisher kein Verwildern bekannt.

C. Potentielle Auswirkungen auf die Umwelt:

- 1. Potential für eine übermäßige Populationszunahme in der Umwelt** Siehe IV.B.7., es sind keine Unkrauteigenschaften der Kartoffel bekannt.
- 3. Identifizierung und Beschreibung der Zielorganismen** Zielorganismus ist *Erwinia carotovora atroseptica*, ein Verursacher von kleinräumigen Epidemien bei Kartoffeln in Mitteleuropa.
- 4. Voraussichtliche Mechanismen und Folgen der Wechselwirkungen zwischen dem/den freigesetzten GVO und den Zielorganismen** Der Wirkungsmechanismus von Cecropin ist, so weit bekannt, anzugeben. Das Substrat für die bakterizide Wirkung ist allerdings unbekannt.

- 5. Identifizierung und Beschreibung der Nichtzielorganismen, die unabsichtlich beeinflußt werden könnten** Vorstellbar wäre das Ausgraben durch Nager. Daher sind Ergebnisse eines Fütterungsversuchs an Mäusen anzugeben.
- 6. Wahrscheinlichkeit von Änderungen in den biologischen Wechselwirkungen oder im Bereich der Wirtsorganismen bei der Freisetzung** Die Entwicklung einer Resistenz gegen Cecropin bei *Erwinia* ist in den Tropen theoretisch denkbar, in Österreich nicht, weil *Erwinia* nur ein Gelegenheitsparasit ist.
- 7. Bekannte oder vorhersehbare Wirkungen auf Nichtzielorganismen in der Umwelt, Wirkung auf die Populationsniveaus der Konkurrenten, Beuteorganismen, Wirtsorganismen, Symbioten, Räuber, Parasiten und Pathogenen** Symbionten, die Resistenzen induzieren (Mycorrhizae), sind in Kulturen selten, solche Vorgänge sind durch Mikrokosmenversuche zu simulieren. Dabei ist eine Prüfung der Florenspektren durchzuführen.

V. UNTERRICHTUNG ÜBER ÜBERWACHUNG, KONTROLLE, ABFALLENTSORGUNG UND NOTEINSATZPLÄNE

A. Überwachungsverfahren:

- 1. –3. Methoden zum Aufspüren** Die Methoden wurden bereits angegeben: Gen-Sonde, immunologischer Nachweis von Cecropin.
- 4. Dauer und Häufigkeit der Überwachung** Über die Vegetations-Periode; im Frühjahr wird ein Totalherbizid ausgebracht, dies kann abhängig von der Witterung sein (bei häufigem Frostwechsel im Winter ist dies nicht notwendig).

B. Überwachung der Freisetzung:

Der Zutritt von Mensch und Wild ist durch Aufstellen eines Zauns zu verhindern, eine entsprechende Beschilderung ist anzubringen.

C. Abfallentsorgung:

Die Kartoffeln werden nach der Ernte analytisch untersucht, die Reste werden gedämpft oder eingefräst, das Kraut eingearbeitet. Die erwartete Menge von einer Anbaufläche von 500 Quadratmetern beträgt etwa 200–300 Kilo.

D. Noteinsatzpläne:

Da kein Kreuzungspartner vorhanden ist, wird eine unerwartete Ausbreitung so gut wie ausgeschlossen. Im Notfall kann durch zweimaligen Herbizideinsatz der Versuch abgebrochen werden.

2.3.3.3 Resümee

Die vorgeschlagene Freisetzung einer Kartoffel mit einem Gen, das für das antibakterielle Protein Cecropin kodiert, ist etwas schwieriger als das "Tabakbeispiel" zu beurteilen. Viele der bisher freigesetzten transgenen Pflanzen waren Kartoffeln, es besteht also eine gewisse Erfahrung mit derartigen Pflanzen und es haben sich bis jetzt keine negativen Effekte gezeigt. Auch diese Pflanze besitzt in Österreich keine wildwachsenden natürlichen Kreuzungspartner. Es wurde experimentell gezeigt, daß die Kartoffel mit *Solanum nigrum* nicht kreuzbar ist. Es gibt aber einen weitverbreiteten Anbau, daher ist dieser Tatsache Rechnung zu tragen. Die Kartoffel pflanzt sich sowohl vegetativ über Knollen als auch generativ über Samen fort, beide überleben keine Frostwechsel; Vertragen der Knollen durch Tiere ist möglich, daher ist das Feld einzuzäunen. Ansonsten bestehen wegen des Ausgangsorganismus keine Bedenken.

Das eingesetzte Gen für Cecropin (für die Antibiotika-Resistenz gilt dasselbe wie beim Tabak) stieß auf mehr Einwände. Obwohl es ähnliche Substanzen in Säugetieren und anderen Pflanzen gibt, sind derzeit keine toxikologischen Daten verfügbar und solche Untersuchungen sind langwierig und teuer. Hinsichtlich der Wirkungsweise und der Effekte auf die Nichtziel-Bodenmikroflora besteht noch ergänzender Forschungsbedarf. Da das Protein offensichtlich außerhalb der Zelle sofort zerfällt, sind keine Sekundäreffekte zu erwarten.

Der Arbeitsgruppe schien über Cecropin und sein Wirkungsspektrum noch zuwenig bekannt zu sein. Vor einer Freisetzung sollten daher die offenen Fragen durch ergänzende Untersuchungen im Containment oder durch Literaturbelege geklärt werden.

2.3.4 Freisetzung von Marillenbäumen (*Prunus armeniaca*) mit Resistenz gegen die Sharka-Virose

2.3.4.1 Ausgangspunkt

Viruserkrankungen verursachen immer größere Schäden im Obstbau, gegen die vorzugehen kaum eine Möglichkeit besteht. Eine dieser Erkrankungen ist die Sharka-Virose bei Marillen, hervorgerufen durch das Plum Pox-Virus. Die Anwesenheit eines Virus in der Pflanzenzelle bewirkt, daß ein gleichartiges oder nahe verwandtes Virus diese nicht mehr befallen kann. Dieser noch nicht vollständig verstandene natürliche Mechanismus wurde bei einigen anderen Pflanzen zur Erzeugung einer Resistenz gegen Viruserkrankungen benutzt. Das Gen für das Hüllprotein des jeweiligen Virus wurde in das Genom der Pflanze eingesetzt, sodaß ständig eine geringe Menge des Virusproteins in den Pflanzenzellen produziert wird. Die Anwesenheit des Hüllproteins verhindert so den Virusbefall. Für die Marille wurde am Institut für Angewandte Mikrobiologie der Universität für Bodenkultur, Wien (erstmalig bei einem Obstgehölz) der gleiche Weg eingeschlagen, wobei das Gen für das Hüllprotein des Plum Pox-Virus in das Marillengenom eingebracht wurde. Die Prüfung auf Resistenz gegen das Virus war bisher erfolgreich, derzeit müssen die Pflanzen auf ihre übrigen Eigenschaften im Glashaus untersucht werden. Eine Freisetzung wird erst in einiger Zeit aktuell, wenn die Bäume eine für das Auspflanzen erforderliche Größe haben werden.

Literatur

LAIMER da CAMARO MACHADO, M. et al., 1992, Regeneration of transgenic plants of *Prunus armeniaca* containing the coat protein gene of Plum Pox Virus, *Plant Cell Reports* 11, 25-29.

2.3.4.2 Die Behandlung des Beispiels in der Arbeitsgruppe nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220

Die Vorgangsweise der Beurteilung entsprach der bei den vorhergehenden Beispielen.

II. INFORMATIONEN ÜBER DIE GVO

A. Eigenschaften des (der) a) Spender-, b) Empfänger- oder c) (gegebenenfalls) Elternorganismus(men):

EMPFÄNGERORGANISMUS

1. *Wissenschaftliche Bezeichnung* Prunus armeniaca
2. *Taxonomische Daten* Familie Rosaceae
3. *Sonstige Namen (Trivialname, Stamm, Cultivar usw.)* Marille, Sorte Kecskemeter
4. *Phänotypische und genetische Marker* Diese Daten lassen sich aus der pomologischen Beschreibung im Obstsortenbuch entnehmen, damit wird die Sorte eindeutig charakterisiert, darüber hinausgehende Angaben sind nicht erforderlich.
6. *Identifizierungs- und Nachweisverfahren*
7. *Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit* siehe II.A.4.
8. *Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen* Das Verbreitungsgebiet ist der pannonische Raum; die Sorte ist an die Klimabedingungen stark angepaßt, daher lokal begrenzt. Sie wird kommerziell genutzt (Plantagen).
9. *Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen* Zwischen den Prunus-Arten ist eine Kreuzung nicht möglich, nur innerhalb der Marillenarten (siehe Züchtungsbuch), die Vermehrung erfolgt sowohl selbstbewurzelt als auch gepfropft (wobei die Unterlage für das Edelreis das Verbreitungsgebiet beeinflussen kann, es ist aber kein Genfluß zwischen Edelreis und Unterlage bekannt). Es besteht keine Selbstinkompatibilität in dieser Sorte, Fremdbefruchtung erfolgt durch Insekten (Pollenträger, hauptsächlich Bienen); ob es Windbestäubung gibt, ist fraglich.
10. *Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen* Die Sortenreinheit wird durch die pomologische Überwachung garantiert. Die Ausgangspflanzen wurden vegetativ vermehrt (wobei es keine Angaben über mögliche Mutationen gibt). Aus Gewebekulturen kommen wurzelechte Pflanzen, durch Pfropfen kann eine Anpassung an die Bodeneigenschaften vorgenommen werden (siehe 9.). Gegen einzelne Virose sind teilweise Resistenzen bekannt.

11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:

- b. Generationsdauer in natürlichen Ökosystemen, geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzungszyklus** Die Pflanzen beginnen nach 5–10 Jahren (je nach Unterlage und Bedingungen) mit der Blüte. Ungeschlechtliche Vermehrung oder eine Bewurzelung von Reisern ist in der Natur nicht bekannt.
- c. Informationen über das Überleben einschließlich der jahreszeitlichen Aspekte und Fähigkeit zur Bildung von Überlebensorganen, z. B. Bildung von Samen, Sporen und Sklerotien** Die Kerne sind winterhart und bei +4 Grad über 2–3 Jahre keimfähig.
- d. Pathogenität: Infektiösität, Toxigenität etc.** Die Kerne enthalten natürlicherweise Blausäure in geringen Mengen.
- 13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen** Diese gehen aus dem Stammbaum der Sorte hervor, wie er im Obstsortenbuch festgelegt ist.

SPENDERORGANISMUS

- 1. Wissenschaftliche Bezeichnung** Plumpox Virus
- 2. Taxonomische Daten** gehört zu den Potyviren
- 3. Sonstige Namen (Trivialname, Stamm, Cultivar usw.)** Erreger der Sharka-Krankheit
- 4. Phänotypische und genetische Marker** Phänotypische Eigenschaft: Das Virus erscheint im Elektronenmikroskop als ca. 700 nm langes filamentöses Partikel, das genetische Material besteht aus Einzelstrang-RNA mit einer Größe von 10 kB. Für nähere Angaben zur Charakterisierung wird auf einschlägige Literatur verwiesen, z.B. die Sammlung von Kurzbeschreibungen der Britischen Mykologischen Gesellschaft. Es gilt die allgemeine Regel: Ist ein Zitat schwer zugänglich, so ist es in Kopie beizulegen, ansonsten sind Referenzen nur zu zitieren. Das Abschreiben von Listen etc. ist zu vermeiden.
- 6. Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren** Zum Nachweis dienen immunologische (ELISA), molekularbiologische (DNA-Sonden) oder physikalische (Elektronenmikroskopie) Standardmethoden, zu deren Detektionsgrenzen umfangreiche Literatur besteht (in Punkt 7. anzugeben). Darüber hinaus läßt sich das Virus auf krautigen Pflanzen nachweisen.

- 8. Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen**
- Verbreitungsgebiet ist der Mittelmeerraum, Mittel- und Südeuropa. Die Hauptverbreitung erfolgt durch Verschleppen von Pflanzenmaterial durch den Menschen, die Wirtsorganismen in Österreich sind Pfirsich, Marille, Zwetschke. Zur Frage weiterer Wirtsorganismen und bezüglich Latenz gibt es weitreichende Literatur.
- 9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen**
- Das Virusgenom ist nicht segmentiert, es gibt nur eine Virusart, Transenkaposition (d. h. das Verpacken des genetischen Materials eines fremden Virus in das Capsid des Plum Pox-Virus, einer befürchteten Gefahr bei dem eingeschlagenen Weg der Resistenzbildung) ist nicht nachgewiesen, eine Rekombination zwischen Plum Pox- und anderen Viren ist nicht bekannt.
- 10. Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen**
- Es gibt etliche lokale Stämme des Virus, die Differenzen in der Sequenz des Hüllproteins von Stamm zu Stamm betragen ca. 10 %, die Mutationsrate ist nicht bekannt.
- 11. Pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:**
- a. Risikoeinstufung nach derzeitigen Regeln der Gemeinschaft hinsichtlich des Schutzes der menschlichen Gesundheit und/oder der Umwelt**
- Das Virus ist ein Pflanzenpathogen und als solches in der EG nicht eingestuft. In den USA gilt es als Pflanzenpathogen und wird daher von den entsprechenden Bestimmungen erfaßt (siehe Darstellung der US-Regelung in Kapitel 4.).
- c. Informationen über das Überleben etc.**
- Das Virus ist erfahrungsgemäß vergleichsweise labil, genauere Untersuchungen über die Inaktivierung sind der Literatur zu entnehmen.
- d. Pathogenität: Infektiosität, Toxigenität, Virulenz, Allergenität, Träger (Vektor) von Pathogenen, mögliche Vektoren, Wirtsspektrum einschließlich der Nichtzielorganismen. Mögliche Aktivierung latenter Viren (Proviren). Fähigkeit zur Kolonisierung sonstiger Organismen**
- Über den Lebenszyklus siehe Literatur, die Übertragung von Pflanze zu Pflanze erfolgt durch Aphiden, die das Virus mit dem Pflanzensaft aufnehmen.

B. Eigenschaften des Vektors:

- 1. Art und Herkunft des Vektors**
- Es handelt sich um das "disarmed" TI-Plasmid Bin 19.

- 2. Sequenz von Transposons, Vektoren und anderen nichtkodierenden genetischen Sequenzen, die zur Konstruktion des GVO verwendet wurden und die Funktion des eingeführten Vektors und Genabschnitts im GVO sicherstellen** Siehe LAIMER et al., 1992 und die darin angegebene Literatur.
- 3. Häufigkeit der Mobilisierung des eingeführten Vektors und/oder die Fähigkeit zum Gentransfer und Methoden zu deren Bestimmung** Der Vektor ist nicht mobilisierbar, da er integriert wurde.
- 4. Informationen darüber, inwieweit der Vektor auf die DNS beschränkt ist, die zur Erfüllung der geplanten Funktion erforderlich ist** Es gilt dasselbe wie in den beiden vorigen Beispielen (Tabak, Kartoffel) angeführte. Andere offene Leserahmen als die funktionellen sind nicht bekannt.

C. Eigenschaften des veränderten Organismus:

- 1. Informationen über die genetische Veränderung**
- a. zur Veränderung angewandte Methoden** Der Gentransfer erfolgte über *Agrobacterium tumefaciens* "leaf disc"-Transformation mit anschließender Regeneration in Zellkultur.
- b. zur Konstruktion und Einführung der neuartigen Genabschnitte in den Empfängerorganismus oder zur Deletion einer Sequenz angewandte Methoden** Siehe den Abschnitt über "Materials and Methods" in LAIMER et al., 1992.
- c. Beschreibung des eingeführten Genabschnitts und/oder der Konstruktion des Vektors** Das Gen für das Hüllprotein des Virus besitzt eine (spontan entstandene) 5'-Deletionsmutation. Das Protein kann aufgrund dieser Mutation von Aphiden nicht mehr übertragen werden. Zur Struktur des mitübertragenen NPT II-Gens siehe die in LAIMER et al., 1992 angegebene Literatur.
- d. Reinheit des eingeführten Genabschnitts in bezug auf unbekannte Sequenzen etc.** Die verwendete Genkassette wurde bereits mehrfach in anderem Zusammenhang untersucht, siehe LAIMER et al., 1992.
- e. Sequenz, funktionelle Identität und Lokalisation, an der die veränderte(n)/eingeführte(n)/deletierte(n) Nukleinsäuresequenz(en) eingeführt ist (sind), insbesondere Angaben über als schädlich bekannte Sequenzen** Der Integrationsort ist nicht bekannt, die funktionelle Identifikation wird dadurch ermöglicht, daß zwei Gene exprimiert werden (Nachweis über Western-blot), die Abfolge ist Virus-Gen-NPT II, das Plasmid-Konstrukt wurde aber nicht durchsequenziert.

2. Informationen über den endgültigen GVO:

a. *Beschreibung der genetischen Merkmale oder phänotypischen Eigenschaften und insbesondere jeglicher neuen Merkmale oder Eigenschaften, die exprimiert werden können oder nicht mehr exprimiert werden können*

Neue Eigenschaften sind einerseits die Expression des Markers NPT II, andererseits die Expression des Virus-Hüllproteins. Letztere führt zu einer Virusresistenz, deren molekularer Mechanismus unbekannt ist.

b. *Struktur und Menge jeder Art von Vektor und/oder einer Donor-Nukleinsäure, die noch in der endgültigen Konstruktion des veränderten Organismus verblieben ist*

Die Integration folgt den Regeln des T-DNA-Prinzips und ist daher nur in der Richtung Linke Grenze (LB) → Rechte Grenze (RB) möglich.

c. *Stabilität des Organismus in Bezug auf genetische Merkmale*

Die Vererbung erfolgt wie ein Mendelsches Gen, in Tabak wurde die Vererbung desselben Gens von den Autoren bis zur F₄-Generation studiert, in der Marille wurde dies (wegen des Zeitaufwandes von mindestens 5 Jahren bis zum Eintreten der Blüte in jeder Generation) nicht geprüft. Die Stabilität bei vegetativer Vermehrung wurde durch Southern-blot überprüft.

d. *Anteil und Höhe der Expression des neuen genetischen Materials, Meßverfahren und deren Empfindlichkeitsgrad*

Die Markergen-Expression wurde über Northern-blot und Western-blot geprüft; als semiquantitative immunologische Methode steht ein ELISA zur Verfügung. Das Virus-Hüllprotein macht ca. 0,2 % des Gesamt-Proteingehaltes der Zelle aus, etwa hundertmal niedriger als bei natürlichem Virusbefall. Es ist nicht bekannt, ob die Expression organabhängig ist, das Bezugsorgan sind stets Blätter.

e. *Aktivität der zur Expression gebrachten Proteine*

Die gemessene Aktivität ist die Bildung von Hüllprotein (bzw. die Aktivität von NPT II ist die Kanamycin-Resistenz), zur Überprüfung wird ein funktioneller Test auf Resistenz gegen Plum Pox-Virus durchgeführt.

f. *Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren einschließlich der Verfahren zur Identifizierung und zum Nachweis der eingeführten Sequenz und des Vektors*

Nur die eigentliche T-DNA wird übertragen (dies ist die eingeführte Sequenz), zur Überprüfung dieser Übertragung wurde eine PCR im funktionellen Gen mit verschiedenen T-DNA-Abschnitten durchgeführt, darüber hinaus ein Test auf Kanamycin-Resistenz.

g. *Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren*

Für spezielle Fragen sind die Laborprotokolle heranzuziehen.

i. *gesundheitliche Erwägungen:*

– *toxische oder allergene Auswirkungen der nicht lebensfähigen GVO und/oder ihre Stoffwechselprodukte*

Das Hüllprotein kommt natürlicherweise in infizierten Früchten vor, es gibt keine Hinweise auf Allergenität. Die Deletion am 5'-Ende ist spontan entstanden und wurde nicht gentechnisch eingeführt, gesundheitliche Bedenken deswegen

gibt es keine. Das NPT II-Gen wurde bereits mehrfach in Pflanzen übertragen, die freigesetzt wurden und ist laut Literatur unbedenklich (siehe vorhergehende Beispiele, auch OECD, 1992c).

- Produktrisiken

- Vergleich des veränderten Organismus mit dem Spender-, Empfänger- oder (gegebenenfalls) Elternorganismus in bezug auf die Pathogenität

Es werden keine Unterschiede zu den Früchten nicht genetisch veränderter Bäume erwartet. Da es sich beim Protein nicht um ein Enzym handelt, sondern um ein Strukturprotein, hat es keine direkte Aktivität.

III. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNGSBEDINGUNGEN UND DIE UMWELT, IN DIE GVO FREIGESETZT WERDEN

A. Informationen über die Freisetzung:

1. **Beschreibung der vorgeschlagenen absichtlichen Freisetzung einschließlich der Zielsetzung(en) und der geplanten Produkte** Zielsetzung des Experimentes ist es, die Expression des Hüllproteins im jahreszeitlichen Verlauf zu untersuchen, sowie Informationen über mögliche Veredelungseinflüsse, die Verteilung im Baum und die Fruchtbildung zu erhalten. Da der 35S-Promotor umweltabhängig ist (Methylierung ist möglich), sind mehrere Klone zu testen.
2. **Voraussichtliche Zeitpunkte der Freisetzung und Zeitplan des Versuchs einschließlich der Häufigkeit und der Dauer der Freisetzungen** Der Pflanztermin ist wetterabhängig; der Versuch ist mehrjährig, um die Fruchtbildung untersuchen zu können.
3. **Vorbereitung des Geländes vor der Freisetzung** Baumschulmäßige Aufarbeitung für die Auspflanzung.
4. **Größe des Geländes** ca. 2500 Quadratmeter
5. **Für die Freisetzung angewandte Methode(n)** Baumschulmäßiges Auspflanzen
6. **Menge des/der freizusetzenden GVO** 100 Individuen
9. **Behandlung des Geländes nach der Freisetzung**
10. **Für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuches vorgesehene Verfahren** Nach Beendigung des Versuches wird das Gelände gerodet und die Wurzelstöcke ausgegraben und verbrannt, danach werden 3 Jahre lang keine Marillen angebaut; eventuell ist ein Herbizideinsatz vorzusehen.

B. Informationen über die Umwelt:

- | | |
|---|--|
| 1.–6. Geographische Lage des Ortes der Freisetzung etc. | Grundbuch–Katasterauszug wie bei den vorhergehenden Beispielen, dazu soll das Gelände beschrieben werden, einschließlich Hinweise auf Naturschutzgebiete etc. Die Freisetzung wird wahrscheinlich im Rahmen einer Versuchsanstalt erfolgen, die nicht öffentlich zugänglich ist; die Zahl der Beschäftigten ist anzugeben. |
| 7. Klimatische Merkmale des Gebiets/der Gebiete, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden | Langjährige Daten der nächsten Wetterstation sind einzuholen. |
| 8. Geographische, geologische und pedologische Eigenschaften | Sind einer offiziellen Karte zu entnehmen. |
| 9. Flora und Fauna einschließlich Nutzpflanzen, Nutztiere und wandernde Arten | Wie im vorigen Beispiel (Kartoffel). |
| 10. Beschreibung der Ziel- und Nichtziel-Ökosysteme, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden | Zielökosystem ist die Marillenplantage mit dem Plum Pox-Virus und der Blattlaus als dessen Überträger. Nichtzielökosysteme sind schwierig anzugeben, weil das Hüllprotein von keinem Organismus transportiert werden kann. |

IV. INFORMATIONEN ÜBER DIE WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN DEM GVO UND DER UMWELT**A. Eigenschaften, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen:**

- | | |
|--|---|
| 1. Biologische Eigenschaften bezüglich des Überlebens, der Vermehrung und Verbreitung | Es besteht kein Unterschied zum Wildtyp, der Selektionsvorteil durch die verbesserte Überlebenschance bei einem Virusbefall ist unerheblich gegenüber dem Einfluß durch die Kultivierung. |
| 2. Bekannte oder vorhersehbare Umweltbedingungen, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen könnten (Wind, Wasser, Boden, Temperatur, pH usw.) | Diesbezügliche Informationen gehen einerseits aus der herkömmlichen sortenspezifische Klimaprüfung hervor, andererseits ist dies der Gegenstand des Versuchs (z. B. Einfluß von Bienen, Temperatur, Pollenflug etc.). |

B. Wechselwirkungen mit der Umwelt:

- | | |
|---|---------------------------------|
| 1. Vermutlicher Lebensraum des GVO | Die plantagenmäßige Obstanlage. |
|---|---------------------------------|

2. Untersuchungen über das Verhalten und die Eigenschaften des GVO und seiner ökologischen Auswirkungen, die unter simulierten natürlichen Umweltbedingungen wie in Mikrokosmen, Klimakammern und Gewächshäusern durchgeführt werden

Die Versuche im Glashaus, Saranhaus etc. wurden bereits kurz angeführt, eine Zusammenfassung bisheriger Ergebnisse ist hier anzugeben.

3. Fähigkeit zu Gen-transfer:

a. Transfer genetischen Materials von dem/den GVO in Organismen in den betroffenen Ökosystemen bei der Freisetzung

Es gibt keine Kreuzungspartner (außer den vorgesehenen) im Versuchsfeld, der Abstand der Marillenbäume muß jedoch größer sein als die durchschnittliche Bienenflugweite. Die Übertragung von Pollen transgener Bäume durch Bienen kann zur Bildung von Früchten mit der transgenen Eigenschaft bei anderen Bäumen führen; es ist jedoch sehr unwahrscheinlich, daß daraus wieder fruchttragende Bäume werden, denn normalerweise werden diese Obstsorten über Pfropfung oder spezielle Zucht vermehrt. Die Gefahr, daß das Merkmal unbeabsichtigt weitergegeben wird, ist also gering.

b. Transfer genetischen Materials von einheimischen Organismen in den/die GVO, nachdem die Freisetzung stattgefunden hat

Derartige Vorgänge wurden bisher nicht nachgewiesen, aufgegangene Sämlinge sind jedenfalls sicherzustellen, ein Vertragen ist durch einen engmaschigen Zaun zu verhindern, die Identifizierung von eventuellen Sämlingen ist durch Untersuchung mittels einer PCR möglich.

4. Wahrscheinlichkeit einer Selektion nach der Freisetzung, die zur Ausprägung unerwarteter und/oder unerwünschter Merkmale bei dem veränderten Organismus führt

Die Wahrscheinlichkeit ist gering, da keine Verwilderung bekannt ist, es gibt praktisch keinen Selektionsvorteil für transgene Bäume (denn auch kranke Bäume tragen Früchte).

5. Zur Sicherung und Überprüfung der genetischen Stabilität angewandte Maßnahmen. Beschreibung der genetischen Merkmale, die die Verbreitung genetischen Materials verhüten oder auf ein Minimum beschränken können. Methoden zur Überprüfung der genetischen Stabilität

Eine hochsensitive Methode zur Überprüfung der Stabilität bietet die PCR über das Virusprotein-Gen und das NPT II-Gen.

6. Wege der biologischen Verbreitung etc.

Die Verbreitung erfolgt wie bei der Ausgangspflanze durch Zoogamie.

C. Potentielle Auswirkungen auf die Umwelt:

- | | |
|--|--|
| 1. Potential für eine übermäßige Populationszunahme in der Umwelt | Von Marillen ist ein Verwildern nicht bekannt. |
| 3. Identifizierung und Beschreibung der Zielorganismen | Der Zielorganismus ist das Virus. |
| 4. Voraussichtliche Mechanismen und Folgen der Wechselwirkungen zwischen dem/den freigesetzten GVO und den Zielorganismen | Der Mechanismus findet nur innerhalb der Marille statt, es gibt keinen Einfluß auf die Blattlaus. Zum Problem der Transkapsidation: Das Hüllprotein wird nicht weiterverbreitet, da der Transport unterbunden ist (die fehlende Sequenz bewirkt, daß das Virus von der Blattlaus nicht aufgenommen wird), die Virusreplikation wird beeinträchtigt (nach Ergebnissen von Glashausversuchen). |
| 5. Identifizierung und Beschreibung der Nichtzielorganismen, die unabsichtlich beeinflußt werden könnten | Es gibt keine Nichtzielorganismen i. e. S. |
| 6. Wahrscheinlichkeit von Änderungen in den biologischen Wechselwirkungen oder im Bereich der Wirtsorganismen bei der Freisetzung | Eine Resistenzentwicklung durch das Virus ist unwahrscheinlich. |

V. UNTERRICHTUNG ÜBER ÜBERWACHUNG, KONTROLLE, ABFALLENTSORGUNG UND NOTEINSATZPLÄNE

- | | |
|--|--|
| 4. Dauer und Häufigkeit der Überwachung | Während des Versuchs und 3 Jahre danach ist das Gelände zu überwachen, in dieser Zeit soll das Gelände brachliegen. Während der Blüte- u. Fruchtphase ist mehrmals wöchentlich zu kontrollieren, dabei ist die Fruchtzahl zu begrenzen und sind Netze unterzulegen, um möglichst keine Früchte zu verlieren; im Winter sind monatliche Kontrollen ausreichend. |
|--|--|

B. Überwachung der Freisetzung:

- | | |
|--|--|
| 1. Methoden und Verfahren zur Vermeidung und/oder Minimierung der Verbreitung der GVO außerhalb des Freisetzungsgeländes oder des zugewiesenen Nutzungsgebietes | Es war in der Arbeitsgruppe umstritten, ob es sinnvoll sei, Netze über die Bäumen zu spannen, um die Vögel daran zu hindern, die Früchte zu vertragen. |
| 2. Methoden und Verfahren zum Schutz des Geländes vor dem Betreten durch Unbefugte | Ein engmaschiger Zaun (auch gegen Kleintiere) ist ausreichend. |

C. Abfallentsorgung:

Die Früchte sind zu autoklavieren, die Bäume umzuschneiden, zu häckseln, zu kompostieren oder zu Brennholz zu schneiden.

D. Noteinsatzpläne:

- | | |
|--|---|
| 1. Methoden und Verfahren zur Kontrolle der GVO für den Fall einer unerwarteten Ausbreitung | Wenn keine Netze ausgebracht werden, sind bei regelmäßigen Kontrollgängen in der Umgebung eventuelle Sämlinge aufzusammeln. |
| 2.–5. Methoden zur Dekontaminierung, Beseitigung etc. | Ein Versuchsabbruch ist durch Herbizideinsatz leicht zu bewerkstelligen. |

2.3.4.3 Resümee

Bei dem diskutierten Beispiel handelt es sich um den ersten virusresistenten transgenen Obstbaum, und daher sind die Anforderungen entsprechend hoch. Die Marille an sich ist sortenspezifisch stark an lokale Klimate angepaßt. Dies erschwert die Verbreitung, schränkt aber die Standortwahl für den Versuch ein auf Gebiete, in denen möglicherweise andere Marillenbäume stehen (die aber leicht erkennbar sind). Die Fruchtzahl läßt sich in einem beschränkten Versuch kontrollieren, die Bestäubung durch Insekten (hauptsächlich Bienen) ist kaum zu verhindern, ihr Aktionsradius aber abschätzbar. Eine Ausbreitung des genetischen Materials kann somit eingeschränkt werden.

Bezüglich des Gens (für die Antibiotikaresistenz siehe oben) ist darauf hinzuweisen, daß ähnliche Strategien der Virusresistenz bereits für andere Pflanzen/Viren-Systeme angewandt wurden, bisher ohne negative Ergebnisse. In diesem Falle kann das Virus durch eine natürliche Mutation des Hüllproteins nicht mehr von den hierfür notwendigen Aphiden aufgenommen und an andere Pflanzen weitergegeben werden, die Verbreitung ist also ausgeschlossen. Es wurde die Möglichkeit der Transcapsidation erwogen (das heißt das Verpacken des genetischen Materials eines weiteren anwesenden Virus in ein Viruscapsid aus Hüllproteinen vom eingeschleusten Gen, siehe z. B. MARTIN, 1992). Sollte dies auftreten, würde das entstehende Viruspartikel ebenfalls nicht weitergegeben werden können, weil die dafür notwendigen Aphiden das Partikel aufgrund der Mutation im Hüllprotein nicht aufnehmen können.

Ein weiteres mögliches Problem stellt die Rekombination zwischen verschiedenen anwesenden Viren dar. Es scheint sich aber bei diesem Vorgang, sollte er überhaupt eine Rolle spielen, um ein sehr seltenes Ereignis zu handeln, sodaß die möglichen Gefahren daraus nicht ins Gewicht fallen dürften. Außerdem ist das Virusprotein offenbar nicht gesundheitsschädlich, da bisher Früchte infizierter Bäume verzehrt wurden, die wesentlich höhere Konzentrationen an Virusprotein enthalten, ohne Schaden anzurichten.

Uneinigkeit herrschte bezüglich der Frage, ob es sinnvoll und daher zu fordern sei, Netze über die Bäume zu spannen, um Vögel abzuhalten. Ein gewisses Problem ergibt sich aus der Tatsache, daß der Versuch sehr langwierig ist. Da bis zum Blühen und zur Fruchtbildung an einem Obstbaum etliche Jahre vergehen, ist ein kontinuierliches Monitoring sicherzustellen.

Unter diesen Bedingungen wäre gegen eine Freisetzung nach Meinung der Arbeitsgruppe nichts einzuwenden.

2.3.5 Vorschläge der Arbeitsgruppe "Pflanzen"

Der Fragenkatalog im Anhang der EG-Richtlinie hat den Nachteil, daß er den verschiedensten Formen gentechnisch veränderter Lebewesen Rechnung tragen soll. Dies führt dazu, daß zahlreiche Angaben zum Beispiel für Mikroorganismen sinnvoll sein mögen, für transgene Pflanzen aber obsolet erscheinen. Es wäre daher anzustreben, eine *Differenzierung nach Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren* vorzunehmen, wobei die geforderten Informationen dem EG-Katalog inhaltlich folgen, aber besser auf die Art des Organismus abgestimmt sein sollen.

Um die Übersicht zu wahren, sollten die Merkmale des Ausgangsorganismus, das gentechnische Konstrukt, der Ort der Freisetzung und seine Eigenschaften und der Ablauf des Versuches samt Zielsetzung jeweils *zusammenhängend dargestellt* statt in Einzelfragen aufgegliedert werden. Insbesondere bei der Beschreibung des gentechnischen Konstrukts wurde das Formular (RAT DER EG, 1991b) für die zusammenfassende Darstellung, wie es für die Mitteilung durch die Behörde, an die der Antrag gerichtet war, an die verantwortlichen Behörden anderer EG-Mitgliedsstaaten vorgesehen ist, dem eigentlichen Anhang II vorgezogen.

Für die Beurteilung transgener Pflanzen, die auf der Basis häufig verwendeter Nutzpflanzen und ihrer Sorten hergestellt wurden, wäre es sinnvoll, die Ausgangsorganismen nicht jedesmal aufs neue zu beschreiben, sondern mehr auf das charakteristisch Neue und die jeweiligen Unterschiede zu früheren Experimenten mit den gleichen Pflanzen einzugehen, die etwa in anderen Ländern stattgefunden haben. In diesem Zusammenhang wäre es wünschenswert, international gültige *Beschreibungen von häufig für gentechnische Veränderungen herangezogenen Nutzpflanzenarten* und -sorten zu erstellen; in einem allgemeinen Teil könnte auf derartige Angaben verwiesen werden. Das gleiche gilt für oft verwendete Elemente wie GUS-Marker, TI-Plasmide, 35S-Promotor etc.

Die *Konstruktionen* sind vor allem im Hinblick darauf zu beschreiben, ob sie *sicherheitsrelevante Unterschiede* zu solchen aufweisen, die in bereits freigesetzten und bisher für harmlos befundenen Organismen verwendet wurden. Für Konstruktionen, die neue oder selten eingesetzte Elemente beinhalten, gänzlich neue Zusammenhänge herstellen oder neue Empfängerorganismen verwenden, ist eine genauere Beschreibung und Abschätzung vorzunehmen. Ziel dieses Vorschlags ist es, die sicherheitsrelevanten Details herauszustreichen und die Anträge von sich wiederholenden Angaben freizuhalten.

Die Anträge sollten aus den gleichen Gründen *nicht ausschließlich an ein Formblatt gebunden*, sondern auch frei formuliert sein, insbesondere bei der Beschreibung der Konstruktion. Desgleichen sollten die Risikoabschätzungen nicht den Punkten des EG-Anhanges buchstabengetreu folgen, sondern die für Pflanzen relevanten Fragen frei beantwortet werden. Allgemein sollte man unbedingt aus den Ergebnissen von Freisetzungen in anderen Ländern lernen und die Resultate österreichischer Versuche allgemein zugänglich machen.

Zur Angabe des Zeitraums in einem Antrag ist zu bemerken, daß dieser als *Zeitraumen* verstanden wird; es wird empfohlen, diesen möglichst breit zu wählen, um auf Witterungsbedingungen etc. eingehen zu können. Eventuelle Einschränkungen sind besser nach Entwicklungsstadium anzugeben (z. B. Blütezeit).

Schwierigkeiten könnten bei der Frage entstehen, welche *Kriterien* anzulegen sind, um festzustellen, ob ein *Versuch in einer Stufe als beendet anzusehen* ist. Dies sollte besser auf Antrag des Betreibers von Fall zu Fall festgelegt werden, wobei eventuelle Auflagen für ein längerfristiges Monitoring nicht bedeuten sollten, daß der Versuch in der jeweiligen Stufe nicht abgeschlossen sein kann. Diejenigen Ziele des Monitorings, die für eine Weiterführung des Versuches in der nächsthöheren Stufe relevant sind, sind klar zu definieren.

Die Arbeitsgruppe äußerte sich auch bezüglich eines einzurichtenden rein *fachwissenschaftlichen Ausschusses*, der Anträge auf Freisetzung transgener Pflanzen beurteilen soll und dessen Rolle möglichst *aufzuwerten* ist. Er sollte z. B. die Einstufung eines Antrags (kleiner Feldversuch, large scale-Versuch) von Fall zu Fall festlegen. Wird eine Freisetzung befürwortet, sollte das nach Meinung vieler Arbeitsgruppenteilnehmer generell zu einer Freigabe durch die Behörde führen. Ein *Abweichen vom Stufenprinzip* sollte in begründeten Fällen möglich sein, die Bedingungen für ein derartiges vereinfachtes Verfahren wären ebenfalls vom Ausschuß festzulegen.

Ein weiteres Problem bereitet die *Abgrenzung von "Freisetzungen" und "Inverkehrbringen"*. Während die Beurteilung von Freisetzungen nach dem Stufenprinzip Sache des Ausschusses ist, sollte das darauffolgende Inverkehrbringen in Übereinstimmung mit den entsprechenden Materiegesetzen erfolgen. In diesem Falle dürfen ohnehin keine Bedenken gegen eine allgemeine Verbreitung des Organismus mehr bestehen, die *generelle Freigabe* (eventuell unter Einschränkung nach ökologischen Gegebenheiten, s. u.) ist nach Meinung einiger Teilnehmer zu genehmigen, wenn der Ausschuß nach Bewertung der wissenschaftlichen Ergebnisse eines Freisetzungsversuches im großen Maßstab keinen Einspruch erhebt. Keine Einigkeit herrschte darüber, in welcher Form Bedenken, die nicht das unmittelbare Risiko für Gesundheit und Umwelt betreffen, angemessen zu berücksichtigen seien.

Bezüglich einer Kennzeichnung transgener *Pflanzen* ist eine EG-Regionalverordnung anzustreben, die eine *Unbedenklichkeitserklärung für bestimmte ökologische Gegebenheiten* ermöglicht. Insbesondere unter schwierigen Bedingungen und in empfindlichen Ökosystemen (wie dem alpinen) kann der Einsatz von Organismen mit bestimmten Eigenschaften unangebracht sein, die anderswo kein Problem darstellen; bei der Zulassung für das Inverkehrbringen ist auf solche *regionalen Besonderheiten* Rücksicht zu nehmen.

Langfristige Folgen können in erster Linie aus der unerwünschten *Weitergabe des genetischen Materials* und einer möglichen *Verwilderung* der Pflanze entstehen. Da die meisten Nutzpflanzen zwar hier schon lange kultiviert werden, ursprünglich aber nicht heimisch sind u. keine Kreuzungspartner besitzen, ist die Gefahr der vertikalen Weitergabe nicht sehr groß. Nach Stand des Wissens gibt es unter Pflanzen keinen horizontalen Gentransfer; sollte dieser doch nachgewiesen werden, ist diese Art der Weitergabe genetischer Information aber offenbar selten.

Auch die Gefahr einer Verwilderung ist für viele Nutzpflanzen, die sich seit langer Zeit in menschlicher Obhut befinden und ohne Kultivierung nicht überleben können, nicht sehr groß. Es gibt allerdings auch Pflanzen (z. B. den Raps), die sich sehr wohl bis zu einem gewissen Maß unkontrolliert ausbreiten können, diese potentielle Unkrauteigenschaft hat aber bisher noch nie zu Problemen geführt. Ein weiterer Parameter ist die *Überlebensfähigkeit von Samen und Dauerformen* unter verschiedenen Bedingungen (z. B. bei Frost), die im Einzelfall abzuschätzen ist. Betreffen die eingeführten Veränderungen Eigenschaften, die die Verbreitung, das Überleben oder die Weitergabe von genetischem Material fördern, so ist dies bei der Risikoabschätzung besonders zu berücksichtigen.

Die generelle Forderung nach genauer molekularer Charakterisierung, also das exakte Feststellen der Position des neuen Gens und der Sequenz an den Insertionsstellen verlangt einen hohen Aufwand und bringt in den meisten Fällen keinen großen Gewinn an Sicherheit, zumal oft schwerwiegendere Rearrangements im Genom auch bei herkömmlichen Methoden der Zucht auftreten (etwa bei der Hybridisierung). Sinnvoller erscheint die Forderung, möglichst *kleine Konstrukte* für die gentechnische Veränderung zu wählen, die *so wenig uncharakterisierte Sequenzen wie möglich* enthalten.

Künstliche Ökosysteme sollten *kritischer betrachtet* werden als bisher. Ein unbeschränktes Ausbringen standortfremder Organismen, gentechnisch verändert oder nicht, ist nicht anzustreben. Wichtiger als spezielle Vorschriften im Einzelfall ist aber die Offenheit gegenüber neu erkannten

Risiken; hierfür ist es notwendig, *ökologische Fachkompetenz* einzubinden, ohne die eine Beurteilung höchst problematisch ist. Obwohl die Grenzen der Beurteilbarkeit komplexer Auswirkungen auf das Ökosystem durchaus anerkannt werden, sind diese zumindest deutlich zu machen und ökologische Fragen nach bestem Wissen zu behandeln. In vielen Fällen wird es nicht anders möglich sein, als auf den derzeitigen Stand des Wissens hinzuweisen (z. B. bei der Frage des horizontalen Gentransfers bei Pflanzen), ein derartiger Verweis ist dann zu akzeptieren.

Im Bereich der Sicherheitsforschung sind insbesondere Bemühungen zu unterstützen, die die *Bedingungen für die Verwilderung* untersuchen. Eine Langzeit-Risikoabschätzung sollte die natürliche Verbreitungsfähigkeit berücksichtigen sowie die pflanzliche Gesamtheit im Auge behalten. Es erscheint notwendig, den *Bestand* allgemein und insbesondere die *Sorte* (infraspezifische Taxons) *besser zu charakterisieren*, als es der Anhang II nahelegt.

2.3.5.1 Anforderungen an die Beurteilungskriterien

Faßt man die Vorschläge der Arbeitsgruppe Pflanzen zusammen, so ergeben sich aus österreichischer Sicht folgende Anforderungen für Ergänzung und Präzisierung der Kriterien aus dem Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 zur Beurteilung von Freisetzungen transgener Pflanzen:

1. *Zusammenhängende genaue Beschreibung*
 - *der Merkmale des Ausgangsorganismus,*
 - *des genetischen Konstrukts und seiner Elemente,*
 - *des Freisetzungsortes und seiner Eigenschaften und Ökosysteme,*
 - *der experimentellen Vorgangsweise und der Zielsetzung des Versuchs.*
2. *Angaben darüber, wie gut bekannt jedes der Ausgangs-Elemente ist. Zitate der Referenzliteratur für häufig verwendete Elemente (Ausgangsorganismen, Konstruktionselemente wie Plasmide, Gene etc.).*
3. *Angabe früherer ähnlicher Versuche und ihrer Ergebnisse.*
4. *Darstellung des gegenüber diesen Freisetzungsversuchen charakteristisch Neuen für jeden dieser Punkte und dessen voraussichtlicher Einfluß auf sicherheitsrelevante Sachverhalte (wichtig u. a. für die Entscheidung, ob ein "vereinfachtes Verfahren" in Frage kommt).*
5. *Voraussichtliche Eigenschaften des GVO.*
6. *Größe der nicht charakterisierten fremden Nukleinsäure, die im transgenen Organismus integriert ist.*
7. *Darstellung des Zeitrahmens des Versuchs nach biologischen Zeitabläufen (Vegetationsperioden, Blütezeit etc.).*
8. *Aufgliederung der Fragestellung des Versuchs danach, welche Teilfragen während der Freisetzung und welche durch ein anschließendes Monitoring beantwortet werden sollen, Angaben der hierzu vorgesehenen Verfahren.*
9. *Abschätzung der Risiken für einen Gentransfer (genaue Charakterisierung des Bestandes und der möglichen Kreuzungspartner), Einfluß der gentechnischen Veränderung hierauf.*
10. *Abschätzung der Risiken für eine Verwilderung (Angabe von verwandten Arten, die verwildert sind), Einfluß der gentechnischen Veränderung hierauf.*

- 11. Abschätzung der Risiken für eine Verbreitung (Darstellung der Überdauerungsformen), Einfluß der gentechnischen Veränderung hierauf.*
- 12. Abschätzung der Risiken, falls das Transgen übertragen werden sollte.*
- 13. Für das Inverkehrbringen: Angabe der ökologischen Bedingungen und daraus abgeleitet der Verwerdung, für die eine Zulassung ausgesprochen werden kann.*

Ein aus den Beratungen und Ergebnissen der Arbeitsgruppen resultierender Vorschlag für eine Modifizierung des Anhangs II für Pflanzen ist im Kapitel 5.4.2.1 angeführt.

2.4 ARBEITSGRUPPE "TIERE"

2.4.1 Teilnehmer und Arbeitsweise

Die Arbeitsgruppe "Tiere" wurde ohne jegliche Unterstützung oder Beteiligung der Forschungsstelle für Technikbewertung bzw. des Umweltbundesamtes von Univ.-Prof. Dr. K. Schellander (Inst. f. Tierzucht, Veterinärmedizinische Universität Wien) ins Leben gerufen und geleitet. Teilnehmer, Themenwahl, Art der Vorgangsweise und Dauer der Beratungen wurden selbständig festgelegt. Die Ergebnisse stellen daher in noch größerem Maße als bei den anderen Gruppen die alleinige Einschätzung der beteiligten Wissenschaftler dar.

Die Arbeitsgruppe "transgene Tiere" hatte mit einigen Schwierigkeiten zu kämpfen. Ihr Leiter berief zunächst einen Kreis von Fachleuten vor allem aus der akademischen und angewandten Tierzucht. Es zeigte sich aber bald, daß die Auffassungen über die prinzipielle Zulässigkeit und den Sinn der Herstellung von transgenen Tieren stark divergierten. Einige Teilnehmer lehnten diese grundsätzlich ab und sahen keinen Sinn in einer weiteren Mitarbeit, da von der Voraussetzung ausgegangen wurde, daß Freisetzungen prinzipiell zulässig seien, die Bedingungen hierfür aber zur Diskussion stehen sollten.

Unterstützung erfuhr das Projekt von der Tierärztekammer und von Landestierzuchtanstalten, die aber eine strenge Kontrolle transgener Tiere forderten und auch Argumente des Konsumentenschutzes aufgriffen (z. B. bezüglich des Einsatzes von transgenen Schweinen bei der Fleischproduktion). Grundsätzliche Ablehnung kam in erster Linie vom Institut für Tierzucht der Universität für Bodenkultur Wien und von der Bundesanstalt für Alpine Landwirtschaft Gumpenstein.

Schließlich setzten sich (auch aufgrund des Zeitdrucks) Doz. Schellander und Dr. F. Führer vom Institut für Tierzucht und Genetik der Veterinärmedizinischen Universität Wien dankenswerterweise mit der Materie intensiv auseinander und verfaßten im Verlauf von vier Sitzungen ein Grundsatzpapier. Darin ist auch ein Entwurf für einen Fragenkatalog enthalten, der sich an den EG-Richtlinien orientiert, diese aber in gewissem Rahmen modifiziert bzw. einige neue Aspekte berücksichtigt, die bei der Beurteilung transgener Tiere nach Meinung der Arbeitsgruppe wichtig sind.

In der Folge sind wörtliche Zitate aus dem Grundsatzpapier kursiv, ergänzende Kommentare und Interpretationen aufgrund eines Gesprächs zwischen Dr. Schellander und der Forschungsstelle für Technikbewertung in Normalschrift ausgeführt.

2.4.2 Allgemeine Bestimmungen zur Freisetzung transgener Tiere

Die folgenden grundlegenden Überlegungen über die Bedingungen für eine Freisetzung transgener Tiere beziehen sich in erster Linie auf landwirtschaftliche Nutztiere wie Rinder, Schweine etc., berücksichtigen aber auch andere, wie Wildtiere, Fische usw. Für letztere sowie für Nutztiere wie Bienen o. ä. wären darüber hinaus gesonderte Bestimmungen auszuarbeiten, die auf den jeweiligen Organismus und dessen Risikopotential stärker eingehen.

2.4.2.1 Zuchtbedingungen

Vergleicht man die Probleme im Umgang mit transgenen Tieren mit denen herkömmlicher Züchtung, so fällt auf, daß zumindest in einem Punkt Übereinstimmung besteht: Sowohl der Züchter als auch der um die Natur Besorgte sind bemüht, die unkontrollierte Verbreitung des genetischen Materials zu verhindern. In der Zucht geschieht dies vor allem durch "gute Zuchtpraxis", die in Österreich in den Landestierzuchtgesetzen festgehalten ist. Darin enthalten ist u. a. die Forderung nach strikter Abstammungskontrolle, nach Prüfung von männlichen Tieren vor der Zulassung zur Zucht und nach der ausschließlichen Verwendung von für ein bestimmtes Merkmal homozygoten Tieren. Für den Umgang mit transgenen Tieren ist daher von dieser Basis auszugehen:

Alle transgenen Tiere müssen eine anerkannte Identifizierung aufweisen, wie Tätowierungen, Ohrmarken oder andere zusätzliche Kennzeichen, die am Tier sichtbar sind oder sichtbar gemacht werden können. Bei Tieren, die noch im geschlossenem System gehalten werden, muß ebenfalls die Identifizierung klar erkennbar sein. Alle transgenen Tiere müssen unter kontrollierten Bedingungen entsprechend den Herdzuchtbetrieben gehalten und gezüchtet werden. Die Tiere müssen in einem Zuchtregister eingetragen sein, das von der zuständigen Behörde geführt werden muß. Die Verwendung muß bis zum Tod aufgezeichnet werden, ebenso muß die Verwertung der Tierkörper festgehalten werden. Für alle transgenen Tiere, mit denen gezüchtet werden soll, muß eine Zuchterlaubnis von der Behörde ausgesprochen werden. Männliche Zuchttiere müssen homozygot sein.

2.4.2.2 Geschlossenes System

Eine kontroverse Frage betrifft die Unterscheidung von geschlossenem System und Freisetzung bei transgenen Tieren. Während manche einzig von der Rückholbarkeit ausgehen und daher "die Kuh auf der Weide" unter der Obhut des Züchters in einem "geschlossenen System" sehen (BREM, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992), wird hier die Auffassung vertreten, daß neben der Rückholbarkeit die Kontrollmöglichkeit ausschlaggebend ist. Erfahrungsgemäß beträgt die Fehlerquote in der Zucht ein bis fünf Prozent und eine Überprüfung des Genotyps ist insbesondere bei großen landwirtschaftlichen Nutztieren wegen der langen Generationsdauer fast unmöglich. Daher sollte die striktest mögliche Kontrolle bei transgenen Nutztieren angewandt werden, um eine unkontrollierte Verbreitung des eingeführten genetischen Materials zu vermeiden. Eine Definition des geschlossenen Systems einzig nach der Rückholbarkeit würde zu einem unkontrollierten Genfluß führen, sodaß die Gefahr besteht, Tiere mit "fremden" Genen in der Zucht und in der Produktion nicht mehr identifizieren zu können. Dies ist auch angesichts der Sensibilisierung in der Öffentlichkeit unvermeidbar, die wesentlich die Entwicklung der Gentechnik in der Tierzucht beeinflussen wird (BREM et al., 1991). Daher wird ein neuer Begriff definiert:

Ein geschlossenes System ist jenes System, in dem die transgenen Tiere erzeugt wurden (Herstellungseinheit).

Der Begriff der "Herstellungseinheit" umfaßt also die organisatorische Einheit (z. B. Institut, Betrieb), die das betreffende Tier hergestellt und gezüchtet hat und in dem es unter ständiger Beobachtung und Kontrolle steht, einschließlich der Möglichkeiten für eine fachgerechte klinische oder sonstige Analyse.

2.4.2.3 Freisetzung

Im Gegensatz dazu steht die Freisetzung:

Hier befinden sich die Tiere außerhalb ihrer Herstellungseinheiten. Gezüchtet werden darf mit den Tieren (aber) nur unter den oben angegebenen Voraussetzungen (also Identifizierung, Haltungsbedingungen, Prüfungen etc.).

Wird ein transgenes Tier aus der Herstellungseinheit etwa zu einem Bauern in den Stall gebracht, ist dies eine Freisetzung, da die lückenlose Kontrolle durch den Erzeuger nicht mehr gewährleistet ist. Von nun an gelten neben den Bestimmungen für die Freisetzung dieselben Bedingungen wie für die Hochleistungszucht (also nicht die für die freie Zucht).

2.4.2.4 Stufenprinzip

Die Freisetzung aller gentechnisch veränderter Organismen und somit auch transgener Tiere hat nach dem Stufenprinzip zu erfolgen, wobei die nachfolgende Stufe erst dann besritten werden darf, wenn nach dem Vorsorgeprinzip (nach dem Entwurf für ein Gentechnikgesetz, Bundesministerium für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz, 1992, Anm. d. Verf.) in der vorhergegangenen Stufe keine negativen Auswirkungen festzustellen sind.

2.4.2.5 Kleiner Maßstab

Handelt es sich um wenige Tiere (20 bis 25, s. u.), kann dies als kleiner Maßstab gelten. Die besonderen Bedingungen sind unten aufgelistet und beziehen sich in erster Linie auf die Anzahl der Linien und die vorgeschriebenen Untersuchungen.

Die Freisetzung im kleinen Maßstab gilt als abgeschlossen, wenn in der Kategorie I eine Generation, in der Kategorie II zwei Generationen, in der Kategorie III fünf Generationen und in der Kategorie IV zehn Generationen von Tieren entsprechend untersucht wurden.

Bezüglich der notwendigen Untersuchungen und der Kategorien siehe unten. Die Erfordernisse für die Beendigung eines Freisetzungversuches sind also nach dem Risiko abzustufen.

2.4.2.6 Großer Maßstab

Übersteigt die Anzahl der freizusetzenden Tiere die Zahl von 20 bis 25 Individuen, gelten die Bestimmungen für den großen Maßstab. Nicht die Art (und Größe) der transgenen Tiere ist ausschlaggebend, sondern allein die Zahl, dies soll das unterschiedliche Risikopotential berücksichtigen. Die Unterschiede in der Größe der Tiere (z. B. 25 Bienen gegenüber 25 Rindern ist auf den ersten Blick "ungerecht") stehen den Überwachungsmöglichkeiten gegenüber, die meist umso besser sind, je größer das Tier ist.

Diese Freisetzung erfolgt wie unter "Kleiner Maßstab" erwähnt, jedoch mit einer größeren Anzahl von Tieren. Auch hier müssen alle Tiere einer Aufsicht unterworfen werden.

2.4.2.7 Inverkehrbringen

Kennzeichen des Inverkehrbringens ist es, daß jegliche Kontrolle über den Organismus aufgegeben wird. Für transgene Tiere hieße dies, daß sie unkontrolliert am Markt angeboten werden könnten und auch für die Zucht zugelassen wären. Angesichts der Forderung nach strikter Kontrolle des Genflusses ist das unakzeptabel und entspricht auch nicht den Bedingungen in der herkömmlichen Hochleistungszucht.

Eine Freisetzung von transgenen Tieren, die als unbeschränkt bezeichnet werden kann, sollte nicht durchgeführt werden. Das bedeutet, daß die Freisetzung von transgenen Tieren so gut wie immer eine Freisetzung im großen Maßstab (bzw. nach den entsprechenden Regeln durchzuführen) sein wird.

2.4.2.8 Einteilung in Kategorien

Unterschiedlichen Bedingungen und Gefahren, die von verschiedenen Tieren ausgehen können, soll durch die Zuweisung zu vier Kategorien Rechnung getragen werden. Folgende Einteilung wird vorgeschlagen:

**In bezug auf die stufenweise Freisetzung
können die Tiere in vier Kategorien eingeteilt werden:**

- | | |
|---|---|
| <p><i>I. Tiere ohne Rückholprobleme und ohne natürliche Paarungspartner: z. B. Rind, Pferd.</i></p> | <p>Diese Tiere können jederzeit erkannt und, selbst wenn sie entkommen sein sollten, rückgeholt werden. Ein Auskreuzen mit wildlebenden Formen ist ausgeschlossen. Eine gewisse Gefahr ergibt sich durch ungewollte Paarung im Rahmen der Zucht, siehe oben.</p> |
| <p><i>II. Tiere mit eingeschränkten Rückholproblemen und mit eventuell natürlichen Paarungspartnern: z. B. Schaf, Ziege, Schwein, Hund und Katze</i></p> | <p>Diese Tiere besitzen ein größeres Fortpflanzungs- oder Anwendungspotential als die der Gruppe I. oder können in gewisser Form verwildern. Natürliche Paarungspartner kommen vor, oder die Paarung läßt sich kaum verhindern.</p> |
| <p><i>III. Tiere mit Rückholproblemen und natürlichen Paarungspartnern: z. B. Geflügel, Nager</i></p> | <p>Im Unterschied zu Gruppe IV. läßt sich aber eine gewisse Begrenzbarkeit aufrechterhalten (Käfige, Fallen etc.). Ansonsten sind die Probleme ähnlich wie bei Gruppe IV.</p> |
| <p><i>IV. Tiere mit sehr schwierigen Rückholproblemen und geeigneten natürlichen Paarungspartnern: z. B. Fische, Insekten, Wildtiere einschl. Vögel, Reptilien, Amphibien, Wirbellose</i></p> | <p>Hier muß davon ausgegangen werden, daß eine Rückholung nicht möglich ist oder die Tiere sich der menschlichen Kontrolle völlig entziehen können. Dies gilt für alle aufgeführten Gruppen, obwohl natürlich auch große Unterschiede bestehen. Kommerziell interessant sind Fische. Bezüglich Insekten und anderen Wirbellosen sind die jeweiligen Bedingungen für eine eventuelle Freisetzung noch nicht geklärt.</p> |

Kriterien für die Zuweisung zu einer Gruppe sind also die Rückholbarkeit, die Fortpflanzungskapazität, das Vorhandensein natürlicher Kreuzungspartner und die Anwendungskapazität.

Die Rückholbarkeit ist das zentrale Kriterium jeder Beurteilung transgener Organismen. Während Tiere sich im Gegensatz zu Pflanzen zwar fortbewegen können, sind die meisten Nutztiere aber strikt vom Halter kontrollierbar. Anders ist dies bei manchen Haustieren (Hund, Katze) und insbesondere bei kleineren Tieren wie Vögeln, Nagern etc., aber auch bei Wildtieren. Vollends außerhalb jeder Rückholbarkeit sind Fische und Wirbellose.

Die Fortpflanzungskapazität ist nicht nur insofern interessant, als das transgene Tier sich mit natürlichen wildlebenden Partnern kreuzen kann, sondern besagt auch etwas über die zu erwartende Veränderung des Transgens selber. Je kürzer die Generationszeit, je schneller also die Generationsfolge ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, daß das Transgen Veränderungen unterworfen ist.

Während die Rückholbarkeit und die Fortpflanzungskapazität samt Vorhandensein natürlicher Kreuzungspartner technische Kriterien sind, die die Gefahr der unkontrollierten Verbreitung und der Etablierung des Organismus in einer nicht vorgesehenen Weise widerspiegeln, ist die Anwendungskapazität ein neues Kriterium. Es geht hier um die erwartete Durchsetzungsfähigkeit in der Zucht und in der landwirtschaftlichen Verwendung eines Nutztieres. Eine Linie transgener Schweine mit stark verbesserter Futtermittelverwertung etwa würde sich, unterstützt durch die hohe Fortpflanzungskapazität, in kurzer Zeit in der Landwirtschaft weit verbreiten. Die Gefahr, daß das betreffende Transgen in den allgemeinen Genpool einfließt, ist daher größer.

2.4.2.9 Vereinfachtes Verfahren

Die EG-Richtlinie 90/220 bietet die Möglichkeit, bei Vorliegen bestimmter Kriterien ein erleichtertes Verfahren vorzusehen.

Dieses ist vorgesehen, wenn durch die Freisetzung keine Gefahr für die menschliche Gesundheit oder die Umwelt entsteht und der freigesetzte Organismus leicht rückholbar ist. Vereinfachte Verfahren sollten nur für die Tiere der Kategorie I. vorgesehen werden, nicht aber für die Tiere der Kategorie II., III. und IV.

Der Grund hierfür liegt für die Gruppe II. z. B. in der höheren Fortpflanzungs- und Anwendungskapazität des Schweins, für die Gruppen III. und IV. in der mangelnden Rückholbarkeit. Erleichterungen durch ein vereinfachtes Verfahren liegen in geringeren Anforderungen für die klinische und sonstige Untersuchung, nicht jedoch in der Möglichkeit, eine Stufe zu überspringen. Das Stufenprinzip bleibt in allen Fällen aufrecht.

2.4.2.10 Kommission

Zur Beurteilung von Freisetzungsverfahren mit transgenen Tieren sollte eine Kommission mit Mitgliedern aus folgenden Gruppen eingesetzt werden:

1. *Ein Vertreter von potentiellen Freisettern*
(z. B. Züchtervereinigungen und -organisationen);
2. *ein Vertreter von Herstellern transgener Tiere*
(z. B. Universitätsinstitute, einschlägige Firmen);
3. *Vertreter der Sozialpartner* (als Repräsentanten der Gesellschaft bzw. der Öffentlichkeit);
4. *ein molekulargenetischer Experte* (aus einem anderen Gebiet als der Tierzucht)
5. *ein Umweltexperte*
(zur Beurteilung möglicher Auswirkungen der eingeführten gentechnischen Veränderungen und phänotypischen Eigenschaften auf die betreffenden Ökosysteme);
6. *ein Experte für Tierhaltung, Tierhygiene und Tierschutz*
(ist als Einheit zu sehen, siehe die jüngste Einrichtung eines entsprechenden Ordinariats an der Veterinärmedizinischen Universität);
7. *ein Experte für Tiergesundheit* (Tierarzt);

8. *ein Experte für Lebensmittel*

(Da ja auch der Zweck der Freisetzung anzugeben ist, sollten die möglichen Auswirkungen auf die Qualität von Lebensmitteln, die aus dem transgenen Tier hergestellt werden könnten, bereits frühzeitig einbezogen werden können.)

Das Hauptgewicht bei die Beurteilung sollte auf der Überprüfung liegen, ob von der entsprechenden Freisetzung ein Schaden für den Menschen oder die Umwelt ausgehen kann. Wie vorgeschlagen, sollten transgene Tiere nach den Kriterien der Rückholbarkeit, des Fortpflanzungspotentials und des Anwendungspotentials in vier Kategorien eingeteilt werden. Die Beurteilung in der Kommission sollte durch Kommissionssitzungen und Peer reviews (anonyme Begutachtungen, Anm. d. Verf.) erfolgen.

Die Aufgabe der Kommission ist die Beurteilung der sicherheitsrelevanten Aspekte einer Freisetzung. Es wird dafür plädiert, die Kommission entscheidungsberechtigt zu machen, da eine Trennung in einen Ausschuß, der die wissenschaftliche Begutachtung durchführt, und eine übergeordnete Kommission nicht sinnvoll ist. Erfahrungsgemäß schließt sich eine Kommission stets der Meinung des entsprechenden Fachausschusses an. Ist dieser nur mit Wissenschaftlern besetzt, könnte leicht der Eindruck der Einseitigkeit entstehen. Dies wäre bei einem in der Öffentlichkeit derart umstrittenen Thema sehr ungünstig. Aus diesem Grund würden Vertreter der Sozialpartner in der Kommission begrüßt. Außerdem hat sich gezeigt, daß die Anwesenheit von Nicht-Fachleuten erfahrungsgemäß positive Auswirkungen in derartigen Kommissionen hat, indem die Punkte, die von allgemeinem Interesse sind, stärker hervorgehoben werden. Außerdem muß der Sachverhalt in allgemeinverständlicher Form dargelegt werden.

Die weitere Zusammensetzung der Kommission ist so angelegt, daß kritische Stimmen ihre Argumente darlegen und überschlagsmäßig sogar eine leichte Mehrheit erreichen können. Es wird aber Wert darauf gelegt, daß die Mitglieder Freisetzungen nicht aus weltanschaulichen Gründen grundsätzlich ablehnen, sondern einzelne Projekte kritisch begutachten, um mögliche sicherheitsrelevante Sachverhalte aufzudecken und auf ihre Signifikanz hin zu untersuchen.

Zusammenfassend ergeben sich folgende Anforderungen an die zur Beurteilung notwendigen Informationen:

2.4.3 Anforderungen an die Beurteilungskriterien

(nach K. Schellander, F. Führer)

Die notwendig erscheinenden Informationen sind, unabhängig von der EG-Richtlinie, im folgenden mehr oder weniger tabellarisch angeführt. Sie könnten in 4 Blöcke eingeteilt werden:

- 1. Informationen über die Herkunft und die Wirkung des Transgens*
- 2. Die Beschreibung des Empfängers bzw. des Empfängergenoms*
- 3. Die Beschreibung der Herstellungsmethode*
- 4. Die Beschreibung des gentechnisch veränderten Organismus*

ad 1.: Beschreibung des Transgens

Zunächst ist das für die Transformation des GVO verwendete Transgen genau zu beschreiben. Hierzu ist dem Freisetzungsantrag die entsprechende molekulargenetische Information anzuschließen, die folgendes enthält:

- *Angaben über den Aufbau des Transgens (Genkarte),*
- *Form der Isolierung aus dem Vektor (verwendete Enzyme),*
- *Struktur des Transgens: linear oder zirkulär,*
- *verwendete Konzentration.*

Die Angaben der Konzentration und der Größe des Transgens sind durch entsprechendes Bildmaterial zu belegen. Die Herkunft des Transgens ist nachzuweisen. Sollte das Transgen von außen zugekauft oder geliefert worden sein, so ist der Lieferant anzugeben und die Isolierungsweise des erhaltenen Plasmids ebenfalls zu dokumentieren. Sollte das Transgen in der Herstellungseinheit selbst isoliert und die rekombinante DNA dort konstruiert worden sein, so ist die Methodik ebenfalls anzugeben.

Mögliche negative Effekte des Spenderorganismus, sei es ein Tier, eine Pflanze oder ein Mikroorganismus, auf den GVO oder auf die Umwelt sind hier anzugeben.

Die Nachweismethode für das Transgen einschl. der verwendeten Gensonde(n) bzw. PCR-Primer muß exakt angegeben werden. Weiters muß der Antragsteller nachweisen bzw. glaubhaft versichern, daß der Behörde die Nachweismethode zugänglich ist bzw. daß ihr eine Beschreibung zur Verfügung steht, die eine Anwendung dieser Methode für Kontrollzwecke zuläßt.

ad 2.: Beschreibung des Empfängers bzw. des Empfängergenoms

Hier sind die Empfängertiere bzw. die Zygoten auf zwei verschiedenen Ebenen ausreichend detailliert zu beschreiben.

1. Auf der Ebene der Transformation:

Der Antragsteller hat die Zustandsform des Empfängergenoms detailliert zu beschreiben. In der Regel wird es sich um eine pronukleare Zygote handeln, hier ist die Herstellung bzw. die Herkunft der Zygote zu definieren. Die Herkunft der Eizellen und der Gameten ist genau anzugeben. Hierbei sind auch die Rassen bzw. jene Linien zu benennen, von denen die Gameten stammen.

2. Auf der Ebene des Adulttieres:

Hier sind die Eigenschaften des Empfängerorganismus im normalen Adultenstadium zu beschreiben, d. h. der zu erwartende Phänotyp des Empfängers. Bei Rassen ist auf den Rassenstandard Bezug zu nehmen, bei Hybriden ist anzugeben, welcher Phänotyp normalerweise zu erwarten ist.

ad 3.: Beschreibung der Herstellungsmethode

Die Methodik der Herstellung des transgenen Organismus bis hin zur Analyse der Genintegration, Genexpression und des Transgenphänotyps ist anzugeben.

ad 4.: Die Beschreibung des gentechnisch veränderten Organismus

Hier kann auf den entsprechenden Abschnitt des zusammenfassenden Freisetzungsförmulares der EG (RAT DER EG, 1991b) verwiesen werden.

Der Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 erscheint unter diesen Voraussetzungen für die Beurteilung von transgenen Tieren ohne Interpretation wenig geeignet. Obwohl der Katalog für Mikroorganismen und in gewisser Weise auch für Pflanzen relevant erscheint, trifft er offenbar für Tiere nicht den Kern der Sache. Außerdem gibt es durch die in der Hochleistungszucht übliche Praxis der rigorosen Zuchtkontrolle und -überwachung gewisse Vorbedingungen, die auch eine Beurteilung transgener Zuchttiere erfüllen muß.

Unter Berücksichtigung der EG-Richtlinie 90/220 könnte daher ein Kriterienkatalog für die Freisetzung eines transgenen Tieres in der Weise formuliert sein, wie in Kapitel 5.4.3.1 angeführt, wobei allerdings für die Beschreibung des Transgens und des Empfänger-genoms verstärkt auf die oben angeführten Punkte einzugehen wäre.

2.5 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE DER ARBEITSGRUPPEN

Grundsätzliche Eignung des Anhangs II

Grundsätzlich erweist sich der Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 für die Risikoabschätzung transgener Organismen als geeignet. Die möglichen Unklarheiten sind am geringsten für Mikroorganismen, stärker für Pflanzen, für Tiere empfiehlt sich eine weitergehende Interpretation.

Entscheidung trotz Unsicherheit

Eine restlose Abschätzung des zukünftigen Verhaltens eines Organismus in der Umwelt wird nie möglich sein, es ist stets mit einer gewissen Unsicherheit zu rechnen; ob diese zu akzeptieren ist oder nicht, bleibt Sache der Entscheidung im Einzelfall.

Beibehaltung der OECD-Prinzipien

Desgleichen werden das Prinzip der Fall-zu-Fall-Beurteilung und das Stufenprinzip bekräftigt. Insbesondere für Mikroorganismen, aber auch für Tiere (ausgenommen große Nutztiere) sollten hiervon möglichst keine Ausnahmen gemacht werden. Für Pflanzen sollte die Möglichkeit für ein vereinfachtes Verfahren dort gegeben sein, wo bereits viel Erfahrung mit dem Organismus vorliegt, insbesondere bei landwirtschaftlich genutzten Kulturpflanzen.

Spezifischere Fragen

Es erweist sich als ungünstig, nach einem Katalog vorzugehen, in dem sämtliche Fälle transgener Organismen (von erzabbauenden Bakterien über herbizidresistente Nutzpflanzen bis zu schnellwachsenden Fischen) durch spezifische Fragen berücksichtigt sind, der aber trotzdem noch allgemeingültig sein soll. Sinnvoller wäre es, Fragen allgemeiner Art von solchen zu trennen, die für die jeweiligen Organismenklassen spezifisch sind.

Form des Antrages

Die Arbeitsgruppen für Mikroorganismen und Pflanzen waren der Meinung, daß ein Antrag auf Freisetzung nicht ausschließlich als Formblatt verfaßt werden sollte, insbesondere der Aufbau des genetischen Konstrukts sollte in zusammenhängender Form beschrieben werden, wobei auf Sachverhalte (wie z. B. das Fehlen von Sequenzdaten etc.) eingegangen werden kann, die eventuell Probleme bei der Beurteilung ergeben könnten. Der Sachverhalt sollte darin in einer Art dargestellt werden, wie dies auch bei Anträgen für Forschungsfonds etc. üblich ist. Dabei sind die im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 genannten Punkte inhaltlich zu erfüllen, soweit sie für den jeweiligen Organismus in irgendeiner Weise zutreffen. Die

Arbeitsgruppe für Tiere neigte dazu, klar definierte Fragen an den Antragsteller zu richten, um die Materie in einer Form zu präsentieren, die es auch Nichtfachleuten erlaubt, die sicherheitsrelevanten Sachverhalte beurteilen zu können. Hier spiegelt sich auch die unterschiedliche Auffassung über die Zusammensetzung des Gremiums wider, das die Beurteilungen vornehmen soll. Während die Arbeitsgruppen für Mikroorganismen und Pflanzen die ausgewiesene Fachkompetenz aller Mitglieder eines solchen Gremiums für unabdingbar halten, sieht die Arbeitsgruppe für Tiere Vorteile in einer Einbeziehung von Nichtfachleuten.

Rückgriff auf vorhandene Daten

So weit wie möglich ist auf vorhandene publizierte Daten und allgemeine Informationen über den Spender- und Empfängerorganismus und verwendete genetische Elemente zurückzugreifen, um die sicherheitsrelevanten neuen Sachverhalte des jeweiligen Projekts hervorzuheben und den Antrag nicht unnötig lang und unübersichtlich werden zu lassen.

Vergleiche mit Nicht-GVO

Bei der Beurteilung von Freisetzungen sind auch Vergleiche mit nicht gentechnisch veränderten Organismen anzustellen, die ähnliche Eigenschaften besitzen wie der zu beurteilende GVO, um das unterschiedliche Risikopotential abschätzen zu können. Dieses Risikopotential kann größer, aber auch geringer sein. Hier sind die Risiken gegeneinander abzuwägen.

Anbindung an andere Verfahren

Eine stärkere Anbindung an andere, für den Organismus notwendige Genehmigungsprozeduren wäre vorteilhaft (Impfstoffe, Lebensmittel, Saatgut, Zuchttiere etc.), um Doppelgleisigkeiten und Inkonsistenzen zu vermeiden. Dies bringt allerdings mit sich, daß die Unterscheidung zwischen reiner Risikoabschätzung und dem Abwägen der möglichen Vor- und Nachteile aus der Anwendung schwieriger wird. Eine solche Anbindung könnte zum Beispiel im Rahmen der Sortenprüfung für Pflanzen erfolgen, wobei diejenigen Fragestellungen, die für beide Verfahren gleich sind, in einem beantwortet werden könnten, andere, etwa die Prüfung bestimmter Umweltauswirkungen, müßten weiterhin gesondert durchgeführt werden.

Berücksichtigung regionaler ökologischer Besonderheiten

Auf die speziellen ökologischen Gegebenheiten des Freisetzungsortes ist Rücksicht zu nehmen. Insbesondere für Fragen des Inverkehrbringens sind, wenn notwendig, regionale Besonderheiten zu berücksichtigen (möglichst in Absprache mit anderen Ländern mit ähnlichen ökologischen Gegebenheiten).

Verhältnis zur internationalen Praxis

Da trotz unterschiedlicher Richtlinien in verschiedenen Ländern im wesentlichen vergleichbare Informationen verlangt werden, sollten internationale Erfahrungen bei der Beurteilung ähnlicher transgener Organismen berücksichtigt werden. Trotzdem ist damit zu rechnen, daß auch von der internationalen Praxis abweichende Beurteilungen ergehen werden, insbesondere dann, wenn die bisherige österreichische Genehmigungspraxis für vergleichbare (nicht transgene) Organismen von der in anderen Ländern abweicht.

Einbeziehung von Ökologen

Ökologische Fragen sind bei der Beurteilung mitentscheidend. Die Mitarbeit von Wissenschaftlern mit ausgewiesener ökologischer Fachkompetenz ist daher unverzichtbar. Die Verbindung von Ökologie und Molekularbiologie ist bereits bei der Ausbildung zu fördern. Beiträge zur "Sicherheitsforschung" müssen aus verschiedenen Disziplinen kommen, insbesondere auch aus der Ökologie. Fachgebiete wie die mikrobielle Ökologie und die Ökogenetik, aber auch die Populationsbiologie und die genauere Untersuchung heimischer Ökosysteme sind verstärkt zu fördern. Wichtig wäre eine verbesserte Gesprächsbasis zwischen

Molekularbiologie und "klassischer" Biologie, um das wechselseitige Verständnis zu fördern. Nur so können die Informationen gewonnen werden, die vom Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 für eine Freisetzung gefordert werden.

Aufgaben des Beurteilungsgremiums

Risikobeurteilungen sollten nach Meinung der Arbeitsgruppen für Mikroorganismen und Pflanzen von einem wissenschaftlichen Ausschuß durchgeführt werden, dem Wissenschaftler aus verschiedenen naturwissenschaftlichen Disziplinen angehören und der Einzelfälle behandelt, aber keine weitergehenden Beurteilungen vornimmt. Die Arbeitsgruppe für Tiere meinte dagegen, daß zur Risikoabschätzung auch fachfremde Wissenschaftler und Vertreter gesellschaftlicher Gruppen, wenn sie Freisetzungen nicht grundsätzlich ablehnen, hinzugezogen werden sollten.

3 MONITORING

Die Behandlung der Beispiele in den Arbeitsgruppen hat gezeigt, daß für eine Risikoabschätzung vor der Freisetzung bestimmte Informationen notwendig sind, die aber offensichtlich nicht aus experimentellen Daten über das Verhalten des betreffenden gentechnisch veränderten Organismus im Freiland stammen können. Relevante Informationen sind dagegen aus Experimenten mit (genetisch veränderten oder "herkömmlichen") Organismen zu erwarten, die in bezug auf bestimmte Eigenschaften mit dem zu beurteilenden GVO vergleichbar sind. Die Organismen müssen hierzu über längere Zeit im Freiland wissenschaftlich beobachtet werden. Solche Untersuchungen werden "Monitoring" genannt.

Der Begriff "Monitoring" wird im folgenden weiterverwendet, weil sich keine passende deutsche Übersetzung des Begriffes anbietet, die den Aspekt der Überwachung mit dem des Informationsgewinns verbinden würde. Einerseits werden diese Maßnahmen durchgeführt, um ein unvorhergesehenes Verhalten eines freigesetzten GVO erkennen und einschätzen zu können und möglicherweise dessen Auswirkungen zu bekämpfen. Gleichzeitig werden Informationen über das Verhalten eines GVO gewonnen, die u. a. die zukünftige Beurteilung anderer erleichtern können. Um diese Aufgaben erfüllen zu können, ist es notwendig, sorgfältig geplante Beobachtungen im Verlauf einer jeden Freisetzung vorzusehen. Eine Reihe von verschiedenen Techniken ist verfügbar, um freigesetzte Organismen und eingebrachte Gene am Ort des Versuchs zu identifizieren und ihre Ausbreitung zu verfolgen.

Für die Risikobeurteilung ist es wesentlich, wieviel Information zur Verfügung steht. Wie die Beispiele "Clavibacter" und "Kartoffel/Cecropin" gezeigt haben, wäre ein wesentlicher Grund für die Ablehnung dieser Anträge zum gegenwärtigen Zeitpunkt ein Mangel an Information über sicherheitsrelevante Eigenschaften des GVO. Nicht die erwiesene Gefährlichkeit wurde als unakzeptabel eingeschätzt, sondern die mangelnde Kenntnis darüber, ob eine Gefährdung vorliegen könnte. Für die Risikobeurteilung ist es darüberhinaus von grundlegender Bedeutung, ob der GVO im Freiland überwacht werden kann und inwieweit eine Kontrolle möglich ist. Dies gilt insbesondere für eine Ausweitung des Maßstabes einer Freisetzung. Auch die "Group of National Experts" der OECD sieht im Ausmaß der Überwachungsmöglichkeiten ein wesentliches Kriterium für die Risikobeurteilung bei Freisetzungen (OECD, 1992b, 1992e). Nur durch umfassende Auswertung von Versuchen im kleinen Maßstab können in ausreichendem Maße Daten gewonnen werden, die für die Risikobeurteilung relevant sind, um Versuche im Großmaßstab vertretbar erscheinen zu lassen.

Ausgehend von einem Beschluß der "Group of National Experts" (GNE) der OECD im Jahre 1988, Prinzipien für Freisetzungsversuche im kleinen Maßstab zu entwickeln, wurden auch Überwachungsmaßnahmen diskutiert. Sie sind in allgemeiner Form Bestandteil der "Good Developmental Principles" (GDP), enthalten in den "Safety Considerations for Biotechnology" (OECD, 1992a). Die Angabe von Überwachungsmaßnahmen wird bei Freisetzungsanträgen in fast allen Ländern gefordert.

Die EG-Richtlinie 90/220 verlangt ebenfalls Angaben über das geplante Monitoring bei Freisetzungen. Folgende Informationen müssen nach Anhang II bei der Risikoabschätzung angegeben werden:

- *Methoden zur Identifizierung der GVO und zur Bestimmung ihrer Auswirkungen;*
- *Spezifität, Sensitivität und Verlässlichkeit der angewandten Überwachungstechniken;*
- *Techniken zur Identifizierung von Gentransfer auf andere Organismen;*
- *Dauer und Häufigkeit des Monitoring.*

3.1 ZWECK DES MONITORING

Monitoring dient drei grundsätzlich verschiedenen Zwecken, nämlich

- *der Gewinnung von Daten über das "Verhalten" von Organismen bzw. der eingebrachten genetischen Information in der Umwelt;*
- *der Überprüfung der im Versuch vorgesehenen Begrenzungsmaßnahmen;*
- *gegebenenfalls der Überprüfung, ob nach Beendigung des Versuchs der GVO weitgehend (oder vollständig) aus der Umwelt entfernt wurde.*

Die Datengewinnung über das Verhalten des Organismus ist eine im wesentlichen wissenschaftliche Aufgabe. Dabei werden bestimmte Fragen gestellt, die mit Hilfe von dafür geeigneten Methoden beantwortet werden sollen. Es ist dabei darauf zu achten, daß die Fragestellung so gewählt wird, daß die zur Auswahl stehenden Methoden auch geeignet sind, diese zu beantworten. Desgleichen muß das Experiment so ausgelegt sein (in bezug auf die Anzahl der Individuen, die Frequenz der Überwachung, die Detektionsgenauigkeit etc.), daß die Beantwortung dieser Fragen prinzipiell möglich ist.

Hierbei können sich durchaus Konflikte zur zweiten und dritten Aufgabe ergeben, nämlich der Sicherstellung von Begrenzungs- und Beseitigungsmaßnahmen. So wäre es denkbar, daß zur (statistisch signifikanten) Beantwortung einer Frage über das Verhalten eines Organismus eine größere Anzahl von Individuen vonnöten ist, als für die einfache und sichere Überwachung oder Beseitigung nach Versuchsende günstig wäre. Hierbei ist also eine Abwägung zu treffen zwischen der Chance für eine klare Beantwortung einer wissenschaftlichen Frage und der größtmöglichen Sicherheit. Allerdings ist jeder Versuch sinnlos (und nicht wert, dafür ein Risiko einzugehen), der eine Frage eben nicht sicher beantworten kann. In der Praxis wird man auf Kompromisse angewiesen sein.

3.2 ALLGEMEINE PRINZIPIEN FÜR DAS MONITORING

Die OECD stellt folgende Forderungen an ein gutes Monitoring (OECD, 1992a):

- Sowohl "ökologische" wie auch "genetische" Methoden sind für ein effizientes Monitoring notwendig.
- Wenn genetische Marker benötigt werden, sollten die billigsten und/oder am leichtesten erhältlichen ausgewählt werden, sodaß die Experimente in genügend großem Maßstab durchgeführt werden können, um eine gute statistische Auswertung zu ermöglichen.
- Allgemein ist vom Fall-zu-Fall-Prinzip auszugehen, um die Methodik den spezifischen Anforderungen anzupassen.
- Es kann nicht von vornherein angenommen werden, daß
 - die Expression eines Gens unter Feldbedingungen gleich bleibt,
 - die genetischen Konstrukte Mendel'schen Vererbungsgängen folgen,
 - das Gen immer nur in einer Kopie pro Organismus vorliegt oder
 - immer in der ursprünglichen Form exprimiert wird.

3.2.1 Experimentelle Planung

Das Monitoring sollte im Rahmen des sogenannten "Good Experimental Design" geplant sein (OECD, 1992b, 1992e):

- Die Absichten für das Monitoring sind klar und eindeutig zu formulieren.
- Der Versuchsplan sollte die statistische Analyse der Daten ermöglichen.
- Eine ausreichende Nachweisempfindlichkeit muß gewährleistet sein.

3.2.2 Qualitätskriterien für Monitoringtechniken

Folgende Eigenschaften sind von Bedeutung, um die Praktikabilität verschiedener Monitoring-techniken abzuschätzen:

- Verlässlichkeit
- Wiederholbarkeit
- Durchführbarkeit
- Sensitivität
- spezielle Anforderungen
- Zeitbedarf und
- Kosten.

Die Auswahl und das Ausmaß geeigneter Monitoringmethoden hängen ab von

- der Absicht des Versuchs
- der Höhe des mit einer Freisetzung verbundenen Risikos
- dem Ausmaß des Versuchs
- der Verfügbarkeit geeigneter Methoden; weiters davon
- ob Information in qualitativer oder in quantitativer Weise (statistische Auswertung!) erhalten und
- ob zellspezifische, phänotypische oder genetische Merkmale untersucht werden sollen.

3.3 MONITORING VON MIKROORGANISMEN

Die wichtigsten Einflußgrößen für das erfolgreiche Monitoring von Mikroorganismen sind (OECD, 1992b):

- die Qualität der Extraktionsmethoden für Proben aus der Umwelt, insbes. von Bodenproben
- die Verfügbarkeit von geeigneten Kulturmedien
- die Sensitivität des Nachweises
- die Anwendbarkeit von *in situ*-Methoden zur Identifizierung und Lokalisierung von Mikroorganismen und zur Ermittlung ihrer Diversität und Aktivität
- die Möglichkeit zur Überwachung eventueller schädlicher Auswirkungen auf die natürliche Population

- die Möglichkeit, Gentransfer zu erkennen und seine Häufigkeit zu bestimmen
- die Verfügbarkeit von Markergenen.

Das Hauptkriterium zur Ermittlung möglicher schädlicher Wirkungen durch neu eingebrachte Mikroorganismen scheint allerdings ein besseres Verständnis der mikrobiellen Ökologie zu sein, deren Erforschung erst am Anfang steht. Dies gilt genauso für die Risikoabschätzung von Mikroorganismen im Boden. Schlüsselparameter hierfür sind (STRAUSS et al., 1985; SMIT et al., 1992):

- Die Überlebensrate des Inokulums
- Wettbewerb mit anderen Mikroorganismen in derselben ökologischen Nische
- Gentransfer auf andere Mikroorganismen
- räumliche Verbreitung.

Als allgemeine Regel gilt, daß der GVO gegenüber dem Wildtyporganismus keinen Überlebensvorteil haben und die Gentransferrate möglichst niedrig sein sollte. Dies hat entscheidenden Einfluß auf die Wahl der Monitoring-Strategie, insbesondere auf die Wahl eines eventuellen Markergens.

3.3.1 Methoden

Einsatzmöglichkeiten sowie Vor- und Nachteile verschiedener Methoden seien im folgenden kurz dargestellt.

3.3.1.1 Plattierung

Diese Technik wird bei den meisten Freisetzungsversuchen für die Detektion von Mikroorganismen eingesetzt. Sie zeichnet sich im allgemeinen durch niedrige Kosten, gute Etablierung und breit gestreute, jedoch nicht universelle Anwendbarkeit aus. Eine natürliche Grenze liegt in der Tatsache, daß nicht für alle Mikroorganismen geeignete Bedingungen bekannt sind, um sie auf Platten kultivieren zu können; auch innerhalb einer Spezies ist dies nur bei einem Teil der Organismen möglich. Unter Umständen können auch Dauerformen von Mikroorganismen nicht erfaßt werden, die sich vor allem unter Streßbedingungen bilden. Zusätzlich kann ein hoher Hintergrund an Wildformen die Quantifizierung unmöglich machen.

Die Kombination von Plattierungstechniken mit anderen Methoden erhöht die Sensitivität und die Spezifität. Selektive Plattierung kann sich entweder natürlicher oder künstlich eingefügter Marker bedienen, wie etwa verschiedener Resistenzen, Schwermetalltoleranz, der Fähigkeit zur Verwertung neuer Substrate oder der Konversion von Substraten zu färbigen Verbindungen und der Emission von Licht. Sekundäre Detektionsmethoden umfassen immunologische Techniken und die Hybridisierung von Nukleinsäuren. "Most Probable Number"-Techniken machen sich die Fähigkeit der Mikroorganismen zunutze, in künstlichen Medien zu wachsen oder eine meßbare Veränderung zu produzieren.

Weitere Eigenschaften:

Sensitivität:

Bei der Verwendung von Selektionsmarkern für Mikroorganismen aus Boden, Wasser o. ä. kann eine Nachweisempfindlichkeit von bis zu 1 bis 20 CFU (Colony Forming Units)/g Probe erreicht werden.

Zuverlässigkeit:

Vorausgesetzt, die Organismen können gut genug extrahiert werden und sind kultivierbar, ist die Methodik extrem genau und verlässlich.

Kosten:

Sie sind meist niedrig, können allerdings bei Verwendung teurer Substrate oder Anwendung sekundärer Identifizierungsverfahren erheblich steigen.

Anwendung:

Universell

Reproduzierbarkeit:

Diese hängt von den untersuchten Organismen und dem Ort der Probenahme ab.

Spezifität:

Sie hängt in erster Linie vom verwendeten Marker ab.

Praktikabilität:

Eine normale Laborausstattung reicht aus.

Extraktion:

Die Extraktion ist limitierend für alle Kultivierungstechniken und andere Identifikationsverfahren. Die Grenzen für die quantitative Auswertung hängen von der Effizienz der Extraktion ab, da eine homogene Suspension einzelner Zellen notwendig ist. Schwierigkeiten ergeben sich unter Umständen aus dem Vorhandensein von organischem Material, das die Selektivität eines Mediums beeinträchtigt, oder bei Neigung der Mikroorganismen zu Klumpen. Mikrobielle Kontaminationen können das Wachstum der untersuchten Organismen beeinträchtigen oder verhindern.

3.3.1.2 Mikroskopie

Diese eignet sich für die Auszählung und spezifische Detektion im sichtbaren Licht oder mit Hilfe von Fluoreszenz im UV-Licht. Färbungstechniken erlauben die Unterscheidung zwischen lebenden und toten Zellen. Immunfluoreszenz und andere Spezialtechniken ermöglichen genauere Bestimmungen.

Sensitivität:

Spezifische Proben lassen eindeutige Unterscheidungen zu.

Zuverlässigkeit:

Abhängig vom Experiment.

Kosten:

Hohe Anschaffungskosten, zeitaufwendig.

Reproduzierbarkeit:

Stark vom Anwender abhängig, da Übung erforderlich ist.

Spezifität:

In Verbindung mit anderen Methoden hoch.

Extraktion:

Erschwert durch kontaminierendes Material, dieses gibt aber Aufschluß über Habitat und Verteilung.

Praktikabilität:

Nur für eine kleine Zahl von Proben anwendbar und außerdem auf Organismen begrenzt, die in großer Menge vorhanden sind.

Grenzen:

Hauptprobleme sind die Probenaufbereitung und Kontaminationen, die häufig zu falsch positiven Ergebnissen führen.

3.3.1.3 Markergene

Eine Vielzahl von Markergenen ist verfügbar, um sie in rekombinante Organismen einzufügen. Sie erlauben die spezifische Identifizierung über Plattierungstechniken oder über die Verwendung von Nukleinsäureproben. Die Auswahl der Marker ist stark von der Umgebung des Versuchs abhängig. Das Einfügen von Resistenzgenen, insbesondere für Antibiotika, war in der Vergangenheit üblich, sollte allerdings so weit wie möglich vermieden werden, um derartige Resistenzen nicht unnötig zu verbreiten (die stärkste Verbreitung finden diese allerdings durch den übermäßigen medizinischen Einsatz von Antibiotika). Auch die Selektion über eine eingeführte erhöhte Schwermetalltoleranz kann zu unerwünschten Effekten führen. Daneben sind klassische Stoffwechsel-Marker (Defizienzen oder Fähigkeiten zur Nutzung bestimmter Substrate) und Farb- oder Lumineszenzgene bekannt. Letztere erlauben die einfache Detektion über die Messung von Licht und gewinnen an Bedeutung, eignen sich aber nicht für die Anreicherung, da sie keinen Selektionsvorteil vermitteln. Es besteht ein großer Bedarf an neuen geeigneten Markern, die sensitiv und leicht erkennbar sein müssen, dabei aber in der natürlichen Umwelt möglichst wenig Auswirkungen haben sollen.

3.3.1.4 Nukleinsäure-Techniken

Die Hybridisierung von genetischem Material mit einer Probe spezifischer Sequenz und die Methodik der zyklischen Vermehrung von Nukleinsäureabschnitten *in vitro* mit Hilfe sequenzspezifischer Primer (die sogenannte Polymerase Chain Reaction, PCR) gewährleisten den hoch spezifischen und empfindlichen Nachweis einzelner Gene. Mit diesen Methoden kann auch der Gentransfer verfolgt werden, nahezu unabhängig vom Organismus, in dem sich das Gen befindet. Hybridisierungstechniken sind allerdings relativ zeitaufwendig. Bei der Anwendung von PCR-Methoden ergibt sich häufig das Problem mangelnder Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit, vor allem bei Probenaufbereitungen aus dem Boden. Die Schwierigkeit, geeignete Extraktionsbedingungen für verschiedene Bodentypen zu finden, macht derzeit eine der Limitierungen dieser Methode aus. Außerdem ist die genaue Quantifizierung des ursprünglich vorhandenen Materials ein bisher ungelöstes Problem.

3.3.1.5 Bewertung von Monitoring-Methoden für Mikroorganismen (nach Drahos, 1991)

In der folgenden Tabelle sind einige Monitoringstrategien (Markergene und andere Methoden), ihre Eigenschaften, möglichen Nachteile und Einsatzmöglichkeiten exemplarisch aufgelistet.

Monitoring Strategie	Eigenschaften	Nachteile	Verwendung bei Freisetzungen
Metabolische Gene			
<i>ice</i>	sensitiv, schnell, direkte Detektierbarkeit	Hoher Hintergrund, nicht selektiv	Kontrolle der Schädigung durch Frost
<i>lacZY</i>	sehr sensitiv, selektierbar, visuelle Detektion, Vektoren für chromosomale Integration vorhanden	Rekultivierung auf definierten Medien nötig, für hohe Sensitivität zweiter Marker nötig	Monitoringstudien, Kontrolle von Schäden durch Pilze
<i>xylE</i>	visuell mit Farbstoffen, ergänzt mit anderen Methoden	nicht selektiv, niedrige Sensitivität	Studien von Mikrokosmen in Seewasser
<i>lux</i>	In situ Analyse, schnelle und direkte Detektion, Genkassetten vorhanden	nicht selektiv, benötigt hohen Apparateaufwand für hohe Sensitivität	Expression und Monitoring von Bodenmikroorganismen
<i>uidA</i>	In situ Analyse; visuelle Detektion mit Farbstoffen, für Bakterien und Pilze	nicht selektiv, Farbstoff muß membran-durchlässig sein	Bakterienauszählung, Pflanzen-Gen-Expression
andere Methoden			
Antibiotika-Resistenzen	schnell, sensitiv, niedrige Kosten, leichte Handhabung	hoher Hintergrund, negative Effekte auf den Wirt, häufig instabil	R. meliloti B. japonicum
Direkte Elektronenmikroskopie	Bestimmung der Gesamt-Mikrobenzahl	hohe Kosten, spezielle Handhabung, nicht praktikabel für Large Scale	Bakterien- und Viren-Auszählung, mikrobielle Gemeinschaften
Antikörper-Proben mit Fluoreszenz	spezifisch, direkte Detektion, in Kombination mit anderen Methoden	hoher Hintergrund, Unterscheidung Wildtyp/GVO schwierig	Studien über nicht-kultivierbare aquatische Organismen
Hybridisierungsmethoden	spezifisch, vielfältig, direkte Detektion auch spezifischer Gruppen, detektiert Gene, keine Produkte	hoher Hintergrund, niedrige Sensitivität, Probleme mit der Lyse gleichartiger Zellen	Populations-Studien mit Boden-Mikroorganismen
PCR-Analyse	sehr sensitiv, direkte Detektion von Genen, nicht Produkten, mäßig teuer	falsch positive Resultate, Quantifizierung schwierig	Detektion aquatischer Bakterien

3.3.2 Beispiele

Anhand einiger Beispiele von Methoden (aus OECD, 1992e) soll erläutert werden, wie das Monitoring in der Praxis ablaufen kann.

Gene, die die Fähigkeit zur Lumineszenz verleihen:

Die Detektion von Bakterien im Boden und in flüssigen Kulturmedien wird durch derartige Gene ermöglicht. Plattierungstechniken wurden mit der Detektion über Röntgenfilm, dem Sichtbarmachen einzelner Kolonien durch "Photon-Imaging" und der Photonenanzählung auf ihre Eignung für das Monitoring verglichen. Detektiert werden können nur aktive Organismen. Vorteilhaft sind die Spezifität, die Möglichkeit des direkten Nachweises ohne vorherige Extraktion und die Schnelligkeit der Detektion. Nachteile der Plattierungstechniken liegen darin, daß geeignete Kultivierungstechniken und Selektionsmedien nur für gewisse Organismen vorhanden sind. Beim direkten Sichtbarmachen durch die Belichtung von Filmen ist eine hohe Zelldichte pro Gramm Boden notwendig. Die Photonenanzählung benötigt eine teure Ausrüstung.

Quecksilberresistenz:

Wasser- und Bodenbakterien wurden mit dem entsprechenden Resistenzgen transformiert. Durch Plattieren auf Medien, die Quecksilber-Chlorid enthielten, wurden die resistenten Stämme identifiziert. Der Hintergrund an resistenten Stämmen ist niedrig, die Methode billig und breit anwendbar. Quecksilber-Verbindungen sind allerdings giftig.

2,4-D (Dichlorophenoxyessigsäure) als ausschließliche Kohlenstoffquelle:

Mit dieser Methode wurde die Überlebensrate von *Pseudomonas cepacia* nach der Freisetzung im Boden ermittelt. In Kombination mit anderen Techniken (PCR zur Erfassung nicht kultivierbarer Organismen) erweist sie sich als gut und sicher. Falsch-positive Ergebnisse können durch Einfügen mehrerer Markergene ausgeschlossen werden. Zur Verbesserung kann das System mit einer Abtötungsfunktion zur Beseitigung des Organismus bei unerwünschten Effekten gekoppelt werden. Allerdings müssen die Insertionen stabil ins Genom eingefügt sein.

Kombination von Markergenen:

Pseudomonas aureofaciens SBW25, isoliert aus Zuckerrüben, kommt auf Blättern und in der Rhizosphäre vor. Die natürliche Population kann auf *Pseudomonas*-Selektionsagar isoliert werden. Es wurden zwei Markergene, das Lac-Operon von *E. coli* und das Kanamycin-Resistenzgen in einem Abstand von mindestens 1000 kb zueinander in das Genom eingefügt. Dadurch sollte gewährleistet werden, daß die gleichzeitige Übertragung beider Gene ausgeschlossen werden kann. Zur Identifizierung wurde auf die Eigenschaften der beiden eingefügten Markergene auf Platten selektiert oder die Identität der Isolate genotypisch charakterisiert. Das Einfügen der Kanamycinresistenz in bodenbesiedelnde Mikroorganismen wird als wenig riskant angesehen, da diese Eigenschaft weit verbreitet ist. Die Fähigkeit zur Laktoseverwertung ist atypisch für *Pseudomonaden* und erlaubt daher die eindeutige Identifizierung. Die Plattierung läßt eine quantitative Auswertung (kultivierbarer) Stämme in einfacher Weise zu.

Monitoring eines Ribonukleoproteins:

Für das Monitoring von *Clavibacter xyli* var. *cynodontis* wurde ein Ribonukleoprotein aus einem Protein mit einer Größe von 4,5 kDa und einer Satelliten-RNA herangezogen. Dieses Partikel kann nur bei Koinokulation von Pflanzen mit einem Helfervirus repliziert werden. Die inokulierten Pflanzen wurden auf Krankheitssymptome untersucht. Virionen wurden aus Blättern isoliert, die RNA extrahiert, in cDNA revers transkribiert, kloniert und durch Hybridisierung nachgewiesen.

Antibiotika-Resistenzen:

Antibiotikaresistente Stämme (mit Resistenzen gegen Rifampicin und Streptomycin oder Streptomycin und Spectinomycin) von *Clavibacter xyli* var. *cynodontis* mit dem Gen für das insektizide Protein von *Bacillus thuringiensis kurstakii* (toxisch für den Europäischen Kornbohrer, siehe Beispiel "Clavibacter" in Kap. 2) wurden isoliert. Die Versuchsfelder bestanden aus einem zentralen Getreideanbauareal, einer freien Zone und einer "Fallen"-Zone, in der Getreide und Bermudagrass (Wirtspflanze für *Clavibacter xyli*) gepflanzt wurden. Schadpflanzen, die durch das Bakterium besiedelt werden können und die in näherer Umgebung zum Versuchsgelände gepflanzt worden waren, wurden auf Besiedelung durch das Bakterium untersucht. Halbquantitative Aussagen wurden durch Mikroskopie von Pflanzenresten, genauere Angaben aus Plättierungsverfahren erhalten, in denen spontan auftretende Antibiotikaresistenzen für die Selektion verwendet wurden. Mit einem immunologischen Test wurden andere coryneforme Bakterien eindeutig unterschieden.

3.3.3 Zukünftige Aufgaben

Als ein Ergebnis des OECD-Workshops in Ottawa (OECD, 1992e) wurden folgende Aufgaben für das Monitoring (vor allem von Mikroorganismen) genannt, denen in Zukunft größere Beachtung zu schenken sein wird:

- Der *Strategieplanung* muß in Zukunft mehr Bedeutung beigemessen werden, dies ist vor allem bei Versuchen im großen Maßstab entscheidend.
- Die bisher angewandten Methoden sind Labormethoden und müssen erst auf ihre *Anwendbarkeit im Feld* hin überprüft und weiterentwickelt werden. Vor allem die mangelnde Sensitivität ist ein Problem.
- Die *Extraktionsmethoden* aus der Erde sind entscheidend für den Nachweis von Bodenmikroorganismen, hier ist noch viel Arbeit zu leisten. Ausreichende Sensitivität und Ausbeute müssen in vertretbarer Zeit zu akzeptablen Kosten möglich werden. Ein noch größeres Problem stellt der Nachweis von Pilzen dar.
- Schwierigkeiten bei der *Quantifizierung* ergeben sich schon in der Definitionsfrage. Sind nur die lebenden Organismen zu zählen oder auch die toten, ist die Aktivität zu messen oder sollte nur die vorhandene DNA quantifiziert werden ("nackte" DNA könnte ja auch durch Gentransfer bei geeigneten Bedingungen weitergegeben werden) oder ist die Überlebensfähigkeit des Organismus entscheidend?
- Für Mikroorganismen scheint derzeit der Nachweis durch *Selektionsmarker*, meist Antibiotika- oder Schwermetallresistenzen, noch die besten Ergebnisse zu liefern. Allerdings können nur die wenigsten Stämme kultiviert werden, wenn doch, so wächst auch nur ein Teil der Population unter den veränderten Bedingungen.
- Völlig offen ist die Frage nach relevanten *Grenzwerten* und einer "*sicheren Nachweisgrenze*".
- Im Falle eines *langfristigen* Monitoring ist die *Beibehaltung der angewandten Methodik* sehr zu empfehlen, soweit dies möglich ist.
- Die Erfahrungen aus dem *Modell der "exotic species"*, soweit auf die Freisetzung von transgenen Organismen übertragbar, sind bislang noch zu wenig in die Betrachtungsweise einbezogen worden.

In letzter Zeit wurde einige Kritik an der bisherigen Vorgangsweise bei Freisetzungsexperimenten von Pflanzen laut. So wurde bemängelt, daß die GVO sofort nach Versuchsende möglichst restlos beseitigt wurden, auch wenn sie sich bis dahin als ungefährlich erwiesen haben, ohne daß die Möglichkeit ins Auge gefaßt wurde, langfristige Beobachtungen an diesen Pflanzen durchzuführen. Desgleichen wurde das USDA kritisiert, die bisher durchgeführten Freisetzungsexperimente mit Nutzpflanzen nicht optimal ausgewertet zu haben, so daß ökologische Fragen, die ohne großen zusätzlichen Aufwand hätten beantwortet werden können, nicht untersucht wurden (WRUBEL et al., 1992). Solche Kritik sollte bei der Planung eines Freisetzungsexperiments berücksichtigt werden, indem zu fragen wäre, welche allgemeinen Aussagen sich aus der (möglichst längerfristigen) Beobachtung der GVO getroffen werden könnten, ohne daß ein unvertretbarer zusätzlicher Aufwand nötig wäre.

3.4 MONITORING VON VIRALEN IMPFSTOFFEN FÜR DIE IMMUNISIERUNG VON WILDTIEREN

Die Risikobeurteilung von genetisch veränderten viralen Impfstoffen (siehe das Beispiel "Rabies-Vaccine auf Vaccinia-Basis" in Kap. 2) wird zuweilen unter die Problematik der Freisetzung transgener Tiere gereiht, weil ein wesentlicher Teil der Beurteilung von veterinärmedizinischer Fachkenntnis abhängt. Außerdem läßt sich argumentieren, daß Viren keine Mikroorganismen sind. Trotzdem soll hier kurz auf einige Probleme des Monitoring viraler Impfstoffe eingegangen werden.

Vor einer Freisetzung von transgenen viralen Impfstoffen sind der OECD zufolge (OECD, 1992b) zunächst dieselben *Ausgangsuntersuchungen* notwendig wie für nicht genetisch veränderte virale Impfstoffe. Hierzu gehören

- die Charakterisierung des Ausgangsvirus;
- der Test der Vakzine auf Reinheit, Konsistenz und genetische Stabilität *in vitro*;
- der Test der Vakzine in Laborversuchen im Zielorganismus auf Wirksamkeit, Pathogenität (Mortalität und Morbidität), Exkretion, latente Infektionen und genetische Stabilität;
- der Test in Laborversuchen auf die Effekte durch den Kontakt mit Nichtzielorganismen, auf Pathogenität, Exkretion, latente Infektionen und genetische Stabilität;
- die Sammlung von Informationen über das Gelände der Freisetzung;
- die Abschätzung der Möglichkeit, daß Menschen exponiert werden;
- die Zusammensetzung der Tierarten im Gebiet;
- die möglichen Köderkonsumenten;
- das Vorhandensein von Antikörpern gegen den Vektor und das Insert;
- das natürliche Vorkommen von Biomarkern.

Im Rahmen eines *Monitoring* sind Feldanwendungen des Virus zu untersuchen auf

- Wirksamkeit;
- virale Persistenz in Ziel- und Nichtzielorganismen;
- Ausbreitung des Virus;
- Vakzin-Mutanten und natürlich entstehende Rekombinationen;
- vakzinbezogene Morbidität und Mortalität;
- Speziesspezifität der Köder und Akzeptanz durch die Zielspezies;
- Köderaufnahme durch Nichtzielorganismen;
- Veränderungen des ökologischen Gleichgewichts.

3.4.1 Monitoring–Methoden für virale Impfstoffe

Folgende Methoden stehen für ein Monitoring verschiedener Parameter zur Verfügung:

- *Pathologische Veränderungen:* Morphopathologie exponierter Tiere (Pathologie, Histopathologie, Immunohistochemie, in situ–Hybridisierung mit Proben, die Virussequenzen nachweisen);
- *Vakzin–Detektion:* klassische Methoden der Virusisolation, Identifizierung mit immunologischen Methoden und Nukleinsäureanalysen;
- *genetische Stabilität:* Nukleinsäureanalyse, wenn nötig, biologische Überprüfung von isolierten Mutanten;
- *zielgerichtete Wirksamkeit:* Verwendung von Biomarkern, Serokonversionsraten etc.;
- *Ziel– und Nichtzielorganismen:* Zensusmethoden z. B. für die Bestimmung der jeweiligen Aufnahme der vakzinenthaltenden Köder durch die Zielorganismen und durch andere.

3.5 MONITORING VON PFLANZEN

Viele Nutzpflanzen werden seit Jahrhunderten angebaut, der Erfahrungsschatz ist sehr groß. Obwohl viele neue Sorten (mit "herkömmlichen" Techniken) in den letzten Jahren gezüchtet wurden, die zum Teil recht große Unterschiede von ihren Ausgangspflanzen aufwiesen, lassen sie sich doch miteinander vergleichen. Bevor eine neue Sorte aber für den kommerziellen Anbau zugelassen wird, muß sie genau geprüft werden. Diese Prüfungen im Rahmen einer Sortenzulassung und ähnliche Untersuchungen bieten viele Ansatzpunkte und Methoden, die sich auch für das Monitoring von transgenen Pflanzen anbieten. Deshalb sind Überwachungsmaßnahmen meist leicht auszuwählen und durchzuführen (OECD, 1992b, 1992c). Eine Unterteilung in zwei Kategorien wurde vorgeschlagen:

Direkte Monitoringtechniken sind solche, die morphologische Kriterien wie die Farbe und das Aussehen des Samens oder die Pflanzen– und Blütenmorphologie ausnutzen, auf physiologischen Eigenschaften wie die Resistenz gegen Krankheiten oder Herbivoren oder eine Herbizid–Toleranz aufbauen, biochemische Marker wie Sekundärmetabolite, Proteinprofile, Allozyme oder Antikörper verwenden oder auf molekularen Sequenzen der DNA basieren.

Indirekte Monitoring–Techniken beruhen darauf, daß einige Geninsertionen Veränderungen im Expressionsmuster von Proteinen bewirken, die auf die Nutzpflanze einen direkten oder indirekten Effekt haben können. Einen wichtigen Marker dieser Art stellt die Bestimmung der Zunahme an Biomasse als Maß für gesteigertes oder vermindertes Wachstum dar. Mit indirekten Methoden können auch Effekte auf Nichtzielorganismen ermittelt werden.

3.5.1 Untersuchungsparameter für das Monitoring

Gentransfer

Eines der wesentlichsten Probleme ist die Kontrolle des Gentransfers. Da nach dem derzeitigen Stand des Wissens horizontaler Gentransfer zwischen Pflanzen oder Pflanzen und anderen Organismen nicht eindeutig nachgewiesen werden kann (ausgenommen die Wechselwirkungen zwischen *Agrobacterium* und Pflanzen), ist davon auszugehen, daß dieser Weg, wenn überhaupt existent, sehr selten beschritten wird.

Weitaus bedeutender ist der vertikale Gentransfer von Eltern- zu Tochterpflanzen. Für dessen Beurteilung kommt es in erster Linie darauf an, mögliche Kreuzungspartner zu bestimmen. Dabei ist es wichtig, die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Gattung genau zu kennen, da Hybride zwischen verschiedenen Arten unter Umständen möglich sind. Da viele Nutzpflanzen von Wildpflanzen abstammen, die in Mitteleuropa nicht heimisch sind, kann es auch nicht zur Übertragung auf die ursprüngliche Wildform kommen, wohl aber auf kreuzbare Verwandte. Für Nutzpflanzen mit einheimischen kreuzbaren Verwandten müssen daher besondere Maßnahmen zur Vermeidung des Transfers, also des Auskreuzens getroffen werden.

Den Transfer von Genen unter kontrollierten Bedingungen quantitativ zu verfolgen, stellt meist kein großes Problem dar, anders ist dies aber für das Abschätzen der Häufigkeit derartiger Ereignisse bei Freisetzungen. Eine populationsgenetische Untersuchung kann indirekt erfolgen. Die Methoden hierfür setzen aber gewisse langfristige Eigenschaften der Populationen voraus, die nur für Wildsippen zutreffen; sie können deshalb für Kurzzeitexperimente mit Nutzpflanzen nicht angewandt werden. Wenn allerdings biologische Modelle wie zum Beispiel nahe verwandte Wildpflanzen existieren, sind Abschätzungen über die Häufigkeit des Gentransfers unter Umständen möglich.

Überdauerungsformen

Diese verbleiben nach Ende der Vegetationsperiode und lassen in der nächsten die neue Generation austreiben. Bei Freisetzungsversuchen muß darauf geachtet werden, daß Überdauerungsformen wie Knollen, Stöcke und Samen entfernt werden. Dies ist in vielen Fällen nicht einfach, weil diese Formen auch für Tiere attraktiv sein können und (manchmal über große Entfernungen) vertragen werden, bevor sie eingesammelt werden können. Auf diese Weise kann es zu einer unkontrollierten Verbreitung der Pflanze kommen.

Verwilderung

Die am wenigsten erwünschte Eigenschaft einer neuen Pflanze ist die Fähigkeit, sich unkontrollierbar zu vermehren bzw. einen unerwarteten Selektionsvorteil in einem bestimmten, dafür nicht vorgesehenen Ökosystem zu zeigen. Tritt dies auf, kann es zu einer Verwilderung kommen, die Pflanze gerät außer Kontrolle und wird schlimmstenfalls zu einem Unkraut. Dies ist mit einigen aus anderen Ländern eingeführten Pflanzen geschehen, die zum Teil erst nach langer Zeit diese Unkrauteigenschaften ausgeprägt haben oder deren diesbezügliches Potential erst spät, bei Veränderung der Umgebungsbedingungen, zum Tragen gekommen ist. Abschätzungen über die Möglichkeit des Verwilderns ist bis zu einem gewissen Maß dadurch möglich, daß Analogien zur Einführung von sogenannten "exotic species" (SUKOPP, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992) gebildet werden.

"Seltene Ereignisse"

Solche Vorgänge müssen unter die sogenannten "seltenen Ereignisse" gereiht werden und geben Anlaß zu besonderer Sorge und auch Kritik an Freisetzungen. Darunter werden Ereignisse verstanden, die zunächst bei Versuchen im kleinen Maßstab nicht in Erscheinung treten, weil ihre Häufigkeit zu gering ist. Werden große Individuenzahlen freigesetzt, steigt jedoch die Wahrscheinlichkeit. Unerwartete Ereignisse, die die Eigenschaften der transgenen Pflanze in erheblichem Ausmaß verändern, könnten aber unangenehme Folgen haben, schlimmstenfalls z. B. zur Verwilderung führen. Der Nachweis seltener Ereignisse ist aber, wenn überhaupt, erst bei Versuchen im großen Maßstab möglich, für eine Vorabbewertung ist man zunächst auf Analogiemodelle angewiesen.

3.5.2 Methoden

3 Hauptmethoden zur Kontrolle des Gentransfers lassen sich unterscheiden (OECD, 1992b):

Direkte Beobachtung von Individuen:

Mit sorgfältig geplanten, breit angelegten Maßnahmen nach Ende eines Freisetzungsvorgangs sollte das Testgelände nach dem Fruchtwechsel überwacht werden, ob restliche Pflanzen verblieben sind oder wieder austreiben. Die Probensammlung erfordert eine geschickte Strategie und gute experimentelle Planung. Die direkte Beobachtung von freigesetzten Testpflanzen hat natürlich ihre Grenzen, wenn die Wildpflanzen nur schwer von den Testpflanzen unterschieden werden können.

Biologisches Einfangen von Pollen:

Für begrenzte Feldversuche kommen zwei Klassen von Pflanzen als Pollen-"Fallen" in Frage:

- *Schutzpflanzen* ("guard plants"), die so beschaffen sind, daß sie den von den Pflanzen auf dem Testgelände verbreiteten Pollen aufnehmen können, sodaß dieser nicht darüber hinausgelangt;
- *Fallenpflanzen* ("trap plants"), die identisch mit den Leitpflanzen sein können, jedoch zusätzlich einen Nachweis des von den Testpflanzen verbreiteten Pollens ermöglichen.

Um den Pollen fixieren zu können, muß die Blütencharakteristik, vor allem die Blütezeit, von Versuchs- und Fallenpflanze aufeinander abgestimmt sein, vor allem dann, wenn die Bestäubung durch Insekten erfolgt. Fallenpflanzen mit erhöhter Nektarproduktion vergrößern die Wahrscheinlichkeit der Bestäubung. Wenn die Fallenpflanze weit vom Versuchsgelände entfernt ist, ermöglicht deren männliche Sterilität einen einfachen und effizienten Nachweis der Verbreitung des veränderten Genoms, denn jeder produzierte Samen muß durch Bestäubung mit dem Pollen der Testpflanze entstanden sein. Allerdings sind männlich sterile Pflanzen meist für bestäubende Insekten weniger attraktiv als pollenproduzierende und ergeben so ein falsches Bild von der Häufigkeit der Pollenübertragung. Die genetischen Eigenschaften der Fallenpflanzen müssen sich von denen der Versuchspflanzen natürlich morphologisch, physiologisch, biochemisch oder molekularbiologisch unterscheiden.

Physikalisches Auffangen von Pollen:

Dafür können klebrige Oberflächen und dergleichen verwendet werden. Dieser Ansatz ist am häufigsten bei einzelnen Freisetzungen, bei denen das Einfangen von anderen Pollen wenig wahrscheinlich ist. Meist reicht die mikroskopische Untersuchung des aufgefangenen Pollens für eine eindeutige Identifizierung.

3.5.3 Beispiele

Zur Veranschaulichung der Monitoring-Praxis seien hier einige Beispiele angeführt (OECD, 1992e):

Herbizidresistenz zur Messung von Pollenflug und Kreuzbefruchtung:

Brassica napus mit einem eingefügten Herbizidresistenzgen wurden in der Nähe von nicht transformierten Pflanzen ausgesetzt. In unterschiedlichen Abständen vom Versuchsort wurde Saatgut isoliert und auf die Resistenz hin geprüft, um die Verbreitung der Eigenschaft zu untersuchen und sicherzustellen, daß die Eigenschaft (in Form der transgenen Pflanze) nach Versuchsende wieder aus der Umwelt zu entfernen ist. Ein anderer Versuch verwendete die Toleranz gegenüber Glyphosphat (Roundup), um die Pollenausbreitung zu ermitteln. Wie bei allen eng begrenzten Feldversuchen im Kleinmaßstab können "seltene Ereignisse" natürlich nicht nachgewiesen werden.

Vergleichende Untersuchungen unter verschiedenen Klimabedingungen:

Männliche Sterilität, Ammoniumglyphosinat- und Kanamycin-Resistenz wurden in *Brassica napus* L. var. *oleifera* untersucht. Identische Linien wurden in Frankreich, Dänemark und Großbritannien in verschiedenen Ökosystemen kultiviert. In Belgien wurde auf offenem Feld geprüft. Umgebende Pflanzen waren Kartoffeln, Mais und anderes Getreide sowie verschiedene Schäd-pflanzen. Hauptabsichten des Monitoring war, die gleichbleibenden Eigenschaften der transgenen Pflanzen und die Pollenverbreitung zu untersuchen. Für die Identifizierung der Resistenzmarker wurden Suspensionen von Kanamycin und Glyphosinat auf die Blätter aufgebracht und auf nekrotische Wirkung untersucht. Die männliche Sterilität wurde morphologisch und histologisch überprüft. Um Kreuzungen zwischen Wildpflanzen und transgenen Pflanzen zu identifizieren, wurde das genetische Material untersucht.

Ähnliche Versuche wurden bereits auch mit Tabak, Kartoffel, Soja, Pappel, Karfiol, Zuckerrübe, Ölsaaten und Mais durchgeführt. Dabei wurden zur Markierung Gene für männliche Sterilität, Streßtoleranz, Antibiotika- und Herbizidresistenzen eingeführt.

3.5.4 Methodenkatalog für die Beurteilung des ökologischen Risikos genetisch veränderter Pflanzen

Je nach Fragestellung, aber auch nach der Art der Pflanze und dem jeweiligen Stadium im Vegetationszyklus stehen verschiedene Methoden des Monitoring zur Verfügung. Um die Übersicht über ein rasch expandierendes Gebiet zu erhalten und um dem jeweiligen Anwender (und auch der begutachtenden Behörde) ein Mittel zur Auswahl der richtigen Methode an die Hand zu geben, wurde von einigen staatlichen Umweltorganisationen in Dänemark ein Katalog herausgegeben, der mit Hilfe eines Registers und einer kurzen Bewertung jeder Methode diese Aufgabe erleichtern soll (Catalogue of Methods for Ecological Risk Assessment of Genetically Modified Plants, KJELLSON UND SIMONSEN, 1993). Hier werden verschiedene Monitoring-Methoden in einen konzeptuellen Zusammenhang für die Risikoabschätzung gebracht. Ziel ist es, die für Freisetzungsversuche geeigneten Methoden ausfindig zu machen, um das Überleben, das Wachstum, die Wettbewerbsfähigkeit, die Etablierung und die Verbreitung von Pflanzen abzuschätzen, also die richtigen Fragen mit dem angemessenen Werkzeug angehen zu können.

Überlegungen für eine geeignete Monitoring-Strategie sollten möglichst frühzeitig in den Planungsprozeß einfließen. Fünf Gruppen von Untersuchungen werden unterschieden:

- *Auspflanzung auf verschiedene Felder und Habitate*: Die relative Leistungsfähigkeit einer transgenen Pflanze läßt sich so am leichtesten bestimmen, diese Vorgangsweise stößt aber an Grenzen in bezug auf die Sicherheit des Experiments;
- *Glashaus-(Mesokosmos-)Versuche*: Die kontrollierte Simulation von Umweltbedingungen läßt auch Untersuchungen unter Streßfaktoren und Störungen zu, allerdings stoßen diese Möglichkeiten auf Grenzen der Simulierbarkeit;
- *Spezifische Tests für die veränderten Eigenschaften (übertragenen Gene)* im Labor oder Glashaus;
- *Untersuchung des Ökosystems* (das eigentliche Monitoring) auf mögliche Veränderungen der Vegetation durch die Pflanze über genetische Marker;
- *Referenztests*: Allgemeine Prozesse in einfachen Systemen (zwei bis drei Spezies), etwa Wettbewerb, Wachstum, Reproduktion.

3.5.4.1 Leitprinzipien für das Monitoring von Pflanzen

Dieser integrative dänische Ansatz führte zu Vorschlägen für folgende *Leitprinzipien*, die auch für die Beurteilung der in einem Antrag auf Freisetzung einer transgenen Pflanze vorgeschlagenen Monitoringpläne interessant sind und quasi eine Zusammenfassung der bisherigen Erfahrungen und Forderungen für ein sinnvolles Monitoring transgener Pflanzen darstellen:

- Eine *Liste der notwendigen Untersuchungsmethoden* sollte nach der Pflanze und der phänotypischen Expression des Gens geordnet werden;
- die *Hauptfaktoren für die Etablierung und das Überleben* einer Pflanze sollten (in Form einer Prioritätenliste) von vornherein festgestellt werden;
- die *relative Leistungsfähigkeit* einer transgenen Pflanze gegenüber der Ausgangspflanze (in verschiedenen Varietäten) sollte die Grundlage aller allgemeinen Untersuchungen bilden;
- für die Bestimmung eines erwarteten Unterschiedes zwischen transgener und Ausgangspflanze muß die *Probenzahl statistisch berechnet* werden;
- vorhandene Testmethoden im Labor, im Glashaus und im Feld sollten *funktionell kombiniert* werden;
- zur Prüfung von *Umweltschwankungen* sollten solche in Glashaus- und Feldtests durchgespielt werden;
- zur Überprüfung von *Langzeiteffekten* sind Samenbanken, Überleben des Saatguts, überdauernde Sämlinge, klonales Wachstum und Veränderungen in der Struktur der Pflanzengemeinschaft zu untersuchen;
- alle Testprogramme sollten zur Erhöhung der Allgemeingültigkeit sowohl Elemente von *populationsökologischen* als auch von *Gentransfer-Analysen* enthalten;
- obwohl niemals auf alle Probleme eingegangen werden kann, sollten die *vorhersehbaren* im Labor, Glashaus oder im kleinen Feldversuch untersucht werden.
- Da Invasionen meist in der Folge von Veränderungen der Umweltbedingungen auftreten, ist der Untersuchung des Verhaltens einer Pflanze unter *verschiedenen veränderten Bedingungen* besondere Bedeutung beizumessen.

Obwohl nicht alle der vorgeschlagenen Punkte in einem einzigen Antrag Berücksichtigung finden werden können, so kann doch eine Bewertung der darin vorgeschlagenen Maßnahmen nach Kriterien wie diesen durchaus sinnvoll sein.

3.6 MONITORING VON TIEREN

Die Herstellung transgener Tiere ist in erster Linie wegen ethischer Bedenken im Fall von höheren Wirbeltieren umstritten. Diese Probleme sollen hier nicht diskutiert werden. Aber auch im Fall der Risikobeurteilung im Sinne der EG-Richtlinie 90/220 ist nicht klar, wie vorgegangen werden soll. Ein "klassisches" Monitoring für transgene Großtiere erachtete man bisher für nicht unbedingt notwendig, solange die Ausbreitung sicher begrenzt ist. Für transgene Vögel oder Fische hingegen ist die Situation grundlegend anders (OECD, 1992e).

3.6.1 Das Monitoring von transgenen Fischen

Transgene Fische, einmal freigesetzt, sind fast ebensowenig rückholbar wie manche Mikroorganismen. In den meisten Fällen, z. B. in Fischfarmen, kann man mit einem gewissen physikalischen Containment rechnen. Die Erfahrung mit "herkömmlichen" (nicht transgenen) Fischen zeigt aber, daß mit dem Entweichen gerechnet werden muß. In vielen Fällen ist dann die Identifizierung nicht mehr möglich. Wenn also die Möglichkeit besteht, daß die transgenen Fische sich mit einer verwandten Wildpopulation kreuzen oder eine neue Wildpopulation etablieren könnten, ist eine zweite Stufe des Containments wie die Sterilisation notwendig. Da all diese Methoden nicht absolut wirksam sind, muß ein effizientes Monitoring für alle transgenen Fische sichergestellt sein. Als *Methoden* bieten sich an:

- Sammlung von Individuen;
- Detektion von transgenen Organismen und Genkonstrukten;
- Bestimmung biologischer und umweltrelevanter Auswirkungen.

Schwierigkeiten ergeben sich schon bei der Sammlung einer genügend großen Anzahl von Individuen am richtigen Ort zur richtigen Zeit. Die Zahl der untersuchten Fische muß an die lokale Populationszahl angepaßt sein.

Vor der Aussetzung von transgenen Fischen muß eine *Risikoabschätzung* folgende Information berücksichtigen:

- Charakterisierung der *lokalen Spezies* in Hinsicht auf lokale Habitate, Populationszahl, biologische Charakteristika und genetischen Status;
- Ermittlung von *Leistungsparametern* der neuen genetischen Linie im Vergleich zum Ausgangsstamm (Überleben, Fruchtbarkeit, Verhalten, Kompetitionsvermögen relativ zur eigenen und zu anderen Spezies);
- Studien, die die Auswirkungen der *Freisetzung markierter unmodifizierter Fische* im betreffenden Gebiet untersuchen;
- aktueller Kenntnisstand über *Wechselwirkungen zwischen Wild- und Zuchttieren* und Daten über die Auswirkungen von "exotic species";
- *Stabilität* der genetischen Modifikation im Genom und in der Population.

Genetisch veränderte Fische sollten markiert werden, um entwichene Individuen einfacher identifizieren zu können. Morphologische Marker sollten nicht verwendet werden, wenn große Zahlen von Individuen untersucht werden (wenn zum Beispiel wenige entwichene Individuen von einer sehr großen Zahl an wildlebenden unterschieden werden müssen), in solchen Fällen sind molekularbiologische Identifizierungsmethoden zu empfehlen.

3.6.1.1 Beispiel

Genetische Markierung:

Das Entweichen von Forellen aus Fischzuchten wurde über Genmarker und ihre Detektion verfolgt. Gegenüber herkömmlichen Markierungsmethoden zeichnet sich diese dadurch aus, daß auch nach mehreren Generationen eine Identifizierung möglich ist. Für allem für Populationsstudien ist die Methode anwendbar, allelische Variationen einzelner Gene sind weit verbreitet, das Einfügen synthetischer Sequenzen daher nur in Einzelfällen notwendig, um den Zuchtfisch von den natürlich vorkommenden zu unterscheiden. Eine Identifizierung von genetisch veränderten Individuen ist bei geeigneter Wahl der Ausgangslinien gewährleistet.

3.6.2 Das Monitoring von terrestrischen Arthropoden

Es gibt etwa 30 Millionen Insektenpezies. Ein Monitoring, auch und vor allem für nicht transgene Insekten, scheint für die Land- und Forstwirtschaft allgemein von Interesse. Bisher wurde Monitoring betrieben, um etwa die Resistenz gegen Insektizide oder die Qualität nützlicher Insekten zu überwachen, das Monitoring auf Insektizidresistenz scheint in Zukunft von entscheidender Bedeutung. Monitoringmethoden sind also nicht nur für die Freisetzung transgener Organismen wichtig, in der medizinischen Entomologie beispielsweise können Vektorspezies überwacht werden, um Pathogene zu verfolgen. Hier werden meist die mobilsten Zustände im Lebenszyklus untersucht, normalerweise die adulten Insekten. Für Parasiten scheint die Überwachung des Larvenstadiums am sinnvollsten.

Um die Etablierung und die Verbreitung von neu eingeführten Arthropoden zu untersuchen, stehen neben relativen (z. B. Fallen) und absoluten Methoden (z. B. quantitatives Auswerten von Sammeldaten) eine Reihe von Methoden wie radioaktive Markierung, Farbmarkierung u. ä zur Verfügung, die Anwendbarkeit hängt von der Spezies ab. Genetische Marker wie polymorphe Charakteristika wurden ebenfalls in der Populationsgenetik bereits verwendet.

3.7 BEURTEILUNG VON PLÄNEN FÜR DAS MONITORING BEI ANTRÄGEN AUF FREISETZUNG

Pläne für das Monitoring sind nach der EG-Richtlinie 90/220 integraler Bestandteil der Informationen, die bei der Antragstellung vorzulegen sind. Form und Methoden der Überwachung werden jedoch nicht spezifiziert. Dennoch lassen sich einige Schlußfolgerungen aus dem angeführten ziehen:

1. Aufgaben festlegen	Es sollte Wert darauf gelegt werden, die Aufgaben des Monitoring (Erkenntnisgewinn, Überwachung unvorhergesehener Ereignisse und der Entfernung nach Versuchsende) für jeden Versuch klar zu trennen und zu benennen.
2. Methoden wählen	Die für jede der Aufgaben geeignete Methode sollte einschließlich ihrer Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit angegeben werden, wobei natürlich eine Methode mehrere Aufgaben erfüllen oder eine Aufgabe mehrere Methoden erfordern kann. Methodensammlungen wie der vorgestellte dänische Ansatz (KJELLSON und SIMONSEN, 1993) können hierzu eine Hilfe und Referenz bieten.
3. Einheitliche Versuchsplanung	Vorversuche im geschlossenen System, Freisetzungsvorversuch und Monitoring sollten eine Einheit bilden. Unabhängig von der Beendigung der Freisetzung sollte das Monitoring weiterbetrieben werden, solange dies sinnvoll erscheint.
4. Statistische Auswertung	Wenn möglich, sind Ansätze zu bevorzugen, die eine statistische Auswertung zulassen. Monitoring ist <i>nicht</i> bloße Überwachung, "daß nichts passiert", sondern dient auch dem Erkenntnisgewinn.
5. Aufgabenteilung	Das Monitoring sollte in der Verantwortung des Antragstellers liegen, für die sicherheitsrelevanten Messungen und Beobachtungen sollte er der Behörde berichtspflichtig sein. Diese sollte die Einhaltung des genehmigten Planes kontrollieren, aber nicht das gesamte Monitoring selbst übernehmen.

4 INTERNATIONALE REGELUNGEN ZUR FREISETZUNG

4.1 GRUNDLEGENDE KONZEPTE FÜR DIE RISIKOABSCHÄTZUNG

Für die Formulierung der EG-Richtlinie 90/220 (RAT DER EG, 1990 b) waren in erster Linie die grundlegenden Konzepte der *OECD* maßgeblich. Es erscheint daher notwendig, die Weiterentwicklung dieser Konzepte in der *OECD* seit der Formulierung der EG-Richtlinie zur Freisetzung zu untersuchen.

Bestrebungen des *Europarates* gehen dahin, die Sicherheit im Umgang mit GVO zu verbessern. Mögliche unerwünschten Effekte, aber auch positive Auswirkungen sollen besser abschätzbar werden, indem Analogien zu Erfahrungen mit nicht-GVO gezogen werden.

Ein Versuch der britischen *Royal Commission on Environmental Pollution*, mit "GENHAZ" die Risikoabschätzung von GVO auf eine systematische Basis zu stellen, hat große Beachtung gefunden und Einfluß auf weitere Überlegungen genommen.

Schließlich soll auf eine grundlegende Arbeit für die amerikanische *Ecological Society* verwiesen werden, die nach wie vor aktuell ist und über den unmittelbaren Zusammenhang mit der EG-Richtlinie 90/220 hinaus grundlegende Hinweise für die Risikoabschätzung nach wissenschaftlichen Grundsätzen gibt.

Diese Arbeit war auch Grundlage für die Rahmenbestimmungen des *U.S. National Research Council*, die ebenfalls kurz erwähnt werden.

4.1.1 OECD

4.1.1.1 Good Developmental Principles

In der Organisation for Economic Cooperation and Development (*OECD*) beschäftigen sich das Direktorat für Wissenschaft, Technologie und Industrie (*DSTI*) und das Umweltdirektorat (*ENV*) mit Sicherheitsfragen bei der Anwendung der Biotechnologie. Die Gruppe der Nationalen Experten für die Sicherheit in der Biotechnologie (*GNE*) setzt sich aus Wissenschaftlern, Behörden- und Industrievertretern der Mitgliedsländer zusammen.

Die *OECD* veröffentlichte 1992 die "Safety Considerations for Biotechnology" (*OECD*, 1992a) als Folgearbeit zu den 1986 publizierten "Recombinant DNA Safety Considerations" (dem "Blue Book") (*OECD*, 1986). Darin werden u. a. die "Good Developmental Principles" (*GDP*) für Freisetzungen von transgenen Pflanzen und Mikroorganismen im kleinen Maßstab definiert, eine Sammlung von Empfehlungen für die Planung von Freisetzungsversuchen mit geringstmöglichem Risiko. Die *GDP* führen das Unterkapitel "Environmental and Agricultural Applications" im "Blue Book" fort, in dem die Prinzipien der Risikoanalyse, der Fall-zu-Fall-Beurteilung und des Stufenprinzips definiert wurden. Diese Prinzipien fanden auch in die EG-Richtlinie 90/220 Eingang.

Die Risikoanalyse beruht auf Informationen über den Spender- und den Empfängerorganismus, die aus Labor- und Feldversuchen stammen. Weiters ist die Methode der gentechnischen Veränderung zu beurteilen, um auf die Eigenschaften des GVO schließen zu können. Schließlich sind die Eigenschaften des GVO einzuschätzen, insbesondere die Art und das Ausmaß der Abweichung vom Ausgangsorganismus.

Die *Fall-zu-Fall-Beurteilung* soll sicherstellen, daß die Risikoanalyse auf den jeweiligen GVO und die betreffende Umwelt abgestimmt ist. Solange es keine ausreichende Erfahrung mit einer Anzahl von Freisetzungen vergleichbarer Organismen in ähnliche Ökosysteme gibt, sollte jeder einzelne Freisetzungsantrag getrennt untersucht und beurteilt werden.

Das *Stufenprinzip* sieht vor, daß, ausgehend von Laborversuchen, der GVO zunächst im Glashaus oder Mikrokosmos auf seine Eigenschaften hin untersucht wird, bevor eine Freisetzung in kleinem Maßstab stattfinden kann. Erst nach der positiven Begutachtung der Ergebnisse daraus kann eine Freisetzung in großem Maßstab durchgeführt werden. Wenn sich keine negativen Effekte gezeigt haben, kann der Organismus generell für das Inverkehrbringen etc. freigegeben werden.

Außerdem werden Kriterien für die Durchführung von Freisetzungsversuchen festgelegt. Durch geeignete Auswahl der Organismen, des Versuchsgeländes und der experimentellen Bedingungen soll größtmögliche Sicherheit gewährleistet werden.

Arbeitshypothesen

1. Aus der Analyse des Organismus, des Versuchsgeländes und der Versuchsbedingungen nach wissenschaftlichen Prinzipien können Daten gewonnen werden, die die Grundlage für die Entscheidung bilden, ob ein Experiment ein niedriges oder vernachlässigbares Risiko darstellt.
2. Das Risiko eines Experiments kann man abschätzen, indem die dafür bedeutsamen Faktoren und ihre Wechselwirkungen bewertet werden, unter Berücksichtigung der experimentellen Bedingungen und, wenn vorhanden, von Daten aus Glashausversuchen oder Laborstudien.
3. Die Wechselwirkung dieser Faktoren kann leichter bei Versuchen im kleinen als im großen Maßstab abgeschätzt werden. Die effiziente Überwachung ist einfacher und Begrenzungsmaßnahmen im Falle unvorhergesehener und möglicherweise schädigender Ereignisse sind leichter.

Schlüsselfaktoren für die Sicherheit ("Key Safety Factors")

Die Charakterisierung des verwendeten Organismus und des eingefügten Gens:

Eine Reihe von Organismen kann aufgrund ihrer Eigenschaften unter unterschiedlichen experimentellen Bedingungen auch ohne besondere Vorkehrungen mit geringem oder vernachlässigbarem Risiko verwendet werden. Die Verwendung anderer Organismen erfordert besondere Bedingungen, wenn die Sicherheit des Experiments gewährleistet bleiben soll.

Die Charakterisierung des Versuchsfeldes und der angrenzenden Umgebung:

Das Versuchsfeld soll so gewählt werden, daß einerseits das Versuchsziel erreicht und andererseits das Risiko möglichst gering gehalten wird. Die Sicherheit wird erhöht, wenn das Versuchsfeld solchen Feldern ähnelt, die schon lange für Forschungsarbeiten verwendet wurden und bei denen keine Ausbreitung und Etablierung von Versuchsorganismen festgestellt werden konnte.

Weitere Aspekte sind:

- ökologische und/oder geographische Sicherheitsbedingungen (Hochwasser, Hanglage etc.)
- klimatische Bedingungen
- Größe der Fläche und
- Nähe zu bestimmten sensiblen Ökosystemen (Schutzgebieten etc.).

Experimentelle Bedingungen

Wissenschaftlich akzeptable und umweltverträgliche Freisetzungsversuche müssen sorgfältig geplant werden. Die Absicht des Versuchs, spezifische Methoden für die Freisetzung, Überwachungsmaßnahmen und eventuelle Maßnahmen zur Verminderung der Überlebensfähigkeit der Versuchsorganismen müssen beschrieben werden. Präzise Angaben zum Versuchsplan, über die zu erhebenden Daten und über Methoden für die statistischen Auswertung werden verlangt.

Wesentliche Teile der Planung eines Experiments mit niedrigem oder vernachlässigbarem Risiko sind:

- die Wahl eines geeigneten Ortes,
- die Charakterisierung des Versuchsorts (Größe, Vorbereitung u. klimatische Verhältnisse),
- die Auswahl geeigneter Freisetzungsmethoden,
- die Auswahl geeigneter Methoden für die Aufzucht des Organismus,
- die Auswahl geeigneter Methoden zur Begrenzung, Dekontaminierung, Überwachung und Einschränkung der Lebensfähigkeit des Organismus,
- die Einhaltung einer wissenschaftlichen Vorgangsweise,
- die Entwicklung geeigneter Sicherheitsmaßnahmen für die Anwendung und für den Notfall.

Forscher, die Freisetzungen von Pflanzen oder Mikroorganismen durchführen wollen, sollten folgende Punkte beachten:

1. Die Zahl der veränderten Organismen soll so klein wie möglich sein.
2. Die Ausbreitung und die Etablierung außerhalb des Testgeländes sollte so unwahrscheinlich wie möglich sein.
3. Der Organismus ist innerhalb und außerhalb des Versuchsgeländes und während und nach Beendigung des Versuchs zu überwachen. Kontrollen oder Begrenzungsmaßnahmen sollten während, bei und nach Beendigung des Experiments zu jedem Zeitpunkt möglich sein, um gegebenenfalls unerwünschte Auswirkungen auf die Natur ausschließen zu können.
4. Auch außerhalb des ursprünglichen Versuchsfeldes sollte überprüft werden, ob sich veränderte Organismen etabliert haben oder, wenn nötig, ob die veränderte genetische Information nachgewiesen werden kann.
5. Wenn nötig, müssen unerwünschte Umwelteffekte außerhalb des Versuchsgeländes durch Kontroll- und Begrenzungsmaßnahmen verhindert werden.
6. Maßnahmen zur Beendigung des Experiments u. zur Abfallbehandlung sind zu entwickeln.
7. Alle mit dem Versuch befaßten Personen müssen entsprechend ausgebildet sein.
8. Die Ergebnisse des Versuchs sind zu dokumentieren und aufzubewahren.

Experimente mit Pflanzen

Vorzugsweise sollten domestizierte Nutzpflanzen für gentechnische Experimente und Freisetzungen verwendet werden. In vielen Fällen besteht lange Erfahrung mit der reproduktiven Isolierung.

rung der Sorten und mit Maßnahmen gegen die Ausbreitung außerhalb des Versuchsgeländes. Die meisten Nutzpflanzen können sich nicht außerhalb kultivierter Flächen ansiedeln oder überleben.

Folgende pflanzliche Eigenschaften sollten untersucht werden:

- Reproduktives Potential der Pflanze, insbesondere Blüte- und Bestäubungsbedingungen, Saatcharakteristika, Erfahrungen mit der kontrollierten Reproduktion, Möglichkeiten zur Kreuzbefruchtung oder Etablierung außerhalb des Versuchsgeländes;
- Art der Wirkung, Persistenz und Abbau jedes neuen toxischen Produkts;
- Art der für das Einführen der neuen genetischen Information verwendeten Vektoren;
- Interaktionen mit anderen Spezies und/oder biologischen Systemen.

Die GDP sollen die Planung und Durchführung von Freisetzungen erleichtern, um folgende Ziele zu erreichen:

1. Die gentechnisch modifizierten Pflanzen sollen vom Genpool sexuell kompatibler Pflanzen außerhalb des Versuchsgeländes isoliert bleiben *und*
2. Gene oder gentechnisch veränderte Organismen sollen nicht in die Umgebung außerhalb des Versuchsgeländes entweichen können *oder*
3. es sollen Pflanzen verwendet werden, die auch ohne reproduktive Isolierung keine unbeabsichtigten, unkontrollierten schädlichen Auswirkungen haben.

Die GDP können dann angewandt werden, wenn

1. die Vermehrung kontrolliert werden kann, weil die Pflanze durch experimentelle Maßnahmen oder eigene biologische Grenzen vermehrungsunfähig ist *oder*
2. das Experiment wahrscheinlich keine Umweltschäden bewirkt, weil
 - die Wahrscheinlichkeit für das Überleben, die Verbreitung oder die Etablierung der Pflanze außerhalb des Versuchsgeländes minimal ist und
 - die Wahrscheinlichkeit, daß neue oder verstärkt exprimierte toxische Produkte eine schädigende Wirkung auf Nutzflächen oder natürliche Ökosysteme haben, minimal ist *und/oder*
 - Vektoren für den Gentransfer, die ein Risiko für eine Schädigung oder Erkrankung der Pflanze bergen, in adäquater Weise entschärft *und/oder* eliminiert worden sind.

Experimente mit Mikroorganismen

Auch die Sicherheit von Freisetzungsversuchen mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen kann durch Überprüfen der Eigenschaften des jeweiligen Organismus und des Versuchsortes und durch geeignete Versuchsplanung und ökologisch angemessene Versuchsbedingungen erhöht werden. Im Unterschied zu Pflanzen wird meist eine große Zahl von Mikroorganismen freigesetzt. Es ist daher wahrscheinlich, daß zumindest einige Individuen überleben. Die Individuen einer Population sind nicht immer genetisch isoliert, horizontaler Gentransfer ist möglich, daher müssen Mikroorganismen statistisch untersucht werden.

Beurteilungskriterien für Mikroorganismen sind:

- mögliche Maßnahmen zur Begrenzung der Verbreitung, Überlebensfähigkeit und Vermehrung
- Wechselwirkung mit anderen Spezies und/oder biologischen Systemen
- Möglichkeiten für Gentransfer
- Art der Auswirkungen, mögliche Überdauerung und Möglichkeiten zum Abbau von neuen toxischen Produkten.

Die GDP sollen die Planung von Freisetzungsversuchen ermöglichen, bei denen sichergestellt ist, daß

1. der Transfer des betreffenden genetischen Materials kontrolliert wird *und*
2. die Ausbreitung der GVOs begrenzt ist *oder*
3. keine unbeabsichtigten, unkontrollierten schädlichen Auswirkungen auch durch Gentransfer und Ausbreitung zu erwarten sind.

Die Anwendung der GDP ist unter folgenden Voraussetzungen möglich:

1. Das Experiment erlaubt die Kontrolle des Transfers von genetischem Material und der Ausbreitung über das Versuchsgelände hinaus, weil
 - die Eigenschaften des Organismus die Wahrscheinlichkeit für einen horizontalen Gentransfer vermindern oder Maßnahmen zu dessen Verhinderung oder Minimierung getroffen wurden *und*
 - der Organismus nur beschränkt überlebensfähig ist *oder*
 - Maßnahmen getroffen wurden, um die Verbreitung des Mikroorganismus über den Versuchsort hinaus zu minimieren *und*
 - wenn notwendig, Maßnahmen gegen die Etablierung außerhalb des Versuchsgeländes getroffen wurden.
2. Das Experiment beschränkt die Wahrscheinlichkeit, daß Gebiete außerhalb des Versuchsareals geschädigt werden, weil
 - keine schädigenden Effekte außerhalb des Versuchsgeländes zu erwarten sind, auch dann nicht, wenn der Mikroorganismus entweichen sollte, wenn dies bereits bekannt oder experimentell nachgewiesen ist *und*
 - das Experiment so geplant ist, daß Auswirkungen auf andere Organismen nachgewiesen und kontrolliert oder eingeschränkt werden können, sollten sie auftreten.

Die wichtigsten Faktoren für die Sicherheitsbewertung sind daher die Fähigkeit der Mikroorganismen, sich in der Umwelt auszubreiten, die Möglichkeit des horizontalen Gentransfers und die Verfügbarkeit geeigneter erreichbarer Habitats oder ökologischer Nischen in der Umgebung des Versuchsorts.

Die GDP stellen den Versuch dar, aufgrund neuerer wissenschaftlicher Erkenntnisse die Risiken einzuschätzen, die mit einer experimentellen Freisetzung von gentechnisch veränderten Pflanzen und Mikroorganismen in kleinem Maßstab verbunden sind. Tiere werden nicht berücksichtigt. Unter Beachtung des Fall-zu-Fall-Prinzips werden allgemeine Kriterien vorgeschlagen und gleichzeitig eine Anleitung für die Durchführung der Risikoabschätzung gegeben. Die Bedeutung dieser Richtlinien ergibt sich auch daraus, daß sowohl der amerikanische als auch der europäische Standpunkt damit kompatibel ist. Es wird auf die hauptsächlichsten Punkte einer Risikoabschätzung eingegangen – die Details bleiben den einzelnen Ländern und ihren Materieregelungen überlassen.

4.1.1.2 Neuere Entwicklungen: Scale Up

Ausgehend von den GDP, die allgemein für Freisetzungsversuche in kleinem Maßstab gelten, stehen für Einzelbereiche spezifizierte Empfehlungen zur Risikoidentifizierung und –abschätzung zur Diskussion. Vor allem die Entwicklung von Richtlinien zur Freisetzung gentechnisch veränderter Nutzpflanzen in kleinem Maßstab ist schon weit gediehen (OECD, 1992c).

In der Weiterentwicklung dieser Überlegungen wird unter anderem vorgeschlagen, den Begriff "Large Scale" durch "Scale Up" zu ersetzen, um die Kontinuität der Forschung und Entwicklung hin zu größeren Maßstäben und schließlich zum Inverkehrbringen zu betonen (OECD, 1992d). Der Begriff geht über die Einteilung von Experimenten in solche in kleinem und großem Maßstab hinaus und bezieht sich auf aufeinanderfolgende Stufen, die normalerweise im Zuge der Entwicklung von Nutzpflanzen durchlaufen werden. Meist wurden dabei bisher Qualitätsmerkmale der Pflanzen und Leistungsparameter wie die Saatgutvermehrung überprüft, im Zusammenhang mit GVO stehen aber vor allem Sicherheitskriterien und mögliche Sicherheitsbedenken, die mit dem "Scale Up" verbunden sein können, im Mittelpunkt des Interesses.

Um das mögliche Risiko bei einigen verbreiteten Nutzpflanzen zu begrenzen, kann auf etablierte Techniken zurückgegriffen werden. Bereits der übliche Umgang mit einer Nutzpflanze kann als Teil des "Risiko-Managements" betrachtet werden. Diese "Kulturpraktiken" variieren von Pflanze zu Pflanze und können regionalspezifisch unterschiedlich oder auf bestimmte Umgebungen beschränkt sein. Risiken, die von GVO ausgehen, können mit ähnlichen Mitteln wie für traditionell gezüchtete Nutzpflanzen kontrolliert werden, mit der Einschränkung, daß bei einem möglichen höheren Risiko zusätzliche Züchtungstechniken oder spezielle Experimente nötig sein können, um weitere sicherheitsrelevante Informationen zu erhalten.

Das Konzept der Vertrautheit

Um Aspekte der ökologischen Sicherheit besser abschätzen zu können, wurde der Begriff der "Vertrautheit" eingeführt (OECD, 1992d). Für viele Organismen gibt es eine Fülle an Erfahrung über das Verhalten im Freiland, Zuchtmethoden, Schadwirkungen und vieles andere. Vor einer Risikoabschätzung sollen zunächst die bisherigen Erfahrungen mit dem Organismus möglichst umfassend zusammengestellt werden, im Falle von GVO sowohl für den Spender- als auch für den Empfängerorganismus.

Die "Vertrautheit" ist ein dynamisches, kein absolutes Prinzip. Je mehr Erfahrungen es mit dem Organismus selbst und seinen möglichen Kreuzungspartnern sowie den ökologischen Wechselwirkungen gibt, in die der Organismus eingebunden ist, desto leichter können im Analogieschluß Risiken als gering oder signifikant eingeschätzt werden. Darüber hinaus können auch Analogien zwischen dem möglichen künftigen Verhalten eines GVO und den Eigenschaften von solchen Organismen gebildet werden, die beispielsweise in ähnlichen Habitaten vorkommen und im ökologischen Netzwerk eine ähnliche Rolle einnehmen wie es von dem zu untersuchenden GVO angenommen wird. Solche Analogien (sofern sie vorsichtig gebraucht werden) erlauben es z. B., auch ökologische Aspekte langfristiger Natur einzuschätzen, die aus Versuchen im Kleinmaßstab nicht zu eruieren sind. Die Risikoabschätzung von Pflanzen soll nach Meinung der OECD folgende Kriterien berücksichtigen:

- Die Kenntnis grundsätzlicher Eigenschaften der Nutzpflanze, einschließlich Blüh- und Vermehrungseigenschaften, Genetik, Phylogenie und Ökologie;
- Die Kenntnis der landwirtschaftlichen Umgebung, einschließlich der geeigneten Methoden für die Pflanzenzucht und den sicheren Umgang mit der Pflanze;
- Die Kenntnis der umgebenden Naturlandschaft und der nahe verwandten Pflanzen in der näheren Umgebung;

- Die Kenntnis der Wechselwirkungen zwischen Nutzpflanze und verwandten Wildpflanzen, abgeleitet aus der Beobachtung von Hybridbildungen, die im Laufe der letzten Jahrzehnte aufgetreten sind (als Quelle können Herbarien herangezogen werden);
- Ergebnisse aus der Laborforschung;
- Ergebnisse aus Gewächshaus- oder kleinen Feldversuchen;
- Erfahrungen mit der Züchtung der Nutzpflanze im Großmaßstab.

Neben der Kenntnis des Empfängerorganismus ist für die Vertrautheit auch die Kenntnis über das neue Merkmal entscheidend. Folgende Informationen sind hierfür entscheidend:

- Die Herkunft des Gens,
- die gentechnische Konstruktion des eingeführten neuen genetischen Materials einschließlich der Expressionskontrolle,
- Ergebnisse aus Laborexperimenten und Vorversuchen, die Aufschluß über Vererbung und Genetik des Merkmals geben, und
- Erfahrungen mit dem Merkmal, wenn es bereits in andere Organismen eingefügt und dort exprimiert wurde.

Seltene Ereignisse

"Seltene Ereignisse" treten mit geringer statistischer Wahrscheinlichkeit auf. Je größer das Ausmaß des Versuchs, desto eher können solche seltenen Ereignisse beobachtet werden. Der statistische Aussagewert der Daten aus dem Monitoring wird gesteigert.

Ein Versuch im kleinen Maßstab, zum Beispiel zur Ermittlung der Schädlingsresistenz einer Pflanzenlinie, kann kaum solche seltenen Stämme oder Biotypen des Zielschädling ermitteln, die ihrerseits resistent gegen die Abwehrmaßnahmen der resistenten Pflanze sind. Ein "small scale"-Versuch wird daher ausschließlich die Wirksamkeit der pflanzlichen Resistenz zeigen. Beim "Scale Up", also bei einem Versuch im großen Maßstab, können aber resistente Schädlinge auftreten, es kommt unter Umständen zu einem großen Selektionsvorteil für die – gegen die Resistenz resistenten – Individuen mit äußerst nachteiligen Folgen.

Auch seltene Ereignisse wie das Auskreuzen von Nutzpflanzen mit einem Wildtyp oder einer Schadpflanze lassen sich mit einem "small scale"-Versuch nur schwer erfassen. Aus den genannten Gründen sind Angaben zur Empfindlichkeit der Nachweismethoden sehr wichtig. Einige Aussagen können aber erst bei Versuchen im Großmaßstab getroffen werden.

Sicherheitsaspekte

Folgende Sicherheitsaspekte sollten bei der Entwicklung neuer Kulturpflanzen untersucht werden:

Gentransfer

Pollentransfer kann durch das Übertragen einzelner Gene die Lebensfähigkeit von Nichtzielorganismen verbessern. Die Wahrscheinlichkeit hängt davon ab, ob befruchtbare Nichtzielpflanzen in der Nähe stehen, ob die Blütezeiten übereinstimmen, ob diese Pflanzen zur Samenbildung fähig sind und ob anschließend lebensfähige Pflanzen auskeimen können. Die Möglichkeit, derartige Phänomene nachzuweisen, hängt vom Umfang des Versuchs ab, von der Kompatibilität mit anderen Pflanzen, von der Überlebensfähigkeit und Fruchtbarkeit der Nachkommen. Eine Übertragung der Gene auf Nichtzielorganismen, die zu einem Selektionsvorteil führt, kann für einige Pflanzen nicht ausgeschlossen werden. Solche Gene können unter anderem Antibiotikaresistenzen, Resistenzen gegen Insektenschädlinge oder erhöhte Strebtoleranz sein.

Verwandte Wildpflanzen in natürlichen Habitaten

Pflanzen wurden im Laufe der Evolution durch Selektion optimiert. Wildpflanzen stellen einen Genpool für Resistenzen gegen Krankheiten und Schädlinge dar. Diese Gene wurden bisher in herkömmlicher Weise in Nutzpflanzen eingekreuzt. Jeder Versuch im Großmaßstab (Scale Up), der das Einfügen einer Resistenz beinhaltet, sollte berücksichtigen, inwieweit das eingefügte Merkmal die Ökologie verwandter Wildpflanzen in natürlicher Umgebung beeinflussen kann.

Schädliche Verwandte

in landwirtschaftlichen Nutzflächen entstehen durch Vermehrung über Samen, Überdauerung und die Fähigkeit zur Ausbreitung und Anpassung an die Bearbeitungsmethoden der Nutzfläche. Die veränderte Pflanze dürfte aber die Nutzpflanze nur selten überwuchern (beispielsweise durch erhöhte Krankheitsresistenz). Besonderes Augenmerk sollte auf Nutzpflanzen mit schädlichen Eigenschaften gelegt werden, wenn verwandte Wildformen vorhanden sind und bekannt ist, daß die eingefügte Krankheitsresistenz der Nutzpflanze einen Selektionsvorteil gegenüber der Wildpflanze verschafft. Horizontaler Gentransfer ist aller Wahrscheinlichkeit nach, selbst wenn er nachgewiesen werden sollte, so selten, daß die Bedeutung dieser Form der genetischen Durchmischung bei Pflanzen eher gering sein dürfte.

Geeignete Kulturtechniken

Dazu gehören z. B. die Isolierung des Testgeländes gegenüber Habitaten mit verwandten Wildpflanzen oder anderen Testfeldern und die Kontrolle der Pollenbildung durch Herbizide, die vor der Blühzeit eingesetzt werden oder durch das Abschneiden der Blüten.

Geeignete Züchtungspraktiken

Neben Standardtechniken wie Fruchtfolge, Schnitt und Herbizidverwendung kann das Absterben im Winter natürlicherweise die Verbreitung der Pflanzen kontrollieren.

Effekte der neuen Merkmale

lassen sich unterscheiden in solche mit direkten Auswirkungen auf die Populationsgröße und die Evolution der Zielorganismen und in solche, die direkte oder indirekte Auswirkungen auf Nichtzielorganismen haben, vor allem auf andere Nutzpflanzen und auf gefährdete Spezies. Pflanzen haben ein reiches Repertoire an Mechanismen, um Schädlinge und Krankheiten abzuwehren. Die Möglichkeit, daß Auswirkungen auf andere als die Zielorganismen eintreten (sekundäre Tropismuseffekte), muß ebenso bedacht werden: Eine transgene resistente Pflanze kann zur dramatischen Verminderung eines Schädlings führen, der wiederum eine Nahrungsquelle für andere Organismen darstellt. Solange die Resistenz aber nur dazu führt, die Zahl des Schädlings auf ein natürliches Niveau abzusinken, ist von einem geringen Risiko auszugehen. Organismen zum Schadstoffabbau oder zum Abbau von Herbiziden sollten auch auf die Schädlichkeit der Abbauprodukte hin untersucht werden.

Geeignete Anbaupraktiken für resistente Pflanzen
sollten folgendes beinhalten:

- Die Verwendung von mehr als einem Merkmal zur Abwehr eines Schädlings,
- die genetische Kontrolle von Expressionshöhe, –zeit oder –ort in der Pflanze, um die Expositionsdauer und somit den Selektionsdruck so gering wie möglich zu halten,
- die Einhaltung der Fruchtfolge mit verschiedenen Methoden zur Schädlingsbekämpfung,
- das Beifügen sensitiver (d. h. nichtresistenter) Individuen.

Meist dürften bei niedrigem Risiko Standardkulturtechniken ausreichen.

Genetische und phänotypische Variabilität

Eine neue Eigenschaft in einer Pflanze kann unabhängig von der Methode der Erzeugung in unerwarteter Weise genetisch und phänotypisch variabel ausgeprägt werden. Möglich

sind genetische Instabilitäten, unerwartete Phänotypen und mögliche pleiotrope Effekte. Zu beachten sind daher Phänomene, die zu unbeabsichtigten Phänotypen oder zu pleiotropen Effekten führen, sofern die Wahrscheinlichkeit des Gentransfers erhöht wird, die Schädlichkeit zunimmt oder Effekte auf Nichtzielorganismen zu beobachten sind. Unerwünschte Eigenschaften werden von Pflanzenzüchtern meist in den Anfangsphasen der Züchtung einer neuen Pflanzenlinie eliminiert. Stark variierende Linien sind für die Pflanzenzucht nicht verwendbar und werden daher von vornherein ausgeschlossen. Unvorhergesehene oder unerwünschte Eigenschaften können sein:

- Somaklonale Variation,
- Inaktivierung eines aktiven Gens durch Insertion des neuen,
- Aktivierung eines inaktiven Gens durch eine neue regulatorische Region,
- Positionseffekte des Inserts,
- durch Mutagenese veränderter Phänotyp,
- Veränderungen in Biosynthesewegen.

Erhöhungen der Selbststerilität sind zu vermeiden, da sonst bei Pflanzen, die sich normalerweise selbst bestäuben, die Wahrscheinlichkeit der Fremdbestäubung steigt.

Biologische Vektoren

Die meisten Vektoren für Pflanzen basieren auf TI-Plasmiden von *Agrobacterium tumefaciens* (oder *Agrobacterium rhizogenes*). Sicherheitsbedenken betreffen einen möglichen unerwünschten Gentransfer; der Wirtsbereich der Bakterien ist unter zweikeimblättrigen Pflanzen relativ unspezifisch. Andere Vektoren basieren auf Pflanzenviren; es besteht aber unter Umständen die Möglichkeit, damit neue Viren zu schaffen. Teile von Viren, wie der 35S-Cauliflower Mosaic Virus-Promoter, werden als genetische Elemente in diversen Konstrukten häufig verwendet, hier gibt es kaum Sicherheitsbedenken.

Arbeitssicherheit

Humanmedizinisch bedeutsam ist die Möglichkeit, daß das Genprodukt in Pollen gebildet wird und dadurch zu einem neuen Allergen wird. Auch ein neues Genprodukt im Saft der Pflanze kann unter Umständen zu Sicherheitsvorkehrungen Anlaß geben.

Freisetzungen in großem Maßstab stellen deutlich andere Anforderungen an die Risikoabschätzung, für die sich das Stufenprinzip als unbedingt notwendige Voraussetzung erweist. Das Konzept der "Vertraulichkeit" bietet die Möglichkeit, über eigentlich sehr spekulative Sachverhalte (nämlich das zukünftige Verhalten einer sehr großen Zahl von Organismen) sinnvolle Aussagen zu treffen. Am anderen Ende der Skala steht das Verhalten von Organismen, die sehr schlecht eingeschätzt werden können, den sogenannten "exotic species". Anhand der Erfahrungen mit derartigen Organismen können besonders "kritische Punkte" ausfindig gemacht werden, die spezieller Sicherheitsmaßnahmen bedürfen. Durch Analogiebildung, die zwar keine Beweiskraft besitzt, aber plausible Aussagen liefern kann, sind daher bessere Abschätzungen des Risikos möglich.

Es ist damit zu rechnen, daß die OECD in Kürze Empfehlungen für Freisetzungen in großem Maßstab herausgeben wird, insbesondere für einige häufig verwendete Nutzpflanzen (OECD, 1992d). Ähnlich wie das "Blue Book" und die GDP werden diese Empfehlungen wahrscheinlich die Grundlage für die weitere Vorgangsweise in den meisten Staaten sein. Es ist jedoch auch zu befürchten, daß einige Länder in ihren Sicherheitsanforderungen deutlich unter dem OECD-Niveau bleiben, wie dies derzeit z. B. in China der Fall ist (CHEN, 1992), wo bisher die flächenmäßig größten Freisetzungen stattgefunden haben.

4.1.2 Europarat: Ecological Impact Of Genetically Modified Organisms

Das Steering Committee for the Conservation and Management of the Environment and Natural Habitats (CDPE), eine Organisation des Europarats, erarbeitete ein Grundsatzdokument, in dem die wissenschaftliche Literatur und bestehende Richtlinien und Gesetze ausgewertet wurden (COUNCIL OF EUROPE, 1992). Das Dokument beinhaltet eine Übersicht über mögliche Anwendungen von GVO und positive sowie negative zu erwartende Auswirkungen, eine Aufstellung genereller Anforderungen an eine Risikoabschätzung und die Darstellung der Inhalte bestehender und geplanter Regelungen sowie wichtiger Konzepte für die Risikoabschätzung. Die wesentlichste Neuerung besteht in dem Versuch, über bestehende Konzepte hinauszugelangen und einen Weg aufzuzeigen, wie Langzeiteffekte beurteilt werden könnten. Auf diese Weise will der Europarat

- mögliche Umweltrisiken untersuchen,
- praktische Schlußfolgerungen in Hinsicht auf verschiedene mögliche Vorgangsweisen und Regulierungen ziehen,
- die Arbeiten einzelner Länder und internationaler Organisationen als Ausgangspunkte für die weitere Vorgangsweise nutzen,
- die Untersuchung von Freisetzungen nichtmodifizierter Organismen für die Risikoabschätzung von GVO heranziehen und dabei
- nicht nur mögliche negative Effekte berücksichtigen.

Kriterien für die Anwendung gentechnischer Methoden

Methoden zur gentechnischen Veränderung sollten dann zur Anwendung kommen, wenn wünschenswerte Entwicklungen zu erwarten sind, das heißt solche, die die Bedürfnisse der gegenwärtigen Generation erfüllen, ohne die künftiger Generationen zu beeinträchtigen (Anmerkung: gleichzusetzen mit dem Prinzip der "nachhaltigen Entwicklung"). Neue Produkte und Prozesse können so andere, bisher verwendete und oft umweltschädigende ersetzen.

Negative Auswirkungen könnten sich aber in bestimmten sozio-ökonomischen und ethischen Aspekten (zum Beispiel die Industrialisierung in der Landwirtschaft, oder die Privatisierung von Wissen und Technologie durch Patente) und in Risiken für die menschliche Gesundheit und Umwelt zeigen. Obwohl sekundäre und indirekte Effekte (z. B. ökologische Auswirkungen durch Monokulturen) verstärkt zu beachten sind, sollten sie beim jeweiligen Problem angegangen werden (z. B. den Bedingungen, die zum Monokulturanbau führen) und nicht beim Organismus, der dafür verwendet wird.

Die Untersuchung von Langzeiteffekten

Verschiedene Ebenen von Auswirkungen, die durch GVO ausgelöst werden, können unterschieden werden:

- Effekte durch das neue Gen auf den Organismus,
- Effekte durch das Genprodukt auf den Organismus,
- Kurzzeiteffekte des Organismus mit der neuen Eigenschaft auf das Ökosystem, in das er freigesetzt wurde,
- Langzeiteffekte eines Organismus auf bestimmte Ökosysteme, z. B. wegen dessen außergewöhnlich starker Vermehrung,
- Effekte des neuen Gens durch Gentransfer auf andere Organismen etc.

Die Risikoabschätzung, wie sie derzeit üblicherweise durchgeführt wird, ist zwar notwendig, konzentriert sich aber auf die ersten drei Ebenen, also Sachverhalte, die unmittelbar erfaßbar sind oder die aus den genetischen Daten abgeleitet werden können. Sie kann daher keine stichhaltigen Aussagen über langfristige Effekte treffen, weil es noch zuwenig Erfahrungen mit GVO im Freiland gibt.

Für den notwendigen vorsichtigen Umgang mit GVO ist es unabdingbar, eine breitere Perspektive im Auge zu behalten. Bei der Beurteilung von Freisetzungsvorhaben sollen daher mögliche Langzeiteffekte vermehrt beachtet werden. Nur wenn mögliche vorstellbare Langzeiteffekte beschrieben werden,

- besteht die Möglichkeit zu beurteilen, ob die damit verbundenen Risiken akzeptabel sind oder nicht,
- kann eine Klassifizierung in Risikokategorien durchgeführt werden und
- sind geeignete Überwachungsmaßnahmen möglich.

Annahmen

Der Bericht des Europarates geht von folgenden Annahmen aus:

Von Organismen, die in der Umwelt überleben, können unterschiedliche positive und negative Auswirkungen ausgehen.

- Diese Auswirkungen sollten nach den biologischen Eigenschaften der Organismen beurteilt werden und nicht danach, wie sie entstanden sind. GVO sind dennoch vorsichtiger zu behandeln, weil sie neue Genkombinationen enthalten, die mit größerer Wahrscheinlichkeit neue ökologische Auswirkungen haben.
- Schlüsselfaktoren für die Beurteilung einer Freisetzung sind:
 - die Eigenschaften des Organismus,
 - die Eigenschaften der Umwelt und die Art der Freisetzung,
 - die Art der verwendeten experimentellen Methoden, die der Fragestellung angemessen, ökologisch unbedenklich und wissenschaftlich einwandfrei sein sollen.
- Da einige Fragen nur durch die Praxis zu beantworten sind, sind Versuche im kleinen Maßstab die einzige Möglichkeit zur Risikoabschätzung.
- Da die Möglichkeit eines Gentransfers ein wichtiger Sicherheitsparameter ist, sollte man bei einer Freisetzung davon ausgehen, daß sich das Gen verbreitet und anschließend die Möglichkeiten dafür überprüfen.
- Selektion betrifft GVO wie alle anderen Organismen, man muß daher damit rechnen, daß sich der GVO anpaßt. Ein GVO kann auch trotz verminderter Lebensfähigkeit überleben, ebenso kann das Gen den Organismus in der Umwelt "überleben".
- Erfahrungen aus der Einführung nichtheimischer Organismen können Hinweise für die Beurteilung von gentechnisch veränderten heimischen und nichtheimischen Organismen liefern.
- Das Risiko, daß harmlose Organismen unbeabsichtigt gefährlich werden, ist gering, da Pathogenität und Unkrauteigenschaften von mehreren Genen abhängen (die aber teilweise schon vorhanden sein können!).
- Risiken sollten vermindert werden, indem
 - Unsicherheiten, die bei jedem Schritt in der Entwicklung eines neuen Organismus auftreten, vermindert werden, ebenso,

- die Wahrscheinlichkeit des Überlebens und der Verbreitung, und
- bisher unentdeckte Gefahrenquellen identifiziert werden.
- Die Abschätzung ökologischer Auswirkungen soll sich nach den räumlichen und zeitlichen Gegebenheiten richten. Langzeiteffekte sind nicht deswegen weniger gefährlich, weil sie relativ langsam auftreten.
- Die Abschätzung ökologischer Auswirkungen soll die unterschiedlichen Ökosysteme berücksichtigen, in die die Organismen freigesetzt werden.

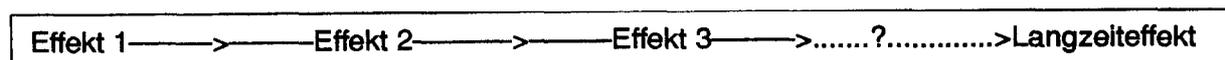
Strategie für die Abschätzung von Langzeiteffekten

Ein Ansatz für die Untersuchung von möglichen Mechanismen, die für langfristige Effekte verantwortlich sind, beruht auf der Beobachtung solcher Effekte bei der Einführung nichtheimischer Arten, weil hier derartige Effekte bereits beobachtet werden konnten. Die einzelnen Stufen der Analyse sind

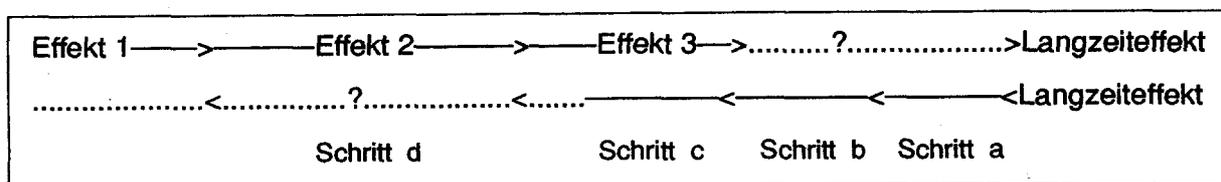
- die Identifizierung des Effekts,
- die Beschreibung der ökologischen Wechselwirkungen, die den Effekt hervorgerufen haben,
- die Beschreibung der phänotypischen und physiologischen Eigenschaften, die zu den Wechselwirkungen geführt haben,
- die Beschreibung der genetischen Eigenschaften, die zu den phänotypischen und physiologischen Eigenschaften geführt haben.

Während bei einer herkömmlichen Risikoanalyse einzelne Auswirkungen untersucht und möglichst in eine kausale Beziehung zueinander gebracht werden, soll die Abschätzung langfristiger Effekte also bei bekannten langfristigen Auswirkungen ansetzen. Darauf aufbauend sollen die dafür verantwortlichen Wechselwirkungen zurückverfolgt werden, bis die zugrundeliegenden Eigenschaften des jeweiligen Organismus zutage treten. Graphisch läßt sich dies folgendermaßen veranschaulichen:

Herkömmliche Risikoanalyse:



Vorgeschlagene Strategie für die Abschätzung von Langzeiteffekten:



Die Kausalkette wird also sozusagen von hinten aufgerollt, die Analyse sollte sich mit der Abschätzung kurzfristiger Effekte aufgrund der Risikoabschätzung treffen, die auf den Informationen über die Eigenschaften des GVO aufbaut (in der Graphik also bei Schritt c bzw. Effekt 3).

Vergleich mit der Einführung von "exotic species"

Obwohl die Analogien begrenzt sind, bietet der Vergleich mit der Einführung von "exotic species", im wesentlichen nichtheimischer Arten, doch einen der wenigen Ansätze, Mechanismen, die zu langfristigen Effekten führen, zu studieren (siehe auch SUKOPP, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992). Organismen, die neu in ein Habitat eingeführt werden, können nach ihrer "Fremdartigkeit" in

- wilde,
- kultivierte,
- gezüchtete und
- modifizierte

eingeteilt werden. Ebenso lassen sich Ökosysteme unterscheiden in

- natürliche,
- agrarische und
- belastete.

Die Frage, inwieweit die Einführung nichtheimischer Arten mit der Freisetzung von GVO zu vergleichen ist, wird dahingehend beantwortet, daß beide Vorgänge nicht "gänzlich analog ... (sind), daß aber Erfahrungen aus solchen Einführungen relevante Informationen liefern können". Es geht einzig um Aussagen über ökologische Zusammenhänge, nicht darum, Parallelen zwischen Effekten von Freisetzungen und negativen Auswirkungen nahezulegen, die durch die Einführung nichtheimischer Arten bewirkt wurden.

Biologische Invasionen

Das Studium biologischer Invasionen, die bei der Einführung nichtheimischer Arten aufgetreten sind, kann also Hinweise liefern, wie es zu solchen Auswirkungen kommt. Hierfür müssen diese Beobachtungen nach verschiedenen Kriterien untersucht werden, um Zusammenhänge aufdecken zu können, unterschiedliche Fragestellungen verlangen jeweils eine andere Herangehensweise. Biologische Invasionen können aus folgenden Perspektiven betrachtet werden:

- Die *ökologische* Perspektive: Gemeinschaften werden als wechselseitig sowohl qualitativ als auch quantitativ angepaßt betrachtet, sie kontrollieren einander. Spezies mit neuen Merkmalen können nur schwer in das Habitat eindringen; wenn dies jedoch der Fall ist, stören sie diese Beziehungen, bis die etablierten Spezies die Eindringlinge kontrollieren können.
- Die *populationsgenetische* Perspektive untersucht die Ausbreitung von Organismen mit Merkmalen, die diesem Wettbewerbsvorteile verschaffen.
- Die *epidemiologische* Perspektive zieht Parallelen zur Ausbreitung von Krankheiten; sie kombiniert Aspekte der Ökologie und Populationsgenetik.
- Die *biogeographische* Perspektive beschreibt biologische Muster und Prozesse in großem geographischem Maßstab.
- *Mathematische Modelle* behandeln allgemeine Prozesse. Je mehr Parameter eingehen, desto geringer wird die Allgemeingültigkeit des Modells, solche Modellierungen sind daher vorsichtig zu handhaben.

Weiters wird empfohlen, den besonderen Einfluß von Invasionen auf ökologisch charakteristische *Inseln* zu untersuchen. Gerade auf Inseln (wie die Galapagos, Mauritius etc.) sind die Auswirkungen, die durch die Einführung von fremden Spezies hervorgerufen wurden, besonders deutlich.

Identifizierung von negativen Langzeiteffekten

Folgende negative Langzeiteffekte wurden bisher bei der Einführung von Organismen in neue Umgebungen beschrieben:

- Verbreitung von Krankheiten
- Verminderung von Populationszahlen
- Auftreten von Schädlingen
- Behinderung des Wachstums anderer Organismen
- Belastung der Umwelt durch toxische Chemikalien oder andere schädigende Substanzen
- Veränderungen geochemischer oder physikalischer Prozesse
- Verlust erwünschter Eigenschaften oder genetischer Anlagen
- Einschränkung der biologischen Vielfalt.

Charakterisierung ökologischer Wechselwirkungen, die den Effekt verursachen

Die Art der Wechselwirkung, die zu einem Effekt geführt hat, läßt sich bestimmen als

- Wechselwirkung von Pathogen und Wirt
- Wechselwirkung von Räuber und Beute
- Wettbewerb um begrenzte Ressourcen
- wechselseitige Abhängigkeit oder Nahrungsgemeinschaft
- Wechselwirkungen mit der unbelebten Umgebung
- Genfluß innerhalb und zwischen den Arten.

Treten Arten miteinander in Wechselwirkung, kann das für die eine zu Vorteilen auf Kosten der anderen führen oder beide ziehen gleichermaßen Vor- und Nachteile aus der Beziehung. Die "relative Überlebensfähigkeit" der miteinander in Beziehung tretenden Arten, die diese Vorteilsbilanz widerspiegelt, verändert sich also entweder positiv oder negativ oder bleibt jeweils gleich.

Gegenseitige Ergänzung der Abschätzungen von kurz- und langfristigen Folgen

Aus der im Bericht des Europarates angeführten Literatur geht hervor, daß es genügend Informationen sowohl über physiologische als auch phänotypische Eigenschaften von bestimmten Organismen gibt, die für die von ihnen hervorgerufenen Effekte verantwortlich sind. Das bedeutet, daß die ersten drei Schritte vom Effekt zum verantwortlichen Gen (s. o.) in vielen Fällen möglich sind. Der Schluß von der phänotypischen Eigenschaft auf das Gen ist jedoch meist noch schwierig. Hier könnte sich möglicherweise die Untersuchung von langfristigen Effekten mit der Risikoabschätzung aufgrund der genetischen Eigenschaften treffen, wie sie bisher durchgeführt wird.

Das Dokument des Europarates bietet keine Richtlinie für die Risikoabschätzung, wohl aber Hinweise auf Mechanismen, wie langfristige Effekte ausgelöst werden. Die "Vertrautheit" steht als Hilfsmittel, um ökologische Wechselwirkungen bestimmen zu können, wie auch in der OECD an zentraler Stelle. Einerseits ist maßgebend, ob ein Organismus wild, kultiviert, gezüchtet oder modifiziert ist, andererseits wird das Ökosystem näher klassifiziert, nach beidem ist der Versuchsplan auszurichten. Obwohl der Bericht also "nur" eine Strategie für weitere Forschungen vorschlägt, wird doch die Perspektive durch diesen Ansatz wesentlich erweitert.

Wie im norwegischen Ansatz (siehe unten) wird Wert auf die Förderung der "nachhaltigen Entwicklung" gelegt. Wie dieses Kriterium in die Praxis der Beurteilung übernommen werden kann, bleibt allerdings unklar. Obwohl klar ist, daß der Umwelt am meisten durch solche Vorgangsweisen (mit oder ohne GVO) gedient ist, die in irgendeiner Weise diesem Kriterium Genüge tun, scheint es sehr schwierig zu sein, Beurteilungsmaßstäbe zu finden, die allgemeine Gültigkeit haben. Oft mag das unmittelbare Risiko einer Anwendung von GVO gering sein, die möglichen Sekundärwirkungen aber beträchtlich und durchaus nicht im Sinne der "nachhaltigen Entwicklung". Wie damit umzugehen ist, bleibt (leider) völlig unklar.

4.1.3 Royal Commission on Environmental Pollution: GENHAZ

Eine Arbeitsgruppe der britischen Royal Commission on Environmental Pollution veröffentlichte im Jahre 1991 einen Vorschlag zur Risikoabschätzung bei Freisetzungen, angelehnt an die Vorgangsweise, wie mögliche Gefahren insbesondere in der chemischen Industrie erkannt werden können ("GENHAZ", ROYAL COMMISSION ON ENVIRONMENTAL POLLUTION, 1991). Dieser Bericht hatte großen Einfluß auf die Beratungen für die Novellierung der britischen Regelungen im letzten Jahr, obwohl die darin enthaltenen Vorschläge nicht zur Gänze vom zuständigen beratenden Komitee und der Behörde (siehe Besprechung der britischen Regelung, Kapitel 4.2.1.2) übernommen wurden.

In einem Fragenkatalog werden Informationen vom Antragsteller eingeholt und nach einem Schema ausgewertet. Zunächst werden die Vorgänge bei einer Freisetzung in sieben Stufen eingeteilt. Diese Stufen bestehen aus:

- eigentlicher Freisetzung
- Etablierung in der Umwelt
- Wechselwirkungen durch Wachstum, Ausbreitung und Vermehrung
- unbeabsichtigtem Gentransfer
- Überwachung (Monitoring)
- Beendigung des Versuchs und Beseitigung der GVO.

In jeder dieser Stufen werden die Eigenschaften des gentechnischen Konstrukts, des Empfängers und des Produkts (des GVO) untersucht. Bei der eigentlichen Untersuchung wird jeweils der ursprünglich beabsichtigte Verlauf erhoben und mögliche Abweichungen über logische Verknüpfungen ("nicht", "mehr als", "weniger als", "sowohl – als auch", "teils", "anders als", "anderswo als", "zu anderer Zeit als") systematisch analysiert. Konsequenzen und Ursachen dieser Abweichungen und mögliche Gegenmaßnahmen werden dann erhoben.

GENHAZ analysiert ein Freisetzungsexperiment von der Planung bis zur langfristigen Nachuntersuchung am Freisetzungsort und ermöglicht so eine Gesamtsicht. Die Anlehnung an etablierte Vorgangsweisen bei der Risikoabschätzung auf anderen Gebieten (Chemikalien) sichert die Praxistauglichkeit dieses Instruments. GENHAZ versucht, versteckte Risiken aufzuspüren und sinnvolle Gegenmaßnahmen ausfindig zu machen, die mit möglichst geringem Aufwand umzusetzen sind. Dadurch ergibt sich eine Reihung der eingegangenen Einzelrisiken und die Risikominimierung kann am schwächsten Glied der Kette ansetzen.

Im folgenden sind die Inhalte der Risikoüberprüfung in den sieben Stufen tabellarisch zusammengefaßt:

	KONSTRUKT	EMPFÄNGER	GVO
HERSTELLUNG/AUSWAHL	Funktion Herkunft der DNA Veränderung der DNA, Absicht endgültiges Konstrukt Instabilität	Art, Identifizierung, Überprüfung Wirtsspektrum Pathogenität Handelt es sich um einen GVO ?	Art und Menge des Inserts Funktion des GVO Kopienzahl, Kontrolle Höhe der Expression
FREISETZUNG	Wirte, in denen das Konstrukt bedenklich sein könnte Veränderungen der Pathogenität des Empfängers Unerwünschte Effekte durch verändertes Konstrukt	Wünschenswerte Effekte auf das natürliche Habitat Unerwünschte Effekte auf ein beliebiges Habitat Unerwünschte Effekte bei der Freisetzung	Methode, Ausmaß, Zeit, Häufigkeit Physikalisches Containment Effekte auf <ul style="list-style-type: none"> • das Ziel(habitat) • Nichtziel(habitate) • Nichtzielorganismen
ETABLIERUNG	Einflüsse von Umweltbedingungen und ökologischem Druck auf das Produkt	Faktoren, die die Wahrscheinlichkeit der Etablierung in der Umwelt beeinflussen	Interne und umweltbedingte Faktoren für die Etablierung in der Umwelt Behinderungen anderer Organismen bei einer Etablierung
POPULATION	Faktoren, die die Zunahme, Abnahme oder das Verschwinden des Organismus bewirken Begrenzungen der Überlebensfähigkeit	Faktoren, die die Zunahme, Abnahme oder das Verschwinden in Habitaten oder in der Freisetzungsumgebung bewirken Überdauerungsformen Verbreitungsformen Beeinflussung anderer Organismen	Faktoren, die die Zunahme, Abnahme oder das Verschwinden in Habitaten oder in der Freisetzungsumgebung bewirken "Eingebaute" Begrenzungen der Überlebensfähigkeit Wachstum/Vermehrung in Nichtzielhabitaten Beeinflussung der Population durch extreme Klimabedingungen
GENETISCHER TRANSFER	Genetische Instabilität des Empfängers	Art der Permissibilität Andere Möglichkeiten des Gentransfers	Genetische Instabilität Art der Übertragung genetischen Materials auf andere Organismen
ÜBERWACHUNG	Faktoren, die die Überwachung ermöglichen Unsicherheiten bei der Überwachung	Praktische Probleme: Überwachung wie, wo, wann	Unsicherheiten über die genetische Struktur Praktische Probleme: was, wann, wo, wie, in welchem Ausmaß Unterscheidung des GVO vom Wildtyp
ABBRUCH/BESEITIGUNG	Maßnahmen bezüglich des Konstrukts	Maßnahmen bezüglich des Empfängers	Kriterien für den Versuchsabbruch Maßnahmen für Versuchsabbruch und Beseitigung der Organismen Verbleibende lebensfähige Produkte nach Beendigung

4.1.4 U.S. Ecological Society: The Planned Introduction of Genetically Modified Organisms; Ecological Considerations and Recommendations

Die Ecological Society der Vereinigten Staaten hielt 1988 einen Workshop zu Fragen der Freisetzung ab, dessen Ergebnisse zusammengefaßt und zu einem Schema für die Risikoabschätzung ausgearbeitet wurden (TIEDJE ET AL., 1989).

Allgemeine Annahmen

- GVO sollten eher nach ihren biologischen Eigenschaften als nach der Art ihrer Erzeugung beurteilt werden. Die neuartige Möglichkeit der gentechnischen Kombination verlangt aber erhöhte Aufmerksamkeit.
- Die natürliche Selektion wirkt auf GVO wie auf alle anderen Organismen. Auch bei Einschränkung der genetischen "Fitneß" (Überlebens-, Reproduktions-, Verbreitungsfähigkeit) ist nach der Freisetzung damit zu rechnen, daß GVO in der Umwelt verbleiben.
- Ein GVO kann unter Umständen auch dann in der Umwelt verbleiben, wenn der Wildtyp bereits verschwunden ist.
- Eine lange Erfahrung im sicheren Umgang mit einem Organismus erlaubt nicht, diesen von der Regelung für Freisetzungen von GVO auszunehmen.
- Erfahrungen bei der Einführung von nichtheimischen Arten können für die Risikoabschätzung vor der Freisetzung eines GVO relevant sein.

Nach dieser Sichtweise ist die Betrachtung des Phänotyps wichtiger und die des Genotyps nur insoweit relevant, als sie für das Verständnis der Eigenschaften des Organismus für die Risiko- beurteilung von Bedeutung ist. Es ist anzunehmen, daß viele gentechnisch veränderte Organismen gegenüber ihren Ausgangsformen weniger gut überleben können. Dies muß aber nicht in jedem Fall zutreffen, beispielsweise bei veränderten Umweltbedingungen oder durch das Einfügen von Genen zur Steigerung der "Fitneß", also der Anpassung an die Umwelt.

Vor allem bei Mikroorganismen ist mit horizontalem Gentransfer zu rechnen. Diese Erscheinung ist nicht so selten, daß man ihr Auftreten vernachlässigen könnte; sie ist aber auch nicht so häufig, daß man annehmen darf, es gäbe keinen Unterschied zu Methoden der Gentechnik in bezug auf das Durchbrechen von natürlichen Artschranken.

Wenn GVO nach Beendigung des Versuchs in der Umwelt verbleiben oder wenn das gentechnisch eingeführte Merkmal auf einen anderen Organismus übergeht, ist mit Auswirkungen zu rechnen, die erst nach längerer Zeit zu beobachten sind. Daher ist eine Abschätzung der Überlebens- und Durchsetzungsfähigkeit wichtiger als die Forderung, die GVO nach Versuchsende vollständig zu entfernen.

GVO, die Auswirkungen auf die Wechselbeziehungen anderer Organismen haben, sind sehr vorsichtig zu handhaben. Da aber in mikrobiellen Ökosystemen mehrere unterschiedliche Wechselwirkungen oft zu den gleichen Effekten führen, ist anzunehmen, daß die Effekte solcher GVO in diesen Systemen meist nicht sehr bedeutsam sind.

Obwohl Schlüsse aus der Erfahrung mit landwirtschaftlich genutzten Organismen zulässig sind, garantiert eine lange Tradition der Nutzung nicht, daß in Zukunft auch die Verwendung von Organismen der gleichen Art, die aber mit Hilfe neuartiger Techniken hergestellt wurden, stets sicher sein wird.

Erfahrungen, die bei der Einführung nichtheimischer Organismen gewonnen wurden, erlauben vor allem Analogieschlüsse zur Freisetzung von GVO.

Aus Experimenten mit Organismen im Labor kann kaum auf deren Verhalten im Freiland geschlossen werden.

Risikoabschätzung (nach TIEDJE et al., 1989)

Für die Risikoabschätzung sind folgende Sachverhalte zu untersuchen:

- | | |
|--|---|
| A. Eigenschaften der genetischen Veränderung | <ul style="list-style-type: none"> • Grad der Charakterisierung (des Empfängerorganismus) • genetische Stabilität der Veränderung • Art der genetischen Veränderung (Deletion, Zahl der eingefügten Gene) • Funktion (z. B. keine, nur Regulation bereits existierender oder neuartiger Produkte) • Herkunft des Inserts (Verwandtschaft zum Empfängerorganismus) • Vektor und dessen Übertragbarkeit • Herkunft des Vektors (Verwandtschaft zu Pathogenen) • Verbleiben von Vektorsequenzen im Konstrukt |
| B. Eigenschaften des Ausgangsorganismus | <ul style="list-style-type: none"> • Grad der Domestikation • Möglichkeiten zur nachfolgenden Kontrolle • Ursprung (nichtheimisch oder einheimisch) • Vorkommen (freilebend oder pathogen, parasitär bzw. symbiotisch) • Schädlingseigenschaften (Verwandtschaft zu Schädlingen oder selbst schädigend) • Überleben unter Streßbedingungen (z. B. durch Dauerformen) • geographische Verbreitung • genetischer Austausch in natürlichen Populationen |
| C. Phänotypische Eigenschaften der GVO im Vergleich zu den Ausgangsorganismen | <p><i>Veränderung</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • der Angepaßtheit ("Fitneß") • der Infektiosität, Virulenz, Pathogenität, Toxizität • des Wirtsbereichs • der genutzten Substrate und Nährstoffquellen • der Anpassung an umweltbedingte Begrenzungen des Lebensraumes • der Resistenzen gegen Krankheit, Parasitismus, Herbivoren, Räuber • der Möglichkeit zur Kontrolle durch Antibiotika, Biozide, Substratzug, mechanische Bearbeitung • der Expression des Merkmals (in Abhängigkeit von den Eigenschaften der Umwelt) • gegenüber bereits früher untersuchten sicheren Phänotypen |

- D. Umweltbedingungen**
- Selektionsdruck für den gentechnisch veränderten Organismus
 - verwandte Wildformen in der näheren Umgebung (unschädlich, unkrautartig, schädlich)
 - Überträger, die den GVO verbreiten können und Möglichkeiten für ihre Kontrolle (Insekten, Nagetiere, Vögel, Menschen, Maschinen, Wind, Wasser)
 - direkte Beteiligung an Umweltprozessen
 - bei Symbiosen: alternative Partner (Wirte)
 - zugängliche ökologische Nischen
 - Möglichkeit zur Simulation der Versuchsbedingungen
 - öffentliche Zugänglichkeit des Versuchsgeländes
 - Effizienz von Überwachungs-
 - und Notfallmaßnahmen

4.1.5 U.S. National Research Council: Field Testing of Genetically Modified Organisms: Framework for Decisions

Das amerikanische National Research Council formulierte 1989 einen Rahmen für die Beurteilung von Freisetzungen (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989, siehe auch SMIT et al., 1992) insbesondere von Mikroorganismen mit folgenden grundlegenden Kriterien:

- "Vertrautheit" mit dem Organismus und der Umwelt, in der die Freisetzung stattfinden soll,
- effiziente Möglichkeiten zur Begrenzung und Kontrolle der Organismen,
- mögliche Auswirkungen, wenn der freigesetzte Organismus oder das genetische Material in der Umwelt verbleibt oder auf Nichtzielorganismen übertragen wird.

Für die Risikoabschätzung orientierte man sich an der Vorgangsweise, wie sie für die Abschätzung von Gesundheitsrisiken toxischer Chemikalien entwickelt wurde, die auf den Richtlinien der amerikanischen EPA basiert (STRAUSS et al., 1985). Die Reihenfolge der Schritte einer Risikoabschätzung ist demnach:

- Identifizierung des Risikos (hazard identification),
- Abschätzung der Exponierung (exposure assessment),
- Beurteilung der Wirkung in Abhängigkeit von der Menge, der man ausgesetzt ist (dose-response assessment),
- Risikobeschreibung (Quantifizierung des Risikos).

Auch das Prinzip der "Vertrautheit" geht mit ein. Danach ist keine weitere Risikoabschätzung für Mikroorganismen nötig, wenn es ausreichende Erfahrungen im sicheren Umgang gibt, insbesondere in der beabsichtigten Verwendung und am Ort der Freisetzung. Die Bedeutung "Vertrautheit" wird hier also sehr weit interpretiert, in einem Maße, das in Europa derzeit wahrscheinlich nicht akzeptabel wäre.

Auf die Quantifizierbarkeit der Aussagen (Risikobeschreibung) wird größter Wert gelegt, auch bei den folgenden zur Risikoabschätzung notwendigen Informationen:

- Überlebensrate,
- Eigenschaften des eingeführten Gens (oder allgemeiner des "heterologen Elements"),
- Lokalisierung und die Übertragung des "heterologen Elements" (durch Transduktion, Transformation, Konjugation, Transposition),
- Auswirkungen auf das Ökosystem, in das der Organismus freigesetzt wird.

Ordnet man mögliche unerwünschte Auswirkungen der Freisetzung von Mikroorganismen nach ihrer Schädlichkeit, ergibt sich nach diesen Richtlinien folgende (absteigende) Reihenfolge:

- Pathogenität für Mensch, Tier oder Pflanze,
- Störung des ökologischen Gleichgewichts,
- Verursachung unerwünschter biochemischer Reaktionen,
- Mobilisierung toxischer Produkte,
- Beeinflussung der Verschiedenartigkeit der ökologischen Lebensgemeinschaft,
- Dominanz über natürlich vorkommende Mikroorganismen,
- Ausbreitung heterologer Gene,
- Beeinflussung des Kohlenstoff- oder Stickstoff-Kreislaufs.

Allerdings gehen in eine solche Reihung Bewertungskriterien ein, die nicht für jede Anwendung die gleichen sein müssen. Es ist also deutlich zwischen Risikoabschätzung und -bewertung zu unterscheiden. Mit einer wertenden Reihenfolge unerwünschter Auswirkungen wird diese Grenze überschritten. Damit gehen diese amerikanischen Richtlinien deutlich über die EG-Richtlinie 90/220 hinaus, die einzig die Risikoabschätzung zum Inhalt hat. Das Konzept des National Research Councils hat wesentlich die Überarbeitung der amerikanischen Richtlinien beeinflusst, die (nach der Diskussion der europäischen Regelungen) weiter unten in diesem Kapitel kurz dargestellt werden.

4.2 RICHTLINIEN UND GESETZLICHE REGELUNGEN

Aufbauend auf wissenschaftlichen Konzepten zur Risikoabschätzung wurden in den meisten Industrieländern Regelungen für die Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen erlassen, meist in Form von Adaptierungen bestehender oder eigens geschaffener Gesetze. Für alle EWR-Länder wird die *EG-Richtlinie 90/220* bindend, daher wird auf diese ausführlicher eingegangen.

Diese Richtlinie ist inhaltlich von den einzelnen Mitgliedsländern umzusetzen. Die EG-Länder haben dies bereits getan oder sind dabei, ein Beispiel für die Umsetzung wird mit der *britischen Regelung* und Vorgangsweise bei der Risikoabschätzung vorgestellt. Auf *andere EG-Länder* und Besonderheiten ihrer Freisetzungsregelungen wird in der Folge kurz eingegangen.

Zwei sehr unterschiedliche Philosophien vertreten die *EFTA-Länder Norwegen und Schweiz*. Während Norwegen neben der Abschätzung des unmittelbaren Risikos auch das Prinzip der "nachhaltigen Entwicklung" als Kriterium für die Beurteilung von Freisetzungsversuchen heranzieht, verfolgte die Schweiz bisher eher eine Politik der möglichst wenig aufwendigen Regelung, geriet damit aber in Probleme bei der Kompetenzbestimmung.

Die größte Erfahrung mit Freisetzungen besitzen die USA. Die dortigen Regelungen unterscheiden sich grundsätzlich von denen in Europa, indem GVO keinen andersgearteten Bestimmungen unterworfen werden sollen als andere Organismen. Daher finden sich auf GVO anwendbare Bestimmungen in einigen Materiegesetzen, für die unterschiedliche Behörden zuständig sind. Im Mittelpunkt steht überall die Risikoanalyse nach wissenschaftlichen Gesichtspunkten.

Schließlich wird auf die australischen Regelungen eingegangen, die allgemeine Bestimmungen für GVO mit speziellen Regeln für bestimmte Anwendungsbereiche verbinden und daher der Forderung aus den drei österreichischen Arbeitsgruppen (Kapitel 2) nach speziellen Anmeldebestimmungen für Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere nahekommen.

4.2.1 Regelung in der EG: Die Freisetzungsrichtlinie 90/220

Mit den beiden Richtlinien für das geschlossene System (90/219, RAT DER EG, 1990a) und für die Freisetzung (90/220, RAT DER EG, 1990b) vereinheitlichte die EG den Umgang mit gentechnisch veränderten Organismen gemeinschaftsweit. Die Richtlinien sollten für alle GVO verbindlich sein, unabhängig von ihrer Verwendung, die einzelnen Materieregelungen gelten zusätzlich. Als Freisetzung wird jeder Umgang mit GVO außerhalb eines geschlossenen Systems angesehen (ausgenommen Transporte).

Die "Richtlinie des Rates vom 23. April 1990 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt" geht davon aus, daß Freisetzungen irreversible schädliche Wirkungen haben *können*. Außerdem werden GVO nicht durch nationale Grenzen aufgehalten. Die Richtlinie sieht daher eine allgemeine Genehmigungspflicht für Freisetzungen von Organismen vor, die mit Hilfe gentechnischer Verfahren (die im Anhang I der Richtlinie aufgelistet werden) hergestellt wurden. Vor jeder Freisetzung ist von der zuständigen Behörde eine Risikoabschätzung nach Kriterien durchzuführen, die im Anhang II der Richtlinie aufgeführt sind. Jede Freisetzung muß einzeln begutachtet werden ("Fall-zu-Fall-Prinzip"), dazu haben Freisetzungen in abgestufter Weise zu erfolgen ("Stufenprinzip"), das heißt, daß die Ergebnisse aus einem Freisetzungsversuch in kleinem Maßstab vorliegen müssen, bevor ein solcher in großem Maßstab und schließlich das Inverkehrbringen genehmigt werden kann. Es besteht aber die Möglichkeit, in einzelnen begründeten Fällen von diesen Prinzipien abzuweichen.

Die Informationen aus dem Anhang II können einem Gremium aus Fachleuten vorgelegt werden, das die Behörden in ihrer Entscheidung berät. De facto gibt es ein derartiges Gremium in jedem Land, das die Richtlinie implementiert hat, in etwas unterschiedlicher Form; die jeweiligen Behörden berücksichtigen weitestgehend deren Empfehlungen. Binnen 90 Tagen hat die Behörde die Entscheidung dem Antragsteller mitzuteilen, wobei aber Fristen, die für die Einholung zusätzlicher Informationen notwendig sind, nicht eingerechnet werden. In dieser Zeit kann auch eine öffentliche Anhörung stattfinden.

Die Ergebnisse der Risikoabschätzung und die Entscheidung der Behörde wird den anderen EG-Mitgliedsländern mitgeteilt, die den Antrag begutachten und eventuelle Bemerkungen anbringen können.

Die Richtlinie unterscheidet zwischen Freisetzungen für Forschungs- und Entwicklungszwecke und dem Inverkehrbringen von Produkten, die aus GVO bestehen oder solche enthalten. Diese bedürfen ebenfalls der Genehmigung von Fall zu Fall und müssen nach den Kriterien des Anhang II untersucht werden. Darüber hinaus gibt es einige zusätzliche Anforderungen, die im Anhang III enthalten sind. Die zuständige Behörde muß die Behörden der anderen EG-Länder informieren; diese können Einwendungen erheben. Wird das Inverkehrbringen eines Produktes in einem Land genehmigt, gilt dies für den gesamten EG-Raum.

Die Richtlinie 90/220 stellt einen Rahmen dar und sollte bis Anfang 1992 in die nationalen Gesetze implementiert sein, hierfür gab die EG-Kommission eine Anleitung heraus (EG-KOMMISSION, 1992a). Diese Frist wurde allerdings nur von wenigen Staaten eingehalten (Dänemark, Deutschland und die Niederlande; Frankreich und Großbritannien setzten die Richtlinie mit einiger Verzögerung um; Irland und Italien haben Rahmengesetze; Belgien, Griechenland, Luxemburg, Portugal und Spanien haben noch keine gesetzlichen Bestimmungen). Eine Aufstellung der derzeit gültigen Gesetze und Verordnungen in den einzelnen Mitgliedsländern sowie der relevanten EG-Dokumente wird vom Joint Research Centre der EG-Kommission zusammengestellt (v. d. EEDE, 1992).

In letzter Zeit wurden jedoch einige Richtlinien erlassen oder vorbereitet, die den Umgang mit GVO im Zusammenhang mit Materieregelungen betreffen (Übersicht über derzeitige und geplante Regelungen siehe SHACKLEY UND HODGSON, 1991). Hierzu gehört die Pestizidrichtlinie, die die Genehmigung neuartiger Pflanzenschutzmittel regelt, auch solcher, die aus gentechnisch veränderten Bakterien oder Viren bestehen (RAT DER EG, 1991a). Um in die Liste der genehmigten Pflanzenschutzmittel aufgenommen zu werden, müssen sie aber die Kriterien des Anhangs II der Freisetzungsrichtlinie 90/220 erfüllen. Ein Vorschlag der EG-Kommission für eine Richtlinie über neuartige Lebensmittel vom Juli 1992 sieht vor, daß u. a. auch Lebensmittel, die aus gentechnisch veränderten Organismen (oder Teilen davon) hergestellt wurden, daraus bestehen oder solche enthalten, als "neuartig" eingestuft werden. Diejenigen Lebensmittel, die GVO enthalten oder aus diesen bestehen, müssen im Einklang mit den Kriterien des Anhangs II der Freisetzungsrichtlinie geprüft werden (EG-KOMMISSION, 1992c). Letztere behält also inhaltlich ihre Gültigkeit, auch wenn ihre Bedeutung für alle Formen von Freisetzungen und das Inverkehrbringen von GVO abzunehmen scheint.

Die für die Risikoabschätzung anzugebenden Informationen werden sehr ausführlich und detailliert dargelegt und können auch solche betreffen, die dem Antragsteller aus wissenschaftlichen oder kommerziellen Wettbewerbsgründen schutzwürdig erscheinen. Einige Angaben des Antragstellers können vertraulich behandelt werden, die wesentlichsten Daten müssen aber öffentlich zugänglich sein. Diese letzte Bestimmung hat in einigen Ländern (Großbritannien, Frankreich) zu Schwierigkeiten geführt, weil sie der dortigen Verwaltungspraxis widerspricht. In anderen (Dänemark, den Niederlanden) wurde von jeher mehr Wert auf Transparenz im Verwaltungsablauf gelegt, sodaß hierbei weniger Probleme auftraten.

Die anzugebenden Informationen sollen so genau sein, daß eine Risikoabschätzung sinnvoll durchzuführen ist. Da dieselben Kriterien für alle Freisetzungen gelten sollen, ist der Anhang II sehr ausführlich; von Fall zu Fall sind diejenigen Kriterien auszuwählen, die für die betreffende Freisetzung relevant erscheinen. Hierdurch ist es in einigen Fällen zu unterschiedlichen Auffassungen zwischen Behörden und Antragstellern gekommen, was für den betreffenden Fall relevant sei und daher in einem Antrag auf Freisetzung angegeben werden müsse. Auch die Genauigkeit und das Ausmaß der anzugebenden Informationen ist zuweilen nicht ganz klar; es gibt Fachleute, die meinen, daß eine genaue Angabe, insbesondere der vermuteten Auswirkungen auf die Umwelt, nach derzeitigem Wissensstand unmöglich sei (z. B. BACKHAUS, in: UMWELT-BUNDESAMT, 1992).

Der Wortlaut des Anhangs II (entnommen aus RAT DER EG, 1990b) ist im Anhang dieser Studie angeführt.

4.2.1.1 Umsetzung der Richtlinie 90/220 in Großbritannien

Eine mögliche Vorgangsweise bei der Beurteilung von GVO und Interpretation der EG-Richtlinie 90/220 zur Freisetzung soll im folgenden beispielhaft anhand der britischen Regelung dargestellt werden. Großbritannien wurde deswegen anderen EG-Ländern für die vorliegenden Untersuchung vorgezogen, weil

- einige EG-Länder noch keine gesetzliche Regelung der Freisetzung von GVO besitzen und bisher offenbar keine Risikobeurteilungen für Freisetzungen durchgeführt haben (s. o.),
- Belgien zwar die meisten Freisetzungen in Europa genehmigt hat, dies aber ohne eine explizite gesetzliche Grundlage für die Beurteilung,
- Deutschland und Dänemark bei Freisetzungen bisher sehr restriktiv waren, daher über geringe Erfahrungen bei der Beurteilung verfügen und die Beurteilungspraxis nicht unumstritten ist,
- Frankreich wie Belgien zahlreiche Freisetzungen genehmigte, die Risikobeurteilung aber jeweils sehr spezifisch von der Arbeit in der Beurteilungskommission abzuhängen scheint und wenig Information über die Beurteilungspraxis zu erhalten ist,
- die Niederlande, in denen ebenfalls etliche Freisetzungen stattfanden, sich eng an den Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 halten, so daß relativ wenig neue Erkenntnis aus der Untersuchung der niederländischen Vorgangsweise zu erwarten wäre,
- Großbritannien bereits lange vor dem Inkrafttreten der EG-Richtlinie ein funktionierendes Begutachtungssystem besaß und außerdem einige Anstrengungen im Bereich der Sicherheitsforschung bei Freisetzungen unternommen hat (siehe den Abschnitt über "GENHAZ" in diesem Kapitel, auch CRAWLEY, 1992), außerdem waren Vorgangsweise bei Risikoabschätzungen und die damit verbundenen Schritte stets festgelegt und dokumentiert (ADVISORY COMMITTEE ON GENETIC MODIFICATION (ACGM), 1990b). Die neuen Regeln bauen in der Praxis der Risikobeurteilung stark auf die bisherigen auf.

Im Jahre 1989 traten die *Genetic Manipulation Regulations* unter dem "Health and Safety at Work etc."-Act in Kraft. Diese sahen für Arbeiten mit GVO (auch für Freisetzungen) eine Anmeldung beim Health and Safety Executive (HSE) (HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE, 1989) vor. Um eine Anpassung an die EG-Richtlinien zu erreichen, wurden diese Bestimmungen überarbeitet. In diesem Zusammenhang wurde vor allem bei Freisetzungsversuchen mehr Gewicht auf die Beurteilung ökologischer Aspekte gelegt. *The Genetically Modified Organisms (Environmental Protection) Regulations* und *The Genetically Modified Organisms (Health and Safety) Regulations* (siehe HEALTH AND SAFETY COMMISSION (HSC), 1992) sollen die EG-Richtlinien 90/220 und 90/219 umsetzen; sie ersetzen die vorangegangenen Richtlinien und regeln die Arbeiten mit GVO umfassend (über die Freisetzungspraxis bis 1990 siehe BERINGER, 1991).

Für Freisetzungen ist das Department of Environment (DOE) zuständig, für Arbeiten im geschlossenen System das HSE. Es gibt ein gemeinsames Koordinationsbüro beider Ministerien, das der beratenden Kommission zuarbeitet und als gemeinsamer "Briefkasten" für die Antragsteller fungiert. Der Vollzug des Gesetzes obliegt den HSE-Inspektoren, deren Funktion in etwa dem des österreichischen Arbeitsinspektorats bzw. der Lebensmittelpolizei entspricht.

Die beratende Kommission für Freisetzungen ist das *Advisory Committee on Releases to the Environment (ACRE)*. Ihre Kommentare zur Regulierung und zu Anträgen werden von der Behörde berücksichtigt; die Kommission ist aber nicht entscheidungsberechtigt. ACRE besteht aus Fachleuten, von denen je ein Drittel von Regierung, Industrie und Gewerkschaft nominiert werden, dazu kommen einige Fachleute für bestimmte Gebiete.

In Übereinstimmung mit der EG-Regelung muß die Öffentlichkeit informiert werden, hierzu gibt es öffentlich zugängliche Register. Freisetzungen müssen (wie überall in der EG) mindestens 90 Tage vor Beginn angemeldet werden. Für die Behandlung von Anträgen gibt es keine Fristsetzung, ein Zeitraum von mindestens einem Monat ist aber üblich.

Anmeldung einer Freisetzung

Das ACGM (ACGM, 1990b) hat zusammen mit der HSE eine Richtlinie zur Freisetzung von GVO erarbeitet. Danach ist für die Anmeldung ein sogenanntes *Interdepartmental Proposal Form* zu verwenden und an das gemeinsame Koordinationsbüro des DOE und HSE zu richten. Die geforderten Informationen entsprechen inhaltlich den EG-Richtlinien, die Fragen sind aber etwas anders abgefaßt. Der Antragsteller muß ein lokales *Genetically Modification Safety Committee (GMSC)* (ADVISORY COMMITTEE ON GENETIC MODIFICATION (ACGM), 1990a) kontaktieren oder, wenn es noch keines gibt, eines bilden, das sich mit der lokalen Umweltbehörde in Verbindung setzt. Der Local Environmental Health Officer, eine Einrichtung des britischen Gesundheitsdienstes, ist auch im GMSC vertreten.

Ausgehend von den Informationen im Freisetzungsantrag soll der Antragsteller selbst eine Risikoabschätzung durchführen, wobei abwägende Antworten einfachen ja/nein-Entscheidungen vorgezogen werden sollten (siehe Beschreibung von GENHAZ in diesem Kapitel).

Angaben, die in einem Freisetzungsantrag enthalten sein müssen

Das *Interdepartmental Proposal Form* fordert zunächst Angaben, um was für einen Organismus es sich handelt, und eine kurze Zusammenfassung des geplanten Experiments und der damit verfolgten Ziele. Die Angaben für die Risikoeinschätzung umfassen:

I. ORGANISMUS UND NEUES GENETISCHES MATERIAL

1. Art des Organismus (Spezies, Wirtsbereich, Pathogenität für Mensch, Tier, Pflanze oder Mikroorganismen)
2. Angaben, wie die genetische Information eingefügt wurde
3. Art der veränderten DNA und ihre Herkunft, beabsichtigte Funktion und Genauigkeit der Charakterisierung
4. Spätere Verteilung der rekombinanten DNA (Gentransfer)
5. Überprüfung der genetischen Struktur des neuen Organismus
6. Genetische Stabilität des neuen Organismus
7. Die Fähigkeit des neuen Organismus zur Bildung von Überdauerungsformen, Samen und Einfluß der Fremd-DNA auf diese Fähigkeit

II. FREISETZUNG UND ÜBERWACHUNG

1. Angaben über die geographische Lage, Größe und Art des Freisetzungsorts (z. B. Katasterangabe)
2. Physische und biologische Nähe zu Menschen oder wichtigen Ökosystemen. (z. B. öffentliche Wege, Wasserwege)

3. Details über die Zielökosysteme, in die der Organismus freigesetzt wird und vorhersehbare Effekte auf diese
4. Bei Pestiziden: Angaben über die Zielorganismen
5. Angaben über die Menge, die Häufigkeit und die Dauer der Anwendung
7. Möglichkeiten und Absichten zur Überwachung (einschließlich Dauer).

III. ÜBERLEBEN UND AUSBREITUNG

Beurteilung der Umweltauswirkungen der Freisetzung, einschließlich

1. Überleben und Überdauern des neuen Organismus
2. Empfindlichkeit gegen Temperatur, Feuchtigkeit, Trockenheit, UV-Bestrahlung und andere ökologische Belastungen
3. Einzelheiten über Veränderungen des Organismus, die Einfluß auf die Fähigkeit des Organismus zum Überleben oder zum Transfer genetischen Materials haben
4. Möglichkeiten zur Übertragung fremden genetischen Materials auf andere Organismen einschließlich von Methoden, das Überleben und die Übertragung zu überwachen
5. Methoden zur Kontrolle und Beseitigung aller unerwünschten Organismen oder Nukleinsäuren, die in der Umwelt oder in einem Produkt überdauern
6. Abschätzung der Effekte der Veränderung auf das ökologische Verhalten des Organismus in seiner natürlichen Umgebung.

IV. SICHERHEITSVORKEHRUNGEN/NOTFALLPLÄNE

1. Einzelheiten des Arbeitsschutzes oder Sicherheitsmaßnahmen am Freisetzungsort
2. Notfallpläne im Fall von unvorhergesehenen Effekten des neuen Organismus
3. Physikalische Begrenzungsmaßnahmen
4. Methoden zur Beendigung des Versuchs.

Risikoabschätzung

Der Antrag wird von der Behörde einer ersten Begutachtung unterzogen, wobei die möglicherweise strittigen Punkte besonders herausgehoben werden (BERINGER, pers. Mitt.) und an das ACRE weitergeleitet. Inzwischen traten neue Regelungen in Kraft, die eine Angleichung an die EG-Regulierung ermöglichen. Es ist aber, abgesehen von einer stärkeren Betonung ökologischer Probleme, offensichtlich in der Praxis zu keiner grundlegenden Änderung der Beurteilung gekommen ist (P. HIRSCH, pers. Mitt.). Das ACRE ging bisher bei der Beurteilung von Anträgen nach einer Liste von elf Kernfragen vor, die jeweils mehrere "points to consider" enthalten. Dieses Beurteilungsschema wurde bereits anlässlich der Besprechung des Beispiels "Rhizobium leguminosarum mit einem Markergen" vorgestellt (siehe Kapitel 2.2.4.3).

Nach einem Vorschlag vom August 1992 soll die eigentliche Risikoabschätzung in mehrere Stufen aufgeteilt werden, die jeweils begründet beurteilt werden (HSC, 1992). Das Gesamtrisiko wird aus den Einzelrisiken zusammengesetzt, wobei darauf geachtet wird, diese jeweils durch geeignete Maßnahmen möglichst gering zu halten.

- 1. Beurteilung der Einzelrisiken** Um das mögliche Gesamtrisiko zu beurteilen, werden meist fünf Risikobereiche untersucht, nämlich:
1. die Möglichkeiten für eine Übertragung genetischen Materials zwischen dem GVO und anderen Organismen,
 2. die phänotypische und genetische Stabilität,
 3. die Pathogenität,
 4. Möglichkeiten für das Überleben, die Etablierung und Verbreitung,
 5. andere negative Effekte auf Organismen (Ziel- und Nichtzieleffekte).
- Für jedes Risikogebiet sind die relevanten Eigenschaften des Organismus zu beurteilen. Normalerweise genügt es, die jeweiligen Eigenschaften des Spender-, Empfänger- und des gentechnisch veränderten Organismus zu betrachten.
- 2. Beurteilung der Umweltbeeinflussung** Im nächsten Schritt werden klimatische und geographische Eigenschaften sowie Flora und Fauna, die für die Freisetzung bedeutsam sein könnten, im Hinblick auf die fünf Risikogebiete beurteilt.
- 3. Einschätzung der Größenordnung der Gefahren und des Risikos** Einerseits sind Ausmaß und Schwere der Auswirkungen zu beurteilen, wenn das jeweilige unerwünschte Ereignis eintreten sollte, andererseits muß dessen Wahrscheinlichkeit oder die Häufigkeit des Eintretens eingeschätzt werden. Dies ist abhängig von den Eigenschaften und der Menge der GVO sowie davon, wie oft und wie lang die GVO die Umwelt beeinflussen können, hängt also mit Größe und Zweck der Freisetzung zusammen.
- 4. Beurteilung der Höhe des Risikos** Jedes einzelne Risiko ist insgesamt einzuschätzen (in hoch, mittel, gering oder vernachlässigbar) und daraufhin zu untersuchen, ob es so gering wie möglich ist oder ob das Risiko für die Umwelt nicht durch geeignete Maßnahmen (die "beste verfügbare Technik, die keine übermäßigen Kosten verursacht") vermindert werden könnte. Dieser Vorgang ist nach Einführung einer solchen Maßnahme zu wiederholen.
- 5. Zusammenfassende Risikoabschätzung** Jedes Einzelrisiko ist abschließend zu beurteilen und geht in eine Gesamtabschätzung ein. Unter der Voraussetzung, daß die bestmögliche Technik zu vertretbaren Kosten ("Best Available Technique Not Entailing Excessive Cost, BAT-NEEC") gewählt wurde, um die Gefahren für die Umwelt so gering wie möglich zu halten, wird so das Gesamtrisiko für die Freisetzung angegeben. Eine zusammenfassende schematische Darstellung findet sich am Ende des Kapitels 5.

Monitoring

Monitoringmaßnahmen (siehe Kapitel 3) werden nach Absprache mit dem Antragsteller festgelegt. Richtlinien sind in Arbeit, in denen das Monitoring unterteilt wird in

- Monitoring vor Beginn des Versuchs, um beispielsweise die vorhandene Fauna und Flora in der betreffenden Umgebung zu beschreiben;

- Monitoring während des Versuchs, um Persistenz und Verbreitung des Organismus oder des genetischen Merkmals zu verfolgen;
- Monitoring nach der Freisetzung, um zu prüfen, ob GVO oder genetische Merkmale im Testgelände oder Umfeld verblieben sind oder ob Gentransfer stattgefunden hat.

Großbritannien hat damit ein Regelwerk, daß die EG-Richtlinie 90/220 vollinhaltlich berücksichtigt, ohne sich bei der Risikoabschätzung an deren Wortlaut (im speziellen den des Anhangs II) zu halten. Dies erklärt sich wohl aus der bisherigen Erfahrung mit der Risikobeurteilung von GVO. Desgleichen wird eine systematische Vorgangsweise für die Risikoabschätzung und -reduktion festgelegt, etwas, was in der EG-Richtlinie nicht enthalten ist und eher an amerikanische Regelungen erinnert. Diese Vorgangsweise enthält ein Prinzip, das besondere praktische Bedeutung hat, nämlich diejenige Technik anzuwenden, die mit dem geringstmöglichen Einsatz von Mitteln die größte Risikoreduktion bewirkt, sofern die Möglichkeit hierfür besteht. Um dies zu beurteilen, müssen sowohl die Größe als auch die Wahrscheinlichkeit der einzelnen Risiken abgeschätzt werden. Diese systematische Analyse verhindert, daß "gewohnte" Risiken übersehen oder zu gering eingeschätzt werden, daß aber auch "spektakuläre" Risiken mit sehr geringer Eintrittswahrscheinlichkeit in den Vordergrund treten.

4.2.1.2 Regelung in Dänemark

Dänemark war 1986 das erste Land in Europa, das ein Gesetz zur Regelung der Gentechnologie verabschiedete. Freisetzungen bedurften einer Sondererlaubnis. Nach der Novellierung (DANSK FOLKETING, 1991) ist die Freisetzung von GVO nach der EG-Richtlinie 90/220 antragspflichtig, für die Freisetzung von transgenen Tieren gilt weiterhin ein grundsätzliches Verbot; es kann nur in Ausnahmefällen vom Umweltminister aufgehoben werden. Das Gesetz legt einen Rahmen fest, der durch etliche Verordnungen ausgefüllt wird.

Zuständige Behörde ist das *Umweltministerium*, beratende Kommission der *Umweltbeschwerdeausschuß*, bei dem auch Beschwerden gegen Entscheidungen eingebracht werden können. Dessen Mitglieder werden von Industrie-, Gewerbe- und Landwirtschaftskammer und verschiedenen, die Regierung beratenden Beiräten vorgeschlagen, zusätzlich werden Sachverständige für bestimmte Fragen angehört. Diese Kommission ist also keine reine Expertenrunde. Diese Konstruktion ist aus der für Dänemark spezifischen Tradition des volksanwaltschaftlichen Systems entstanden, das die Beteiligung der Öffentlichkeit gewährleistet. Die Geheimhaltung von Daten ist auf ein Minimum beschränkt, grundsätzlich sind Dokumente der Behörden in fast allen Belangen für jeden Bürger einsehbar.

Die Dänen haben nach der "Eurobarometer"-Umfrage (MARLIER, 1992) einen hohen Wissensstand, aber auch ein großes Risikobewußtsein in bezug auf die Gentechnologie. Die anfängliche Ablehnung hat sich aber offensichtlich in letzter Zeit in eine weitgehende Akzeptanz umgewandelt, wohl nicht zuletzt durch zahlreiche Anstrengungen zur Technikfolgen-Abschätzung, die in Dänemark eine große öffentliche Resonanz hatten. Desgleichen hat sich die weitgehende Offenheit und Datenfreigabe in dieser Hinsicht bewährt.

4.2.1.3 Regelung in Deutschland

Die deutsche Auseinandersetzung über Fragen der Gentechnik war besonders hart. Die Ergebnisse der parlamentarischen Enquete-Kommission "Chancen und Risiken der Gentechnik" (CATTENHUSEN UND NEUMEISTER, 1987) dienten als Ausgangspunkt für das schließlich im Jahre 1990 in Kraft getretene *Gentechnikgesetz*, das die EG-Richtlinien teilweise vorwegnahm (DEUTSCHER BUNDESTAG, 1990). Zahlreiche Verordnungen regeln den gesamten Bereich sehr eingehend. Einige Bestimmungen gehen über die Rahmenbedingungen der EG-Richtlinien hinaus, etwa

- die detaillierte Regelung zur Verwendung von Unterlagen Dritter im Zuge der Antragstellung,
- das obligate Anhörungsverfahren, u. a. für Freisetzungsversuche mit Organismen, deren "Ausbreitung nicht begrenzt" ist,
- ein Abwägen des Nutzens gegen das mögliche Risiko bei Freisetzungen,
- weiters z. B. die Ursachenvermutung im Haftungsfall, die besagt, daß im Schadensfall die Ursache in den neuen Eigenschaften des GVO vermutet wird, solange nicht das Gegenteil erwiesen ist.

Eine Besonderheit auch ist die aufgeteilte Zuständigkeit, die für das geschlossene System bei den Bundesländern liegt und somit je nach Landesrecht unterschiedlich ist. Für Freisetzungen und Inverkehrbringen ist die Zulassungsbehörde das *Bundesgesundheitsamt*, bei dem auch die *Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS)* eingerichtet wurde. Sie setzt sich zusammen aus zehn Sachverständigen, darunter auch Vertreter der Gewerkschaften, der Wirtschaft, des Umweltschutzes. Die Kommission prüft und bewertet ausschließlich sicherheitsrelevante Fragen. Freisetzungsgenehmigungen erfordern das Einvernehmen mit der *Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA)*, dem *Umweltbundesamt (UBA)* und im Falle der Freisetzung von Tieren mit der *Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere (BAVT)*, außerdem eine Stellungnahme der zuständigen Landesbehörde und die Anhörung der Öffentlichkeit.

Das deutsche Gentechnikgesetz wurde von der EG-Kommission in mehreren Punkten kritisiert, weil ihrer Meinung nach einige Regelungen fehlen oder nicht den EG-Richtlinien entsprechen. Die für Freisetzungen relevanten Kritikpunkte betreffen im wesentlichen

- das im deutschen Gentechnikrecht bei Freisetzungen vorgesehene Abwägen des Risikos gegen den erwarteten Nutzen,
- fehlende Bestimmungen für Maßnahmen, wenn sich nach erfolgter Freisetzung herausstellt, daß Gefahr für Mensch oder Umwelt besteht;
- fehlende Bestimmungen über Zulassungsbeschränkungen für das Inverkehrbringen auf bestimmte Ökosysteme.

Aus diesen Unstimmigkeiten und wegen der heftigen Kritik vor allem von Seiten der Forschung und Industrie sprechen mehrere Anzeichen dafür, daß es in Deutschland demnächst zu einer Novellierung des Gentechnikgesetzes kommen wird. Insbesondere die (für das geschlossene System nach Bundesländern unterschiedliche) Behördenpraxis wird bemängelt. Freisetzungen wurden, obwohl bundeseinheitlich geregelt, bis 1993 kaum durchgeführt, nicht zuletzt wegen der starken Ablehnung durch engagierte Kritiker, die sich in öffentlichen Anhörungen manifestierte. Auch diese Regelung wird daher von vielen Wissenschaftlern und Vertretern der Industrie abgelehnt, von Umweltschutzorganisationen aber verteidigt. Im Jahre 1993 kam es zu einigen Freisetzungen, es bleibt abzuwarten, wie sich die öffentliche Einschätzung diesbezüglich entwickeln wird.

4.2.1.4 Regelung in Frankreich

Im Jahre 1992 wurden die EG-Richtlinien 90/219 (geschlossenes System) und 90/220 (Freisetzung) mit dem Gesetz zur *Kontrolle der Verwendung und der Ausbreitung genetisch veränderter Organismen* auf der Basis des Umweltschutzgesetzes implementiert (ASSEMBLÉE NATIONALE, 1992). Zuständige Behörde für Forschungsarbeiten im geschlossenen System ist das Wissenschafts-, für Freisetzungen das *Landwirtschaftsministerium*.

Für Freisetzungen und das Inverkehrbringen ist die *Commission d'étude de la dissémination des produits issus de génie biomoléculaire* (neben der Commission pour la Hygiène Publique) zuständig. Sie wurde bereits 1986 vom Landwirtschaftsministerium gegründet und erteilt Genehmigungen für Arbeiten mit GVO in der Landwirtschaft und bei der Nahrungsmittelherstellung (DIRECTORATE GENERAL FOR FOOD, 1992). Die Kommission besteht aus 15 Mitgliedern; mindestens die Hälfte sind wissenschaftliche Fachleute, ein Mitglied kommt aus dem parlamentarischen Amt für Wissenschafts- und Technologie-Bewertung. Weiters finden sich Vertreter des Konsumentenschutzes, von Berufsorganisationen und Gewerkschaften.

Die Kommissionen berufen sich auf die Arbeiten des französischen Normungsinstituts (AFNOR). Die einlangenden Anträge werden einer ersten Begutachtung unterworfen, der Antragsteller wird aufgefordert, einen externen Gutachter aus einer Liste von drei vom Komitee vorgeschlagenen Fachleuten auszuwählen und mit diesem den Antrag durchzugehen. Dieser Gutachter trägt dem Plenum den Antrag samt seiner eigenen Bewertung vor, zwei interne Mitglieder der Kommission kommentieren den Antrag in Abwesenheit des Antragstellers. Nach nichtöffentlicher Diskussion wird eine Stellungnahme mit Vorschlägen zur Überarbeitung oder einer Genehmigung an den Antragsteller verschickt.

Angaben, die nicht als vertraulich gelten dürfen, entsprechen den in der EG-Richtlinie angeführten, ausgenommen sind Fragen der Landesverteidigung. Die teilweise Aufhebung der bei französischen Behörden üblichen Vertraulichkeit schien, wie in Großbritannien, ein Hindernis für die volle Implementierung der EG-Richtlinien (P. v. d. MEER, pers. Mitt.) darzustellen.

Die Anforderungen, die in Frankreich an die genaue molekulare Charakterisierung des genetischen Konstrukts gestellt werden, sind sehr hoch. So darf im Prinzip kein Nukleotid im Konstrukt vorhanden sein, dessen Funktion nicht geklärt ist (A. Kahn, Vortrag beim OECD-Workshop, Versailles 1992, siehe OECD, 1992c), außerdem soll die genaue Position des eingeführten Gens auch bei Pflanzen bestimmt werden. Diese Forderung geht deutlich über jene hinaus, die in anderen EG-Ländern und insbesondere in den USA an solche Konstrukte gestellt werden, da der Aufwand für solche Untersuchungen sehr hoch ist, der Sicherheitsgewinn aber in Zweifel gestellt wird. Dennoch wurden in Frankreich zahlreiche Freisetzungen, vor allem von transgenen Nutzpflanzen, durchgeführt.

4.2.1.5 Regelung in den Niederlanden

Die Niederlande besitzen seit 1990 eine gesetzliche Regelung zu Fragen der Gentechnik, allerdings wurde es nicht für notwendig gehalten, ein eigenes Gesetz zu schaffen, sondern der *Chemical Substances Act* (NIEDERLÄNDISCHES PARLAMENT, 1990) und der *Nuisance Act* (NIEDERLÄNDISCHES PARLAMENT, 1991) wurden entsprechend ergänzt. Diese einfache Vorgangsweise wurde durch die Definition von Nukleinsäuren als chemische Substanzen möglich. Dadurch kommen die Bestimmungen des Chemikaliengesetzes automatisch zum Tragen und müssen

für GVO nicht neu formuliert werden. Neben der Adaptierung der genannten Gesetze war eine Harmonisierung mit dem Working Conditions Act, dem Commodities Act, der die Überwachung von GVO regelt, der Verordnung für landwirtschaftliche Qualitätskontrolle und der Verordnung für Abfallstoffe notwendig. Im Falle der Freisetzung mußten zusätzlich die Regelungen für den Saatgutverkehr, den Tierschutz, den Pflanzenschutz und für Tierfutter angepaßt werden.

Die niederländische Regelung stellt das Paradebeispiel für die Umsetzung der EG-Richtlinien dar, sie ist praktisch den EG-Anforderungen gleichzusetzen. Zuständige Behörde ist das *Umweltministerium*, dort wurde eine Koordinierungsstelle geschaffen. Diese nimmt die Anträge von den Gemeindebehörden oder direkt vom Antragsteller entgegen, verteilt sie an die Ministerien, deren Einvernehmen in bestimmten Fällen notwendig ist (z. B. Landwirtschaft, Gesundheit etc.), sowie an die Kommission und verständigt nach erfolgter Beurteilung den Antragsteller.

Das "*Vorläufige Komitee zur genetischen Modifikation (VCOGEM)*" (NIEDERLÄNDISCHES PARLAMENT, 1991) setzt sich aus 15 bis 20 Mitgliedern zusammen. Neben Fachleuten sind der Gesundheits- und der Naturschutzrat, das landwirtschaftliche Komitee für Umweltfragen und die zentralen Räte zum Umweltschutz und zur Überwachung des Arbeitsschutzes vertreten. Aufgabe der Kommission ist es, neben Sicherheitsfragen auch Kommentare über ethische und soziale Aspekte von beantragten Projekten an das Ministerium weiterzuleiten (obwohl dies selten geschieht). Jeder Antrag muß zusammen mit der Stellungnahme der Behörde in lokalen Tageszeitungen oder im Amtsblatt veröffentlicht werden. Während der Bearbeitungsfrist können Einsprüche erhoben werden.

In den Niederlanden wurden bereits etliche Freisetzungsexperimente durchgeführt (SARINK UND VOORZANGER, 1991), größtenteils mit herbizidresistenten Pflanzen, vor allem Kartoffeln und Tomaten. Anwendungen der Gentechnik, auch Freisetzungsexperimente, werden in den Niederlanden inzwischen öffentlich akzeptiert. Dies liegt u. a. daran, daß jeder Antrag samt Kommentar im Ministerium ohne weiteres eingesehen werden kann (v. d. MEER, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992). In einem Antrag sollte nach Auffassung der Behörde möglichst wenig als vertraulich gelten und sensibles geistiges Eigentum, dessen vorzeitige Veröffentlichung dem Antragsteller Nachteile bringen würde, besser durch Patente abgesichert sein.

4.2.2 Regelungen in EFTA-Ländern

4.2.2.1 Regelung in Norwegen

Das norwegische *Gentechnologengesetz* (MILJÖVERNDEPARTEMENTET, 1992) ist ein Rahmengesetz mit Ermächtigungen für Verordnungen, es wurde im Frühjahr 1993 verabschiedet. Ausdrückliches Ziel des Gesetzes ist es, Rahmenbedingungen für den ethisch und gesellschaftlich vertretbaren Einsatz der Gentechnik zu setzen, im Einklang mit dem Prinzip der nachhaltigen Entwicklung und ohne Gefahr für Gesundheit und Umwelt.

Zuständige Behörden sind für das geschlossene System das *Sozialministerium*, für die Freisetzung und die Herstellung von gentechnisch veränderten, höheren Pflanzen und Tieren (mit einigen Einschränkungen) das *Umweltministerium*. Die zuständige Kommission, der *Biotechnologierat*, ist zusammengesetzt aus Vertretern der Wissenschaft, der Verwaltung und verschiede-

ner öffentlicher Organisationen und soll prinzipielle, insbesondere ethische Fragen behandeln, einzelne Anträge begutachten, bei Klagen zur Verfügung stehen und die Öffentlichkeit informieren. Drei nationale forschungsethische Komitees für Wissenschaft und Technologie, für Medizin und für Gesellschafts- und Geisteswissenschaft haben u. a. die Aufgabe, den Biotechnologierat zu beraten und können sich auch zu Einzelanträgen äußern.

Nach einem eigenen Öffentlichkeitsgesetz sind alle amtlichen Dokumente öffentlich einsehbar. Dies gilt auch in Angelegenheiten der Gentechnik, insbesondere für diejenigen Informationen, die auch nach der EG-Richtlinie offenzulegen sind. Zusätzlich kann die Behörde eine öffentliche Anhörung verfügen. Spezielle Regelungen für ein Mitspracherecht über den bei anderen Behördenentscheidungen üblichen Rahmen hinaus gibt es nicht.

Im wesentlichen gilt die EG-Richtlinie 90/220 als Richtschnur für die Risikoabschätzung bei Freisetzungen. Als solche gelten auch Abfalldeponierung, Import, Vertrieb, Transport von GVO und das Halten von transgenen Organismen in normalen Ställen/Fischfarmen und Gewächshäusern. All diese Aktivitäten müssen von Fall zu Fall beurteilt werden. Das Vorsorgeprinzip verlangt vor dem Beginn der Arbeiten neben der Abschätzung des Risikos für Umwelt und Gesundheit auch ein Gutachten über die gesellschaftliche und ethische Vertretbarkeit. Es steht daher zu erwarten, daß Freisetzungen etwas vorsichtiger beurteilt werden als in anderen Ländern (NORWEGIAN DIRECTORATE FOR NATURE MANAGEMENT, 1992).

Der norwegische Gesetzesentwurf geht somit entscheidend über die EG-Rahmenbedingungen hinaus, indem die Berücksichtigung ethischer und gesellschaftlicher Aspekte als Entscheidungskriterium aufgenommen wird (BIOTEKNOLOGIUTVALGET, 1990). Die eingereichten Projekte (vor allem Freisetzungen) müssen der Forderung nach "Nachhaltigkeit" genügen. Unter diesem Begriff wird ein Verhalten verstanden, das "den täglichen Bedarf befriedigt, ohne die Möglichkeiten kommender Generationen, ihren Bedarf zu decken, zu zerstören" (wie es im Kommentar zum norwegischen Gesetzesentwurf heißt). Hier wird also nach dem Zweck der jeweiligen Anwendung gefragt, und zwar insbesondere dahingehend, ob der gewünschte Effekt erreicht wird, ohne langfristige nachteilige Auswirkungen befürchten zu müssen. Die Auswirkungen, die durch bisherige Methoden, die zu demselben oder einem ähnlichen Effekt gelangen, verursacht werden, gehen ebenfalls in die Beurteilung ein.

In der EG (und damit grundsätzlich auch im EWR, dem Norwegen beitreten wird) ist diese Vorgangsweise unüblich. Einzig im deutschen Gesetz finden sich in der Fragestellung nach dem Ziel des Versuchs und im Nutzen/Risiko-Prinzip bestimmte (von der EG kritisierte) Ansätze, Anträge nicht allein nach Sicherheitskriterien zu bewerten. Der EWR-Vertrag sieht jedoch vor, daß Freisetzungen in den EFTA-Ländern, im Gegensatz zu den EG-Staaten, auch nach anderen als nach Aspekten des Gesundheits- und Umweltschutzes beurteilt werden dürfen (ausführliche Diskussion von NENTWICH, in: UMWELTBUNDESAMT, 1993). Außerdem wird den nationalen Behörden die Möglichkeit eingeräumt, die Verwendung eines Produkts zu verbieten, wenn es berechtigten Grund zu der Annahme gibt, daß es ein Gesundheits- oder Umweltrisiko mit sich bringt, wovon die Mitgliedsländer in Kenntnis zu setzen sind. Kommt man zu keiner Einigung, sind Handelssanktionen zu erwarten. Ob sich diese Bestimmungen in der Praxis auswirken werden, bleibt allerdings abzuwarten.

So begrüßenswert die Einführung eines Kriteriums der "nachhaltigen Entwicklung" für Freisetzungsprojekte ist, konnte aber bisher noch niemand festlegen, was tatsächlich "nachhaltig" ist; eine nähere Bestimmung im Zusammenhang mit gentechnisch veränderten Organismen ist überdies ausständig. Indirekte und langfristige Effekte stellen ein Risiko dar, dessen Inkaufnahme die Nachhaltigkeit beeinflussen kann. Die Risikoabschätzung ist daher ein notwendiger, aber nicht ausreichender Schritt, um diese Nachhaltigkeit zu bestimmen. Weitere Kriterien wären notwendig; darüber geben die norwegischen Regelungen aber keine Auskunft, obwohl in den Erläuterungen zum Gesetz einige Beispiele angeführt sind. Nach Aussage von zuständigen Beamten wird es auf die Rechtsprechung ankommen, wie dieser Begriff in der Praxis gebraucht werden wird.

4.2.2.2 Regelung in der Schweiz

In der Schweiz gibt es kein eigenes Gentechnikgesetz, ein solches zu schaffen, ist auch in Zukunft nicht beabsichtigt. Vielmehr sollen durch Veränderung bestehender Gesetze vorhandene Lücken geschlossen und eine Anpassung an die EG-Richtlinien erreicht werden. Die bisherige *Verordnung über den Schutz vor Störfällen* (STVF, SCHWEIZERISCHE BUNDESANSTALT FÜR UMWELT, WALD UND LANDSCHAFT (BUWAL), 1992) gilt nur für Betriebe, die mit Mikroorganismen im geschlossenen System arbeiten. Keine Regelungen gibt es derzeit für Freisetzungsversuche, obwohl bereits GVO freigesetzt wurden. Die dazu nötige Risikobeurteilung erwies sich aufgrund der föderalen Kompetenzlage und des Fehlens von verbindlichen Vorschriften als äußerst schwierig. Es ist aufgrund dieser Erfahrungen geplant, einheitliche Richtlinien auch für Freisetzungen zu erlassen. Das Inverkehrbringen zur Verwendung in der Umwelt ist durch produktspezifische Vorschriften teilweise geregelt (zur bisherigen Praxis siehe auch PYTHOUD, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992).

Zuständige Behörde ist in erster Linie die *Bundesanstalt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL)*, die die Anträge an die zuständigen Bundesämter sowie an die *Schweizerische Kommission für Biologische Sicherheit und Technik (SKBS)* weitergibt und den zuständigen Kanton und die betroffenen Gemeinden informiert. Sie gewährt außerdem interessierten Organisationen Einsicht in den Antrag, wobei die gesetzlichen Geheimhaltungspflichten vorbehalten bleiben. Die SKBS ist eine Einrichtung der Schweizerischen Akademie der Wissenschaften und besteht aus Fachleuten aus Hochschulen, Industrie und Bundesstellen. Sie arbeitete Richtlinien für die Antragstellung aus, die sich vor allem auf die amerikanischen NIH-Richtlinien für das geschlossene System, auf das deutsche Gentechnikrecht, die EG-Richtlinien und auf Dokumentationen der OECD stützen (INTERDISZIPLINÄRE SCHWEIZERISCHE KOMMISSION FÜR BIOLOGISCHE SICHERHEIT, 1992).

Die inhaltlichen Schwerpunkte der STVF sind das "Erfassen der Risiken für Bevölkerung und Umwelt, eigenverantwortliches Treffen der zur Verminderung des Risikos geeigneten Maßnahmen, Bewältigen von Störfällen, Kontrollieren der Eigenverantwortung und Verbessern der Information der Bevölkerung, um die Risiken bewußter und verständlicher werden zu lassen." (Handbuch II zur STVF, BUNDESANSTALT FÜR UMWELT, WALD UND LANDSCHAFT (BUWAL), Bern, 1992).

Die Schweiz setzt also im wesentlichen auf die Selbstkontrolle von Wissenschaft und Industrie und konnte damit die bisher anstehenden Aufgaben, zumindest in der Beurteilung für das geschlossene System, mit einem sehr geringen Aufwand erfüllen (das Sekretariat des SKBS bestand lange Zeit nur aus einer Halbtagskraft). Allerdings hat sich in letzter Zeit die Kritik am Einsatz der Gentechnik zumindest im deutschsprachigen Teil der Schweiz verstärkt, unter anderem war gerade das Fehlen von verbindlichen Vorschriften für Freisetzungen ein wesentlicher Anlaß. Auch deswegen steht zu erwarten, daß derartige Vorschriften analog zur EG-Richtlinie 90/220 demnächst erlassen werden.

4.2.3 Regelungen in außereuropäischen Ländern

4.2.3.1 USA

In den USA richtet sich die Regelung biotechnologischer Verfahren, also auch der Gentechnik, nach der Art ihrer Verwendung und fällt in verschiedene behördliche Kompetenzbereiche. Dabei ist es unerheblich, auf welche Art und Weise "neuartige Organismen" isoliert bzw. hergestellt wurden. Somit gibt es in der gesetzlichen Regelung im Prinzip auch keine Abgrenzung zwischen herkömmlichen Techniken und gentechnischen Methoden. Ein Versuch oder ein Produkt gilt dann als regulierungsbedürftig, wenn dessen Durchführung bzw. Verwendung ein signifikantes Risiko mit sich bringt (MILLER, 1990). Die gesetzliche Grundlage findet sich in den einzelnen Materiegesetzen.

Zuständige Behörden für Freisetzungen sind, je nach Anwendungsgebiet, das Landwirtschaftsministerium (*United States Department of Agriculture, USDA*, für landwirtschaftliche Forschung und Produktion, Pflanzenschutz und Tierseuchen), das Umweltamt (*Environmental Protection Agency, EPA*, für Schädlingsbekämpfung) und die Gesundheitsbehörde (*Food and Drug Administration, FDA*, für Nahrungs- und Futtermittel sowie Medikamente). Jede Behörde hat eine oder mehrere beratende Kommissionen. Die Kompetenzbereiche sind oft etwas unübersichtlich. Im Lebensmittelbereich etwa ist die FDA zuständig für die Sicherheit kommerziell hergestellter Nahrungsmittel und ihrer Zusätze, ausgenommen Fleisch und Geflügel. Für letztere ist das USDA verantwortlich. Die EPA reguliert die Verwendung von Pestiziden und setzt Toleranzgrenzen in Nahrungsmitteln fest. Da eine eindeutige Zuordnung einzelner Freisetzungsvorhaben oft nicht möglich ist, können Anträge gleichzeitig oder in direkter Zusammenarbeit der Behörden bearbeitet werden.

Das *Office of Science and Technology Policy (OSTP)* des Präsidenten arbeitete seit 1986 an einheitlichen Richtlinien für die eindeutige Zuordnung einzelner Vorhaben zum Kompetenzbereich einer Behörde ("Coordinated Framework"), wie die einzelnen Gesetze anzuwenden seien, wurde allerdings nicht geregelt. In den USA gibt es also einerseits übergeordnete Richtlinien des OSTP zur Umsetzung der einzelnen Gesetze, andererseits geben die zuständigen Behörden Richtlinien für den jeweiligen Kompetenzbereich heraus, der wiederum durch das OSTP eindeutig festgelegt wird. Die *übergeordneten Richtlinien* sehen folgende Grundsätze für den Umgang mit der "Biotechnologie" (im wesentlichen der Gentechnologie) vor:

1. Die Produkte der Biotechnologie unterscheiden sich nicht grundsätzlich von Produkten aus unmodifizierten Organismen,
2. das Produkt, nicht der Prozeß der Herstellung soll reguliert werden,
3. die Regulierung soll auf die endgültigen Nutzung des Produkts Bezug nehmen, die Begutachtung von Fall zu Fall erfolgen,
4. die bestehenden Gesetze reichen für die Regulierung der biotechnologisch erzeugten Produkte aus.

Im Jahre 1992 wurde das sogenannte "Scope"-Dokument (OFFICE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY POLICY (OSTP), 1992) herausgegeben. Eine Kernaussage darin lautet, daß geplante Freisetzungen nur dann einem Begutachtungsverfahren zu unterziehen sind, wenn ein signifikantes Risiko besteht und wenn zu erwarten ist, daß die mögliche Reduktion des Risikos größer ist als die durch die Regelung entstehenden Kosten. Der Umfang des Verfahrens sollte sich nach dem Ausmaß und der Art des Risikos richten. Nach diesen Prinzipien soll einerseits, wenn notwendig, die Risikoabschätzung gesichert und andererseits gewährleistet werden, daß Projekte mit vernachlässigbarem Risiko nicht unnötig behindert werden. Kriterien für die Antragspflicht sind

- die Eigenschaften der Organismen,
- die Eigenschaften der Umwelt, in der die Freisetzung geplant ist, und
- geplante Begrenzungsmaßnahmen.

Nicht antragspflichtig sind Freisetzungen von Organismen, die mit Hilfe bestimmter (auch einiger gentechnischer) Methoden erzeugt wurden und solchen, die kein höheres Risiko als die Ausgangsorganismen verursachen. Es finden sich allerdings keine Hinweise darauf, wie das Risiko von vornherein festgestellt werden soll.

In der Antragstellung auf Freisetzung ist eine Deklaration als "Trade Secret" (wenn die Geheimhaltung von Produktionsprozessen und dergleichen von kommerziellem Nutzen ist) oder als "Commercial or Financial Information" möglich, wenn die Veröffentlichung von Daten einen Wettbewerbsnachteil mit sich brächte. Dies betrifft auch Angaben über die Sicherheit, über die Fähigkeit zum Entkommen aus dem Versuchsgelände oder über umweltrelevante Aspekte. Die Sitzungen der beratenden Kommissionen sollten nach Möglichkeit öffentlich abgehalten werden, ohne dabei private Rechte oder geistige Eigentumsrechte zu verletzen. Kommentare von seiten der Öffentlichkeit und die Stellungnahme der Kommission(en) sind im Federal Register zu publizieren. Die Einspruchsfrist beträgt zwei Monate.

Im Mittelpunkt steht also die Abschätzung, ob die Kosten, die bei einer Regulierung entstehen, im Verhältnis zum Sicherheitsgewinn stehen. Dieser pragmatische Ansatz kann (wenn man "Kosten" durch "Aufwand" ersetzt) durchaus sinnvoll sein, allerdings taugt er nicht zur Feststellung eines Risikos, sondern setzt dessen Abschätzung bereits voraus. Die Abschätzung selbst verursacht aber auch einen Aufwand. Für die Sicherheitsbeurteilung ist es daher wenig hilfreich, von vornherein eine Beziehung zum möglichen Nutzen herzustellen.

Dezidiert wird festgelegt, daß kein Unterschied zwischen gentechnisch veränderten Organismen und auf "herkömmliche" Weise hergestellten zu treffen ist. Andererseits bietet aber die Kenntnis des gentechnischen Konstrukts, das in einen Organismus eingebracht wird, eine gute Möglichkeit zur Abschätzung und ist für die Beurteilung von dessen Eigenschaften notwendig, wie ja auch die amerikanische Praxis zeigt.

4.2.3.1.1 FDA: Novel Foods

Diese Verordnung (UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (DHHS), 1992) regelt die Herstellung von Nahrungsmitteln pflanzlichen Ursprungs mit neuartigen, u. a. gentechnischen Verfahren. Allein die Eigenschaften des neuen Organismus, nicht die Art der Herstellung sind entscheidend, letztere kann jedoch für die Risikoabschätzung von Bedeutung sein. Ausgenommen sind Nahrungsmittel und Zusätze, die als sicher angesehen werden (*Generally Regarded As Safe, GRAS*, siehe den Abschnitt über die Richtlinien der EPA weiter unten in diesem Kapitel). Gibt es Bedenken, ist die FDA zu Rate zu ziehen. Während der Entwicklung neuer Nahrungsmittel auf pflanzlicher Basis sind folgende Fragen zu klären:

- Enthält die neue Pflanze mehr toxische Produkte als die Ausgangspflanze?
- Wurde ein Allergen neu in der Pflanze identifiziert?
- Änderte sich die Nährstoffzusammensetzung?
- Welche Auswirkungen hat die neue Pflanze auf die Umwelt?
- Wie gut sind das genetische Material und seine Expressionsprodukte charakterisiert?
- Wurde nach anerkannten wissenschaftlichen Kriterien vorgegangen?

Wissenschaftliche Sicherheitskriterien

Die in Pflanzen neu eingefügten Eigenschaften können in zwei Gruppen unterteilt werden: solche, die

- die Züchtungseigenschaften der Pflanzen beeinflussen (Ertrag, Resistenz gegen Krankheiten, Insektenbefall, Herbizide und Umwelttoleranz), und solche, die
- die Qualität der Nahrungsmittel beeinflussen (Verarbeitung, Konservierung, Nährgehalt und Geschmack).

Obwohl eine gerichtete Insertion neuer Gene in das Pflanzengenom derzeit noch nicht möglich ist, kann durch Rückkreuzung einigermaßen gewährleistet werden, daß nur eine Kopie des neuen Gens im Genom verbleibt. Somit sollten mögliche negative Positionseffekte weitgehend ausgeschaltet werden können. Das Ausmaß an genetischer Veränderung ist daher gegenüber herkömmlichen Techniken auf ein Mindestmaß beschränkt. Trotzdem ist der neue Phänotyp nicht immer exakt vorhersehbar. Deshalb wird das gewünschte Merkmal üblicherweise in eine Reihe von Empfängerorganismen eingebracht und der beste für die weitere Züchtung verwendet.

Bekannte Giftstoffe

Eine Vielzahl von Pflanzen enthält Giftstoffe zur eigenen Verteidigung gegen Schädlinge oder Pathogene. Die meisten Getreidepflanzen enthalten beispielsweise Proteaseinhibitoren, viele Leguminosen relativ hohe Mengen an Lektinen und Cyanoglykosiden. Die genetisch veränderten Linien dürfen weder höhere Werte derartiger Inhaltsstoffe als ihre Ausgangsstämme beinhalten, noch neue, die unter Umständen durch Reaktivierung stillgelegter Stoffwechselwege auftreten. Die Nährstoffzusammensetzung und die Verwertbarkeit der Nahrungsbestandteile darf sich nicht signifikant ändern.

Es muß gewährleistet sein, daß neu exprimierte Proteine nicht zu Allergien führen. Für den Fall, daß die Ursache für die Allergenität einer Pflanze nicht bekannt ist, hat der Produzent davon auszugehen, daß hierfür das verwendete Gen verantwortlich ist. Eine ausgiebige Prüfung muß

die Allergenität ausschließen, bei Unklarheit ist das neue Produkt auf eine mögliche Allergenität hin zu kennzeichnen. Bei der Erzeugung von Inhaltsstoffen in Pflanzen, die nicht als Nahrungsmittel dienen, ist darauf zu achten, daß keine Kreuzung mit Pflanzen möglich ist, die für die Nahrungsmittelproduktion verwendet werden. Bei der Entwicklung neuer Linien ist auch darauf zu prüfen, ob die Pflanze für Tiere, die sie fressen, verträglich ist; vor allem ist darauf Bedacht zu nehmen, daß unter Umständen andere Pflanzenteile als vorgesehen konsumiert werden.

Produktbezeichnung

Jedes Produkt muß mit einem Namen oder einem geeigneten Terminus bezeichnet werden. Eigenschaften, die für den Konsumenten von Belang sein können (wie z. B. die mögliche Allergenität) müssen deklariert werden. Die Art der Erzeugung des Produkts, auch wenn gentechnische Methoden angewandt wurden, ist für die Kennzeichnung nicht von Belang. Das Vorhandensein eines neuen Genprodukts, das normalerweise nicht enthalten ist, muß aber sehr wohl angegeben sein, wie überhaupt jede Änderung der Nährstoffzusammensetzung inklusive der Zusatzstoffe.

Richtlinien für die Industrie zur Sicherheitsbeurteilung neuer Nahrungsmittel

Unter der Annahme, daß Pflanzen verwendet werden, mit denen bereits lange sicher umgegangen wurde, sind für die Sicherheitsbewertung folgende Punkte zu überprüfen:

- Giftstoffe, die charakteristisch für Donor- und Akzeptorpflanze sind,
- mögliche Übertragungen von Allergenen von einer Pflanze zur anderen,
- Konzentration und biologische Verfügbarkeit wichtiger Nährstoffe, derentwegen die Pflanze normalerweise konsumiert wird,
- Sicherheit und Nährwert der neu eingefügten Genprodukte,
- Identität, Zusammensetzung und Nährwert veränderter Kohlehydrate, Fette oder Öle.

Das Prinzip des "GRAS", also des langen sicheren Umganges mit einem Organismus oder einer Substanz, ist für die erste Einschätzung sinnvoll und ähnelt in gewisser Beziehung dem Prinzip der "Vertraulichkeit" (siehe die Ausführungen zur OECD in diesem Kapitel). Der Vergleich mit der Charakteristik "herkömmlicher", nicht gentechnisch veränderter Organismen liefert gute Anhaltspunkte und sollte am Anfang jeder Beurteilung stehen. Allerdings kann sich die Einschätzung eines Organismus auch ändern, wenn bessere Methoden entwickelt werden: Impfstoffe auf der Basis von Vaccinia-Virus zum Beispiel waren jahrzehntelang in Gebrauch, heute würden sie in Österreich nicht mehr genehmigt werden (siehe Kapitel 2). Die mögliche Allergenität eines transgenen Organismus wirft Probleme auf. Obwohl dies in erster Linie ein Problem für Produkte ist, die für den Verzehr bestimmt sind, kann nicht allgemein bestimmt werden, welche Substanzen jemals allergen für einen bestimmten Konsumenten sein könnten. Man wird sich auf weitverbreitete Allergien beschränken und mehr Wert auf Kennzeichnung legen müssen.

4.2.3.1.2 USDA: Supplement to Minutes

Das USDA hat die weitesten Kompetenzen in bezug auf Freisetzen. Beratende Kommission der Landwirtschaftsbehörde ist das "Agricultural Biotechnology Research Advisory Committee" (ABRAC)" (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1991a, 1991d). Die Freisetzungsanträge sind an das koordinierende "Office of Agricultural Biotechnology (OAB)" zu richten.

Das "Supplement to Minutes" (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991a) regelt die Einfuhr, den zwischenstaatlichen Transport und die Freisetzung landwirtschaftlich genutzter Organismen, wenn der Spender-, der Empfängerorganismus, der verwendete Vektor oder das als Vektor dienende Agens als "regulated article" eingestuft oder nicht klassifiziert sind (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991b). Es empfiehlt Praktiken für den sicheren Umgang mit GVO inklusive ihrer Freisetzung in die Umwelt und legt Prinzipien für die Risikoabschätzung und "Confinement"-Regeln fest. Ausgenommen von diesen Richtlinien sind

- Pflanzen, die allein durch Selektion, natürliche Regenerations- oder traditionelle Züchtungstechniken, durch chemische oder physikalische Mutagenese und durch Regeneration von Organen, Gewebe oder aus Zellkultur erzeugt wurden,
- Tiere, die allein durch Selektion, künstliche Befruchtung, Superovulation oder Behandlung von Embryonen erzeugt wurden,
- zelluläre Mikroorganismen, die nur durch chemische oder physikalische Mutagenese oder durch Einbringen von DNA über natürliche Wege wie Transduktion, Transformation oder Konjugation erhalten wurden, sofern die DNA nicht rearrangiert oder mutiert wurde,
- Mikroorganismen, die durch Deletionen, Rearrangements und Amplifikationen innerhalb eines Genoms erzeugt wurden, sofern diese keine erhöhte Virulenz oder Toxinproduktion, signifikante Veränderungen der Konkurrenzfähigkeit oder der Ansprüche an den Standort bewirken oder Eigenschaften besitzen, die in irgendeiner Weise schädlich für den Menschen oder die Umwelt sind,
- Organismen, die mit nichtkodierenden Sequenzen versehen wurden, die keine phänotypischen oder physiologischen Veränderungen bewirken.

INFORMATIONEN, DIE IN EINEM ANTRAG ENTHALTEN SEIN MÜSSEN (nach UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991b, 1991c)

1. Antragsteller und Art des Antrags (Freisetzung oder Transport)
2. eindeutige Bezeichnung von Donor- und Akzeptororganismus, Vektor oder Vektorbestandteilen der Pflanze
3. Informationen über die Hersteller der transgenen Pflanze
4. Transport der Pflanze
5. erwartete oder aktuelle Expression des veränderten genetischen Materials; Änderung der Expressionscharakteristik in Hinsicht auf Morphologie, Physiologie, Zahl der Kopien, Produkte usw. im Vergleich mit der Ausgangspflanze
6. Molekularbiologie der Art der Erzeugung der transgenen Pflanze. Angabe von Spender, Empfänger, Vektor oder Vektor-Agens
7. Land, in dem Spender, Empfänger, Vektor oder Vektor-Agens gesammelt, entwickelt und produziert wurden
8. Absicht des Experiments und Versuchsplan
9. Ausmaß und Zahl der Freisetzungen

10. Maßnahmen und Sicherheitsvorkehrungen gegen Kontamination, Entweichen und Ausbreitung während der Erzeugung der transgenen Pflanze
11. zeitweilige und beabsichtigte Lokalisation des Produkts (im Organismus)
12. Sicherheitsvorkehrungen an jedem einzelnen Versuchsort
13. biologisches Material, das sich an oder in der Pflanze befindet, wie Inokulum oder Erde
14. Methode zur Entfernung des Pflanzenmaterials nach Beendigung des Experiments.

Vorgangsweise bei der Risikoabschätzung

Die Risikoabschätzung erfolgt in vier Schritten (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991 a). Darauf aufbauend wird ein sogenanntes Sicherheitsprotokoll entworfen.

- Zunächst wird die Sicherheit des Ausgangsorganismus bestimmt.
- Daraufhin wird die Sicherheitsstufe ermittelt, die aus der genetischen Modifikation resultiert.
- Es folgen die Betrachtung des veränderten Organismus und
- die Bestimmung von Beschränkungen ("Confinement Measures"), die den biologischen und ökologischen Eigenschaften des GVO angepaßt sind.

Schritt 1: Das Ausmaß der Sicherheitserwägungen

wird anhand der Eigenschaften des Ausgangsorganismus bestimmt, unter Berücksichtigung der Umweltbedingungen, in der die Freisetzung stattfinden soll. Hierbei sind maßgebend

- die Wahrscheinlichkeit für die Etablierung des Ausgangsorganismus in d. jeweiligen Umwelt,
- dessen "Pest/Pathogen Status" (Schädlingseigenschaften oder die Verwandtschaft zu Schädlingen),
- das Vorhandensein von Kreuzungspartnern des Organismus im betreffenden Gebiet,
- die Fähigkeit des Organismus, genetische Veränderungen in Wild- oder Kultur-Populationen zu bewirken,
- die Möglichkeiten für Überwachungsmaßnahmen und die Kontrolle des Organismus.

Nach diesen Kriterien wird der Ausgangsorganismus einer niedrigen, mittleren oder hohen Risikoebene zugeordnet.

Organismen der untersten Ebene ("Level of Safety Concern 1", *LSC-1*) sind solche, von denen angenommen werden kann, daß von ihnen nur ein vernachlässigbares Risiko für die Beeinträchtigung der menschlichen Gesundheit und für die Umwelt ausgeht und daß daher keine besonderen Vorsichtsmaßnahmen notwendig sind. Diese Organismen zeichnen sich dadurch aus, daß keinerlei negativen Effekte in der betreffenden Umgebung oder in einer vergleichbaren beobachtet wurden, daß sie nur ein geringes Entwicklungspotential zu einem schädigenden Organismus besitzen, oder daß die Wahrscheinlichkeit für ein Überleben in der Umgebung über die Zeit des Experiments hinaus sehr klein ist.

Organismen in *LSC-2* stellen am Standort des Experiments ein nicht vernachlässigbares Risiko für den Menschen oder die Umwelt dar. Die Risiken müssen daher durch geeignete Vorsichtsmaßnahmen eingeschränkt werden.

LSC-3 schließlich umfaßt Organismen, für die keine geeigneten Vorsichtsmaßnahmen gegen eine mögliche Beeinträchtigung von Mensch und Umwelt getroffen werden können.

Kriterien dafür sind

- bekannte eingetretene Schadensfälle,
- die Fähigkeit zum Überleben und zur Vermehrung mit negativen Auswirkungen,

- die Einstufung als nichtheimische Art,
- eine hohe Frequenz des genetischen Austauschs mit der Wildpopulation mit negativen Auswirkungen,
- das Fehlen von effektiven Maßnahmen zur Minimierung der Ausbreitung der Organismen oder ihrer Produkte und
- das Fehlen adäquater Techniken, die Organismen zurückzuholen oder abzutöten, bevor negative Auswirkungen eintreten.

Schritt 2: Bestimmung der Auswirkung der genetischen Manipulation auf die Höhe der Sicherheitsbedenken

Ausgehend von Schritt 1 wird untersucht, ob die gentechnische Veränderung das Risikopotential beeinflusst. Die Effekte der Veränderung werden daraufhin überprüft, ob sie direkte oder indirekte Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt, sowie auf die Möglichkeit zum Gentransfer haben. In diesem Zusammenhang soll auch die Methode der gentechnischen Veränderung näher untersucht werden, vor allem die molekulare Beschaffenheit und die Stabilität der veränderten Gene. Der Prozeß der Veränderung bestimmt nicht die Sicherheit, die Information darüber erleichtert aber die Risikoabschätzung.

Schritt 3: Bestimmung der Höhe der Sicherheitsbedenken für den gentechnisch veränderten Organismus

Einteilung in drei Sicherheitsstufen (nach den gleichen Kriterien wie Schritt 1).

Schritt 4: Prinzipien für die Begrenzung und für Sicherheitsprotokolle

Begrenzungsmaßnahmen durch eine geringere Überlebensrate oder verminderte Ausbreitungsmöglichkeiten der Organismen oder ihrer Produkte senken das Risiko der Freisetzung. Derzeit werden verallgemeinerbare Prinzipien und Vorgangsweisen diskutiert. Dennoch ist nicht zu erwarten, daß in nächster Zeit vom Fall-zu-Fall-Prinzip abgegangen wird, da die Versuche fast immer auch vom Standort der Freisetzung mit all seinen ökologischen und biologischen Eigenheiten abhängen. Neben den "confinement"- (Begrenzungs-)Regeln sollen allgemein anerkannte Prinzipien wie beispielsweise die GDP der OECD (OECD, 1992a, siehe die Besprechung am Anfang dieses Kapitels) eingehalten werden.

Als Kriterien für das Ausmaß der Begrenzbarkeit ("confinement level") gelten die physikalische, biologische, ökologische und chemische Begrenzbarkeit und die Größe des Versuchs. Begrenzungsstufen sollten für jeden einzelnen Organismus und die jeweilige Umgebung bestimmt werden, basierend auf der Fähigkeit des Organismus zum Entweichen aus dem Versuchsgelände und der Wahrscheinlichkeit für eine schädigende Wirkung. Die Begrenzung wird in zwei Stufen unterteilt, von Organismen der Stufe eins geht ein vernachlässigbares Risiko aus; sie bedürfen keiner zusätzlichen Auflagen für die Freisetzung. In Stufe zwei müssen zusätzliche Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden, bevor eine Freisetzung erfolgen kann.

Hier steht also die Vorgangsweise bei der Risikoabschätzung im Vordergrund. Dem Ausgangsorganismus, dem genetischen Material und dem entstandenen GVO werden jeweils Risikostufen zugeordnet, nach diesem "Sicherheitsprotokoll" werden Begrenzungsmaßnahmen bestimmt (die, einmal festgelegt, nur wenig verändert werden können). Zunächst werden also die Eigenschaften des Ausgangsorganismus betont (Unterschied nach Wild- oder Zuchtform) und dann die Frage gestellt, was "neu oder neuwertig" ist. Allerdings ist fraglich, ob nichtcodierende Sequenzen wirklich keine sicherheitsrelevanten Auswirkungen haben können.

4.2.3.1.3 EPA: Regelung von biologischen Pestiziden

Die biologische Schädlingsbekämpfung entwickelt sich zu einem immer wichtigeren Anwendungsgebiet gentechnischer Methoden. Maßnahmen gegen Schädlingsbefall können durch gentechnisch eingeführte Eigenschaften in die Pflanzen selber erzielt werden. Beispielsweise können bakterielle Proteine, die für bestimmte Insekten toxisch sind, von anderen Mikroorganismen oder von den Pflanzen selber gebildet werden. Hüllproteine von Pflanzenviren, in der Pflanze selbst produziert, verleihen dieser Immunität gegen das Virus (siehe Beispiel "virusresistente Marillenbäume" in Kapitel 2). Außerdem fallen auch Substanzen darunter, die natürlicherweise in Pflanzen zur Schädlingsabwehr gebildet werden, wobei die dafür notwendigen Gene auf andere Pflanzen übertragen werden können. Dadurch erfährt der Begriff des "Pestizids" eine starke Bedeutungserweiterung

Die meisten biologischen Pflanzenpestizide, die derzeit in Entwicklung sind, fallen in den USA (wie andere Pestizide auch) entweder in den Regelungsbereich des *Federal Insecticide Fungicide and Rodenticide Act (FIFRA)* (U.S. Congress, 1975) oder des *Federal Food Drug and Cosmetic Act (FFDCA)* (U.S. Congress, 1983) oder werden in Zukunft von der Regelung ausgenommen sein (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1993).

Nach FIFRA darf ein Pestizid, gleich ob chemisch oder biologisch, weder verkauft noch verteilt werden, wenn es nicht registriert oder von der Regulierung ausgenommen ist. Für eine Zulassung von Pestiziden muß gezeigt werden, daß sie bei "guter praktischer Verwendung" keine unververtretbaren schädlichen Umwelteffekte haben. Gemeint sind damit Auswirkungen auf Mensch und/oder Umwelt unter Einbeziehung von ökonomischen, sozialen und ökologischen Kosten (*Risiko/Nutzen-Analyse*). Neben der Registrierung sind Anwendungsgenehmigungen für experimentelle Zwecke vorgesehen. Die EPA kann Produkte von der Regelung ausnehmen, wenn sie durch andere Gesetze adäquat geregelt sind oder eine Regelung unnötig erscheint.

Aufgabe der EPA nach FFDCA ist es, Toleranzgrenzen für Pestizidrückstände in landwirtschaftlichen Produkten festzulegen, die als Nahrungsmittel verwendet werden. Pestizide in landwirtschaftlichen Rohprodukten fallen dann unter die Regelung, wenn sie nicht als *GRAS (Generally Regarded As Safe)*, siehe vorhergehenden Abschnitt) eingestuft sind oder innerhalb bereits festgelegter Toleranzgrenzen liegen. Nahrungsmittelzusätze gelten dann als GRAS, wenn sie entweder bereits vor dem Jahr 1958 verwendet wurden und keine unerwünschten Auswirkungen gezeigt haben (wenn es also eine "Tradition der sicheren Verwendung" in Nahrungsmitteln gibt) oder sie nach "allgemeiner wissenschaftlicher Übereinstimmung" als sicher betrachtet werden. Ausnahmebestimmungen sind durch die EPA festzulegen. Die Risiko/Nutzen-Analyse bezieht sich im Gegensatz zu FIFRA aber nur auf Risiken für die menschliche Ernährung.

Die Regelung der EPA zielt auf die Verhinderung unerwünschter Effekte durch den Einsatz und die Verbreitung von biologischen Schädlingsbekämpfungsmitteln (vor allem ihrer Gene) ab. Deshalb werden bei der Risikoabschätzung sowohl das Pestizid selbst wie auch die entsprechenden Gene untersucht. Dementsprechend lautet die Definition für endogene Pflanzen-Pestizide, die unter FIFRA erfaßt werden: "Pestizide, die in Pflanzen produziert werden und das genetische Material, das für die Produktion dieser Substanzen notwendig ist."

Die Regelung soll vor allem Auswirkungen auf Nichtzielorganismen verhindern. Die EPA widmet toxischen Wirkungen besondere Aufmerksamkeit, die folgende Eigenschaften beeinflussen:

- Membranpermeabilität,
- Zellteilung,
- Genexpression,
- DNA-Replikation und
- andere metabolische Funktionen.

Andere, vor allem indirekte Effekte beeinflussen Nichtzielorganismen wahrscheinlich wesentlich weniger als diese direkten; daher wird das von ihnen ausgehende Risiko als geringer angesehen.

Um die Gefährdung von Nichtzielarten zu beurteilen, werden Abwehrstoffe, die natürlicherweise in irgendeiner Pflanze einer Gattung vorkommen, als normaler Bestandteil betrachtet und für diese Gattung in die niedrigste Risikostufe eingeordnet. Je nach verwandtschaftlicher Entfernung der Gattungen, in denen der Stoff vorkommt, wird das Risiko höher eingestuft. Schwellenwerte auch für "normale Bestandteile", deren Überschreitung ein Risiko darstellt, werden meist von Fall zu Fall festgelegt. Substanzen, die zumindest eines der folgenden Kriterien erfüllen, sind ausgenommen:

- Pestizide, die normale Bestandteile der Pflanze sind,
- Hüllproteine von Pflanzenviren,
- Pflanzenpestizide, die vorwiegend auf die Pflanze wirken, sodaß der Schädling in erster Linie von der Anheftung, dem Eindringen oder der Besiedelung der Pflanze abgehalten wird.

Die EPA untersucht derzeit, inwieweit sich das Prinzip der Einstufung von Nahrungsmittelzusatzstoffen als GRAS auch auf Bestandteile von Pflanzen-Pestiziden, etwa Hüllproteine von Pflanzenviren, anwenden läßt.

Ein Produkt gilt dann als regelungsbedürftig, wenn es eine veränderte Exponierung des Konsumenten durch das Nahrungsmittel ("dietary exposure") verursacht. Kriterien dafür sind:

- Das als Pestizid wirkende Agens ist nicht von einer bekannten Nahrungsquelle abgeleitet.
- Das Pestizid, abgeleitet von einer bekannten Nahrungsquelle und eingefügt in eine bekannte Nahrungsquelle, führt zu unterschiedlicher Exponierung, weil
 - das Pestizid in höheren Mengen als bisher vorhanden ist,
 - ein oft konsumiertes Nahrungsmittel so verändert ist, daß es ein Pestizid produziert, das von einer für die Ernährung unbedeutenden Pflanze stammt,
 - ein Pestizid, das normalerweise in ungenießbaren Teilen der Pflanze exprimiert wird, nun in genießbaren Teilen vorhanden ist,
 - ein Pestizid, das von einer Pflanze stammt, die vor dem Verzehr gekocht wird, in eine Pflanze eingefügt wurde, die üblicherweise roh verzehrt wird.
- Das Pestizid hat eine signifikant veränderte Struktur, Funktion oder Zusammensetzung gegenüber einem bekannten Bestandteil der Nahrung, z. B. die Primärstruktur eines Proteins wurde geändert.

Agencien, die für Säuger toxisch sind, dürfen nur dann angewendet werden, wenn sichergestellt ist, daß sie nicht ungewollt in die Nahrung gelangen können. Die Verwendung von Pflanzenpathogenen aus Pflanzen, die Allergene beinhalten, muß deklariert werden, wenn nicht gezeigt wurde, daß das Agens nicht das Allergen darstellt.

Informationen an die EPA für die Evaluierung von Pflanzenpestiziden

1. Kleiner Maßstab

Versuche im kleinen Maßstab ermöglichen Begrenzungs-Maßnahmen. Auf dieser Entwicklungsstufe wird es von der EPA als nicht notwendig erachtet, mögliche Effekte auf Nichtzielorganismen zu betrachten. Im ersten Stadium des Versuchs werden folgende Fragen zur Sicherung eines ausreichenden Containments gestellt:

- *Identität der Pflanze inklusive Art der Vermehrung, und Identität des Pestizids*
- *Ort, Größe und Beschreibung des Versuchsortes*
- *Versuchsplan einschließlich Begrenzungsmaßnahmen*
- *Existenz von verwandten Wildformen in der Umgebung*

2. Scale Up

Beim Übergang zu Versuchen in größerem Maßstab, in denen Vorkehrungen zur Verhinderung einer unerwünschten Ausbreitung nicht mehr möglich sind, wird die Abschätzung möglicher Effekte auf Nichtzielorganismen relevant. Folgende Angaben werden benötigt:

- *Taxonomische Beschreibung der Pflanze und Beschreibung wichtiger biologischer Merkmale wie der Art der Vermehrung*
- *Möglichkeiten zur Übertragung genetischen Materials auf wilde Verwandte*
- *Höhe der Produktion des Pestizids in der Pflanzenpopulation*
- *Einschränkung der Expression des Pestizids auf bestimmte Gewebe*
- *Abbau des Pestizids*

Bei einer signifikanten Exponierung von Nichtzielorganismen ist eine Bestimmung möglicher toxischer Effekte nötig.

3. Inverkehrbringen und Vertrieb

Notwendige Informationen:

- *Identifizierung und Charakterisierung der als Pestizid wirkenden Substanz einschließlich der Wirkungsweise, sofern bekannt*
- *Quelle des genetischen Materials für die Herstellung des Pestizids*
- *Beschreibung des Vektors*
- *Beschreibung der das Pestizid produzierenden Pflanze*
- *Analyse der Produktion des Pestizids:*
 - *kontinuierlich oder induziert*
 - *während bestimmter Perioden des Lebenszyklus oder in einzelnen Geweben*
 - *Konzentration in der Pflanze, in Pflanzenteilen und/oder bei der Ausscheidung*
 - *Wahrscheinlichkeit für den Transport des Pestizids innerhalb der Pflanze*
 - *Abbau des Pestizids*
- *Analyse der Wahrscheinlichkeit für die Übertragung des genetischen Materials:*
 - *Vorkommen wilder Verwandter*
 - *Bestäubungstyp*
- *Mögliche unerwünschten Effekte auf Nichtziel- oder nützliche Organismen:*
 - *Toxizität für Bestäuber, Nichtziel-Insekten, Vögel und aquatische Organismen, wenn eine Exponierung wahrscheinlich ist.*

Die Regelung von biologischen Pflanzenpestiziden erfolgt also nach dem Risiko/Nutzen-Prinzipien, allerdings sollten absolute Schutzgüter gewahrt bleiben. Kosten sind auch durch soziale, ökologische und ökonomische Auswirkungen zu erwarten, eine Abgrenzung ist schwierig. Sinnvoll für die Praxis erscheint der Vergleich mit anderen, für den gleichen Zweck bestimmten Organismen oder Viren und mit natürlich vorkommenden Substanzen in bestimmten Organismen, insbesondere in bezug auf die Auswirkungen auf Nichtzielorganismen (allerdings werden nur die direkten berücksichtigt). Die Vorgangsweise der Abschätzung richtet sich ausdrücklich nach der Stufe (Produktentwicklung, also "Small Scale", "Scale Up" oder "Large Scale" und Inverkehrbringen), die geforderten Informationen sind für jede Stufe andere.

4.2.3.2 Vergleich zwischen der Regulierung der EG und der USA

In den vergangenen Jahren war die internationale Diskussion über die regulatorische Handhabung von Freisetzungsversuchen geprägt von der Auseinandersetzung zwischen der EG und den USA. Zentrale Frage war, ob gentechnisch veränderte Organismen von vornherein anders zu behandeln sind als nicht-GVO oder ob alleine die (vermuteten) Eigenschaften des Organismus unabhängig von der Art der Herstellung zählen. Die unterschiedlichen Standpunkte wurden in der Einleitung bereits skizziert.

Einer der Ausgangspunkte für die amerikanische Haltung war die notwendige Klärung der Kompetenzen von verschiedenen zuständigen Behörden (USDA, FDA, EPA), die auch zu kürzeren Bearbeitungszeiten und zu einer Entlastung der Antragsteller von unnötiger Bürokratie führen sollte. Da die USA führend auf dem Gebiet der Biotechnologie sind, wurde diese Absicht in politischen Grundsatzserklärungen mit einer Initiative zur "Deregulierung" verbunden (OSTP, 1992), v. a. um die nationale Wettbewerbsfähigkeit zu verbessern (UNITED STATES CONGRESS, OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT, 1991). In Europa wiesen Industrie und Wissenschaft in der Folge auf zunehmende Wettbewerbsnachteile gegenüber den USA hin (EG-Kommission, 1991).

Inzwischen zeichnet sich jedoch ab, daß die Debatte um die unterschiedliche Behandlung von gentechnisch veränderten und anders erzeugten Organismen an Schärfe verliert, weil man sich über die Kriterien zur Überprüfung über weite Strecken einig ist. Obwohl nach wie vor Differenzen darüber herrschen, ob GVO grundsätzlich zu überprüfen seien, besteht Einigkeit, daß die Eigenschaften und der Verwendungszweck die Beurteilung wesentlich beeinflussen, aber nur anhand der gentechnischen Konstruktion abgeschätzt werden können. In der Praxis scheint in den USA allerdings nach wie vor eine etwas weniger kritische Haltung bei der Risikobewertung zu herrschen als in Europa, obwohl die Kriterien für die Überprüfung ähnlich sind (LEVIDOW, 1993). Die "Deregulierung" in den USA scheint weniger Auswirkungen auf die Neuorientierung im Sinne einer wirtschaftsfreundlicheren Haltung zu haben, als auf die Kompetenzbereinigung zwischen den Behörden und die verbesserte bürokratischen Effizienz bei gleichbleibender grundsätzlicher Vorgangsweise. Amerikanische Behördenvertreter zeigen sich oft verwundert über den Eifer, mit dem die "Deregulierung" in Europa (auch in Österreich, das derzeit gar keine Regulierung hat) diskutiert wird (S. Mc CAMMON, L. ZEPH, pers. Mitt.).

Das *Biotechnology Coordination Committee* der EG erstellte kürzlich eine Übersicht (EG-KOMMISSION, 1992b), in der die amerikanischen Richtlinien und Behörden den jeweils entsprechenden in der EG gegenübergestellt wurden. Zusammengefaßt ergibt sich folgende Tabelle:

EG	USA
<p style="text-align: center;">BEHÖRDEN</p> <p><i>In jedem EG-Mitgliedsstaat gibt es (eine) nationale, für Freisetzungen zuständige Behörde(n). Für das Inverkehrbringen ist ein Gemeinschaftsverfahren vorgesehen.</i></p> <p style="text-align: center;">ZU BEGUTACHTENDE ORGANISMEN</p> <p><i>– für Freisetzungen: alle gentechnisch veränderten Organismen</i></p> <p><i>– für das Inverkehrbringen: alle Produkte, die GVO enthalten oder aus solchen bestehen.</i></p>	<p>Zuständigkeit von bis zu vier Behörden: USDA, EPA, FDA, HSA; zusätzlich einzelstaatliche Behörden</p> <ul style="list-style-type: none"> • Genetisch veränderte Pflanzen, die DNA-Sequenzen aus dem genetischen Material von Pflanzenschädlingen enthalten • Pflanzen oder Mikroorganismen, die als pflanzenschädlich eingestuft sind oder bei denen Gründe für diese Annahme vorliegen • Mikroorganismen, die pflanzenpathogen sind oder pflanzenpathogene Sequenzen enthalten • alle mikrobiellen Pestizide • Vakzinen: obwohl theoretisch nicht alle Mikroorganismen in die Regelung fallen, werden nach dem "Coordinated Framework" so gut wie alle gentechnisch veränderten überprüft.
<p><i>Praktisch bestehen kaum Unterschiede hinsichtlich der Organismen, die einer Regelung unterliegen.</i></p>	
<p style="text-align: center;">Flexibilität</p> <p>a. in der grundsätzlichen Regelung <i>Die Rahmenbedingungen sind mit der Richtlinie 90/220 gegeben, Änderungen sind nur gemäß Artikel 100a des EG-Vertrags möglich</i></p> <p>b. zur Verringerung des administrativen Aufwands <i>Nach der RL 90/220 ist ein "vereinfachtes Verfahren" möglich. Außerdem können die nationalen Komitees nach dem Stand der Wissenschaft die Anhänge der Richtlinien adaptieren.</i></p>	<p>Jeder kann für transgene Pflanzen und bestimmte Typen von Mikroorganismen Änderungen beantragen. Bisher gab es allerdings keine Anträge.</p> <p>Der "Administrator" oder der "Commissioner" zuständiger Behörden hat eine Reihe von Möglichkeiten, er kann neue Regelungen schaffen und bestehende interpretieren. Normalerweise werden diese im Federal Register publiziert.</p>
<p>VORGANGSWEISE</p>	
<p><i>Es gibt Ähnlichkeiten bei Fristen, Umfang der anzugebenden Daten und der Risikoabschätzung.</i></p>	
<p><i>In der EG bedarf es für Freisetzungen in jedem Mitgliedsstaat eines eigenen Antrags.</i></p>	<p>In den USA bedarf es für Pflanzen und Mikroorganismen mindestens zweier Anträge, um eine Freisetzung durchführen zu können, für bestimmte Organismen auch mehr.</p>

4.2.3.3 Australien

Die Richtlinien über Freisetzung (RECOMBINANT DNA MONITORING COMMITTEE, 1987), zusammen mit denen über Forschungsarbeiten in kleinem Maßstab in geschlossenem System und Arbeiten in großem Maßstab im geschlossenen System erfassen alle Arbeiten zur Herstellung und/oder Vermehrung von Viren, Viroiden, Zellen oder Organismen mit einem neuen gentechnisch veränderten Genotyp, die entweder nicht natürlich vorkommen oder möglicherweise schädlich für Mensch oder Umwelt sein können. Zuständig ist der *Minister for Administrative Services*.

Beratendes Komitee ist das *Genetic Manipulation Advisory Committee (GMAC)* (DEPARTMENT OF ADMINISTRATIVE SERVICES, 1991) als Nachfolger des "Recombinant DNA Monitoring Committee (RDMC), das Richtlinien für Arbeiten mit GVO erarbeitete. Das GMAC erstellt einen jährlichen Bericht an den Minister, führt die Risikobewertung durch, gibt Empfehlungen für Sicherheitsvorkehrungen und berät die Institutional Biosafety Committees (IBC). Bei Verstößen gegen die Richtlinien kann es Sanktionen wie den Entzug von Forschungsgeldern verhängen. Generell sind sovieler Daten wie möglich öffentlich zugänglich zu machen. Bei Geheimhaltungsinteressen aus wirtschaftlichen Gründen und antragspflichtigen Arbeiten muß der Antragsteller zumindest eine kurze Zusammenfassung vorlegen, die das GMAC zusammen mit der Stellungnahme des Komitees veröffentlicht.

Das GMAC hat mehrere Subkomitees, u. a. für Freisetzungen. Freisetzungen bedürfen der behördlichen Zustimmung. Das GMAC beurteilt die Anträge und unterstützt Forscher und Behörde in technischen Fragen. Die lokalen IBCs an den jeweiligen Institutionen führen die Überwachung und das Monitoring nach erfolgter Freisetzung durch. Derzeit werden in Australien die aus dem Jahre 1987 stammenden Richtlinien zur Freisetzung überarbeitet, die auch somatische Gentherapie und rekombinante Vakzinen regeln.

Risikoabschätzung

Für die Risikoabschätzung von Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen werden unterschiedliche Informationen verlangt. In der Praxis ist jeweils nach einer "Checklist" für Mikroorganismen, Tiere und Pflanzen vorzugehen, die auch auf einige spezielle Anwendungen getrennt eingeht. Ein allgemeiner Teil ist aber für alle Organismen in gleicher Weise durchzuarbeiten.

FRAGEN FÜR ALLE ORGANISMENGRUPPEN

Absicht

1. Was ist die Absicht des Versuchs? Welche Vorteile hat dieser Versuch gegenüber möglichen Alternativen, insbesondere solchen, die ohne Freisetzung durchgeführt werden können?
2. Besteht die Absicht, bei gutem Ausgang des Versuchs eine großflächige Freisetzung durchzuführen?

Art des Organismus und des neuen genetischen Materials

3. Spezies
4. Ist vom unmodifizierten Organismus irgendein negativer Effekt auf
 - die Gesundheit von Mensch, Tier oder Pflanze,
 - die landwirtschaftliche Produktion,
 - andere Spezies oder
 - die Umweltqualität bekannt?

5. Welcher Art ist die genetische Veränderung? Welche Veränderung des Phänotyps ist bei der Freisetzung beabsichtigt? Inwieweit ist das genetische Insert charakterisiert? Woher stammt das Insert, woher der Vektor? Wie häufig ist Reversion?
6. Wie wird der veränderte Organismus identifiziert?
7. Welche Methoden kommen zur Anwendung, um die Konsistenz von Charge zu Charge zu überprüfen?
8. Ergebnisse der Versuche im geschlossenen System.

Kontrolle des Organismus

9. Wie wird die Arbeit durchgeführt und überwacht? Welche Barrieren sind vorgesehen, um die Experimente von der Umwelt zu trennen? Welche Notfallpläne gibt es?
10. Welche Menge von Organismen wird hergestellt und wie werden sie zum Versuchsort transportiert?
11. Welche Menge von Organismen soll freigesetzt werden?
12. Wo liegt der Ort der Freisetzung? Wie ist die Umgebung? Welche Einrichtungen gibt es am Versuchsgelände?
13. Welche Schädigungen sind möglich und auf welche soll im Versuch geprüft werden?
14. Wurden bereits früher ähnliche Versuche durchgeführt? Welche positiven und negativen Effekte wurden beobachtet? Gibt es Hinweise, daß für Australien spezifische Gegebenheiten eine Erhöhung oder Erniedrigung des Risikos mit sich bringen können?
15. Besteht die Möglichkeit des Gentransfers? Wenn ja, über welchen Organismus und mit welcher Frequenz?
16. Daten, die die Unschädlichkeit des Organismus auf lange Sicht annehmen lassen.
17. Soll der GVO die Charakteristik oder die Häufigkeit anderer Spezies ändern?
18. Experimente, um wahrscheinliche Konsequenzen (positive oder negative) zu ermitteln, auf
 - Gesundheit von Mensch, Tier oder Pflanze,
 - landwirtschaftliche Produktion,
 - Ziel- und Nichtzielorganismen,
 - allgemeine Ökologie, Qualität der Umwelt und Verschmutzung des Geländes,
 - genetische Ressourcen (z. B. Empfindlichkeit von wirtschaftlich wichtigen Pflanzen für Herbizide, Pestizide und dergleichen).
 - Wie werden die möglichen Effekte untersucht?
19. Welche unwahrscheinlichen, aber möglichen Effekte lassen sich annehmen? Würde einer davon, wenn er tatsächlich eintreten sollte, bedeutende Auswirkung haben? Berücksichtigt die Vorgangsweise diese wenig wahrscheinlichen Risiken? Wenn ja, wie?
20. Welche Konsequenzen ergeben sich aus dem Verbleiben des Organismus in der Umwelt nach Versuchsende?

Monitoring nach der Freisetzung und Notfallpläne

21. Welche Überwachungsmethoden werden angewandt, um umweltrelevante Auswirkungen zu verfolgen, welche Methoden werden insbesondere zur Beobachtung der gentechnisch veränderten, der Ziel- sowie der Nichtzielorganismen angewandt?
22. Welche Methoden werden zur Kontrolle oder zur Entfernung der Organismen von der Versuchsfläche und der Umgebung gegebenenfalls angewandt? Wie effektiv sind diese?

**FÜR EINZELNE ORGANISMENGRUPPEN ODER DEN VERWENDUNGSZWECK
SPEZIFISCHE FRAGEN:**

MIKROORGANISMEN

Lebend-Vakzinen

- Merkmale zur Identifizierung oder Marker, Wachstumsvoraussetzungen und Art der genetischen Modifikation des Impfstammes?
- Wie hoch ist die beabsichtigte Dosis? Über welchen Zeitraum kann der Impfstamm im geimpften Tier und dessen Ausscheidungen nachgewiesen werden?
- Gibt es eine einfache Übertragungsmöglichkeit von geimpften zu nicht geimpften Tieren der gleichen oder anderer Spezies?
- Wie stabil ist der Impfstamm? Wie wahrscheinlich ist eine Reversion?
- Gibt es Hinweise dafür, daß bei einer zukünftigen Behandlung des Tieres eine Reaktivierung des Vakzins aus einem latenten Stadium heraus möglich ist?
- Kann der Impfstamm ganz oder teilweise ins Genom des geimpften Tieres integriert werden?
- Welche Konsequenzen könnten sich daraus ergeben?
- Kann die Nukleinsäure des Virus im Vakzin entweichen oder durch Rekombination oder Komplementation zum Wildtyp revertieren?
- Welche Maßnahmen sind zur Entsorgung von Abfall, der Vakzinen enthält, und zur Beseitigung der geimpften Tiere vorgesehen?
- Für klinische Versuche beim Menschen: Welche Maßnahmen zur Entsorgung von Vakzin enthaltendem Material sind vorgesehen? Werden die Geimpften am Ende des Versuchs Lebendvakzinen tragen und wenn ja, werden sie diese weitergeben können?
- Welche Effekte sind bei Wechselwirkungen des Vakzins mit Ziel- und Nichtzielorganismen im Versuchsgelände und der Umgebung zu erwarten?
- Wie groß ist die Effizienz und wie lang ist die Dauer der Immunisierung im Zielorganismus?
- Welche Tests mit virulenten Feldstämmen müssen an geimpften Tieren durchgeführt werden?
- Wie wahrscheinlich ist die Verwendung des Wirtsvakzins für andere Impfstoffe beim Menschen oder bei Tieren? Würde die Verwendung des Wirtsvakzins zukünftige Anwendungen für die Immunisierung ausschließen?

Mit Pflanzen assoziierte Mikroorganismen

- Welche Zielspezies hat der Organismus? Besteht die Möglichkeit, daß sich der Organismus selbst auf/in Nichtzielspezies in der Umgebung etabliert?
- Wie hoch ist die Überlebensrate des Organismus auf/in der Zielpflanze und/oder in der Rhizosphäre von Ziel- oder Nichtzielspezies?
- Welche neuen Eigenschaften soll die Zielpflanze erhalten?
- Können diese Eigenschaften auf Nichtzielorganismen übergehen?

- Im Falle von Bodenmikroorganismen:
 - Welche Effekte sind auf Organismen wie Rhizobium, Frankia oder Mycorrhiza Pilze zu erwarten, die für Pflanzen nützlich sind?
 - Welche Effekte sind auf den Chemismus des Bodens zu erwarten?

Mit Tieren assoziierte Mikroorganismen

- Welche Zielspezies hat der Organismus?
- Wie groß ist die Überlebens- und Reproduktionsfähigkeit des Organismus?
- Kann sich der Organismus in Nichtzielorganismen etablieren?
- Welche neuen Eigenschaften sollen die Tiere erhalten?
- Besteht die Möglichkeit der Übertragung auf Nichtzielorganismen oder, im Falle von Haustieren, auf Wildpopulationen der Zielspezies?

Mikroorganismen für den Einsatz in der Umwelt (biologische Kontrolle, Schadstoffabbau)

- Zielspezies der biologischen Kontrolle, welche direkten und indirekten Effekte haben gentechnisch veränderte und natürliche Spezies auf Ziel- und Nichtzielorganismen?
- Wie groß ist die Überlebens- und Reproduktionsfähigkeit in der Zielspezies oder -substanz?
- Kann der Organismus in Nichtzielorganismen oder -substanzen überleben?
- Produziert der Organismus Substanzen, die direkt oder indirekt schädigend auf andere Organismen wirken (u. U. durch Anreicherung über die Nahrungskette)?
- Gibt es Gentransfer auf andere Mikroorganismen, die in der Umgebung vorhanden sind?
- Welche genetischen Veränderungen könnten in der Population der Zielorganismen als Folge des Einsatzes des GVO hervorgerufen werden (z. B. Auftreten einer Resistenz)?

Mikroorganismen für die Verwendung in der Nahrung

- Welche Verwandtschaft besteht zwischen dem Mikroorganismus oder der eingefügten DNA und bekannten Humanpathogenen?
- Wie wahrscheinlich ist es, daß der Mikroorganismus schädliche Substanzen produziert?

TIERE

Haustiere

- Werden die Tiere im Zuge des Versuchs oder später für die Züchtung verwendet? Gibt es besondere Maßnahmen für die Nachkommen?
- Welche erwünschten Effekte werden durch die Verwendung des gentechnisch veränderten Tieres erwartet?
- Welche unerwünschten Effekte könnten sich ergeben?
- Können die genetischen Eigenschaften durch andere als gentechnische Methoden übertragen werden?

- Gibt es Wildpopulationen des Tieres und wenn ja, verursachen sie Schäden für die Landwirtschaft oder Probleme bei der Kontrolle von Tierseuchen?
- Wie wahrscheinlich ist die Übertragung der neuen genetischen Eigenschaft auf die Wildpopulation?
- Effekte der Übertragung des Merkmals auf die Wildpopulation?
- Im Falle, daß keine Wildpopulation (lokal) vorhanden ist: Könnte durch das neue genetische Merkmal das Haustier verwildern?

PFLANZEN

Nutz- und Weidepflanzen

- Sollen die Pflanzen in diesem Experiment (oder späteren) keimfähige Früchte produzieren?
- Welche erwünschten Effekte sind durch die Verwendung der gentechnisch veränderten Pflanze zu erwarten?
- Welche unerwünschten Effekte könnte die Verwendung der transgenen Pflanze haben?
- Gibt es verwandte Unkräuter?
- Kann das genetische Merkmal durch andere Mechanismen als normale Reproduktion übertragen werden? Beeinflußt das neue Merkmal den Stoffhaushalt im Boden?
- Wurde die Ungiftigkeit für Mensch und Tier gezeigt? Können sich in der Nahrungskette toxische Produkte anreichern?
- Gibt es verwandte Wildpflanzen in der Umgebung, mit denen sich die Pflanze kreuzen kann? Wenn ja, welche Auswirkungen hätte die Übertragung des Merkmals auf diese?
- Bei einer möglichen Übertragung des neuen genetischen Merkmals auf Wildformen: Könnte die Verbreitung und das Vorkommen beeinflußt werden? Könnten sich daraus Folgen für die Landwirtschaft, die Umwelt oder für die Kontrolle von Pflanzenkrankheiten ergeben?
- Welche Schutzvorkehrungen zur Vermeidung von Gentransfer wurden getroffen?
- Könnte die neue genetische Eigenschaft eine Veränderung der Eigenschaften in anderen Pflanzen bewirken?

KURZGEFASSTES SCHEMA DER AUSTRALISCHEN VORGANGSWEISE ZUR RISIKOABSCHÄTZUNG

Neues genetisches Material

- Charakterisierung
- Stabilität

Phänotypische Expression des neuen genetischen Merkmals

Eigenschaften, die Auswirkungen auf die Zielpopulation od. auf Wildformen haben

- Ökologische "Fitneß"
- Pathogenität, Virulenz, Wirtsbereich
- Produktion von Toxinen, umweltschädigenden Agenzien

Methode des DNA-Transfers

Spezies

- Kolonisierungsfähigkeit in Australien
- Ursprung (exotisch, einheimisch)
- indirekte Veränderung genetischer Eigenschaften in Populationen anderer Spezies
- Möglichkeiten der Kontrolle nach der Freisetzung
 - physikalische Kontrolle
 - biologisches Containment
 - Notfallpläne

Die australischen Richtlinien (die in ähnlicher Form auch in Neuseeland gelten) unterscheiden also deutlich zwischen Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren in bezug auf die Informationserfordernisse für die Risikoabschätzung. Auch bestimmte Anwendungsgebiete werden eigens berücksichtigt. Insofern käme dieser Ansatz den österreichischen Forderungen nach deutlicherer Trennung der Organismengruppen (siehe Kapitel 2) entgegen. Weiters wird, im Gegensatz zu den amerikanischen Regelungen, die ja die Art des GVO und seine Anwendung in den Mittelpunkt der Risikoabschätzung stellen, die Eigenschaft "gentechnisch verändert" durchaus als Kriterium für die Berechtigung zur Vorabbewertung anerkannt.

5 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Ausgehend von den Voraussetzungen, wie sie in der Einleitung geschildert wurden, sowie in Anbetracht der Ergebnisse der Arbeitsgruppen, des Vergleiches der internationalen Literatur und der Regelungen in verschiedenen Ländern, auch in bezug auf das Monitoring, können nun Schlußfolgerungen für eine künftige Vorgangsweise in Österreich gezogen werden. Hierzu ist es allerdings nötig, die Ausgangssituation noch einmal zusammenfassend zu skizzieren. Es folgen Empfehlungen der Arbeitsgruppen für eine Vorgangsweise, sowie Kriterien für Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere. Für Pflanzen und Tiere werden Adaptionen des Kriterienkatalogs (Anhang II) der EG-Richtlinie 90/220 vorgeschlagen. Zum Schluß wird kurz auf den Vorgang der Risikoabschätzung eingegangen.

5.1 VORAUSSETZUNGEN

DIE WEITEREN ÜBERLEGUNGEN BAUEN AUF FOLGENDE VORAUSSETZUNGEN AUF:

- 1. Freisetzungen von GVO werden auch in Österreich stattfinden.** Da die internationale Tendenz dahin geht, Freisetzungen von GVO nach eingehender Prüfung grundsätzlich zu tolerieren, besteht kein Grund anzunehmen, daß Österreich von dieser Entwicklung ausgenommen sein wird.
- 2. Die Praxis der Risikoabschätzung macht Fortschritte.** In letzter Zeit hat sich gezeigt, daß sinnvolle Schritte zur Verbesserung der Risikoabschätzung für Freisetzungen bestimmter, gut charakterisierter Organismen möglich sind (KAREIVA, 1993). Obwohl stets eine gewisse Unsicherheit über das zukünftige Verhalten eines bestimmten Organismus in der Umwelt bleibt, die grundsätzlich nicht zu beseitigen ist, sind inzwischen Möglichkeiten für die Abschätzung bestimmter, in der Vergangenheit öfter diskutierter Risiken entwickelt worden; an Wegen, andere Unsicherheiten zu beseitigen, wird gearbeitet. Es erscheint daher zulässig, in beschränktem Ausmaß für bestimmte Organismen allgemeine Aussagen zu treffen, wenn gut studierte Ausgangsorganismen, Gene mit genau bekannter Funktion und vollständig charakterisierte genetische Konstruktionselemente verwendet werden; nicht jedoch, wenn in irgendeiner Hinsicht Neuland beschritten wird.
- 3. Die Abschätzung der unmittelbaren Sicherheitsfragen erfolgt nach internationalen Standards.** Auch in Österreich wird vermutlich eine unabhängige Kommission eingesetzt, die eine Risikoabschätzung für Freisetzungen durchführt und der entscheidenden Behörde Empfehlungen gibt, die zwar nicht bindend sind, die aber meist befolgt werden dürften, wie die Erfahrungen in anderen Ländern nahelegen. Für die Abschätzung des unmittelbaren Risikos gibt es, wie bereits ausgeführt, international übliche Standards. Die Möglichkeiten für die Abschätzung langfristiger Folgen sind derzeit noch ungenügend.

- 4. Die EG-Richtlinie wird bindend.** Im Hinblick auf den EWR und einen möglichen EG-Beitritt ist es sehr wahrscheinlich, daß europäische Standards in dieser Angelegenheit auch in Österreich maßgeblich sein werden. Da die entsprechenden EG-Richtlinien wahrscheinlich in absehbarer Zeit nicht grundlegend geändert werden dürften, ist von der EG-Richtlinie 90/220 als Maßstab für die Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen auszugehen.
- 5. Es gibt Spielraum bei der Art der Umsetzung.** Die nationale Implementierung kann, wie Beispiele zeigen, durchaus im Einklang mit landesüblichen Vorgangsweisen erfolgen; eine wortwörtliche Übernahme von EG-Regelungen ist sicher nicht in allen Punkten sinnvoll und erforderlich, solange deren Inhalt umgesetzt wird.
- 6. Sozioökonomische Fragen müssen getrennt von der Risikoabschätzung behandelt werden.** Die Kritik, die Freisetzungen von GVO entgegengebracht wird, betrifft nur zum Teil die unmittelbaren Sicherheitsfragen. Mögliche Probleme, die sich auf anderen Gebieten (Artenschutz, wirtschaftliche, soziale Fragen) ergeben können, sind zumindest in gleichem Maße Gegenstand der Kritik. In den meisten Ländern werden derartige Themen von der Diskussion in den Begutachtungs-Kommissionen als irrelevant für die unmittelbare Sicherheit ausgeklammert. Trotzdem bleiben diese Fragen bestehen und es muß eine Form gefunden werden, wie diese angemessen behandelt werden können.

5.2 ERFAHRUNGEN: DURCHFÜHRBARKEIT VON RISIKOABSCHÄTZUNGEN

Eine Beurteilung bestimmter GVO auf der Basis bekannter Empfängerorganismen ist inzwischen mit größerer Sicherheit möglich als noch vor einiger Zeit. Allerdings läßt sich der Einwand nicht entkräften, daß eine Abwesenheit von Risiko, wie für alle menschliche Handlungen, grundsätzlich nicht nachweisbar ist. Gerade diese Tatsache erfordert erhöhte Wachsamkeit, da Art und Ausmaß des neuartigen Risikos nicht von vornherein klar sind. In erster Linie ist daher die kritische Offenheit für neue Wahrnehmungen gefordert. Folgende Argumente lassen Freisetzungen von bestimmten GVO heute berechenbarer erscheinen als vor wenigen Jahren:

5.2.1 Erfahrungen, die eine Risikoabschätzung vereinfachen

- 1. Bei Freisetzungen ist es noch zu keinem Unfall gekommen.** Obwohl weltweit bis 1992 weit über 600 (CASPER UND LANDSMANN, 1992), inzwischen schätzungsweise an die 1000 Freisetzungen stattgefunden haben, wurden bisher noch keine unvorhergesehene Ereignisse beobachtet, die zu Schäden geführt hätten. Die meisten GVO verhielten sich im großen und ganzen so, wie man es erwartet hatte. Die zuvor angestellten Risikoabschätzungen haben sich also als realistisch erwiesen; einige Wissenschaftler meinen sogar, daß die Gefahren anfänglich überschätzt wurden (HUTTNER et al., 1992). Allerdings sind Freisetzungen erst seit einigen Jahren in größerem Umfang vorgenommen worden und das Monitoring wurde nur über kurze Zeiträume durchgeführt, sodaß längerfristige Effekte noch nicht beobachtet werden konnten.

Außerdem kann aus einer beschränkten Anzahl von Freisetzungen unterschiedlicher Organismen nicht geschlossen werden, daß GVO generell keine unvorhergesehenen Eigenschaften aufweisen werden (CRAWLEY et al., 1993). Unerwartete Ergebnisse werden z. B. durch Umwelteinflüsse verursacht. Deren Auswirkungen auf GVO, die im geschlossenen System nur unzureichend untersucht werden können, lassen sich daher realistischerweise nur anhand von Freisetzungen analysieren.

2. Es gibt Erfahrungen bei der Sicherheitsbeurteilung von einigen Nutzpflanzen.

Wie u.a. das britische PROSAMO-Projekt gezeigt hat (CRAWLEY et al., 1992, 1993), ist es bei einigen Nutzpflanzen bereits möglich, gewisse Sicherheitsparameter für den Empfängerorganismus allgemein zu beurteilen. Desgleichen sind einige generelle Aussagen über bestimmte Typen von übertragenen Genen zulässig (OECD, 1992b). Welche Auswirkungen die übertragenen Gene im Einzelfall haben und welche Eigenschaften der endgültige Organismus tatsächlich hat, muß weiterhin Gegenstand der Beurteilung von Fall zu Fall sein; einige stets gleichbleibende Angaben müssen aber nicht in jedem Antrag wiederholt werden, sodaß man sich auf das tatsächlich Neue konzentrieren kann.

3. Es gibt auch Mikroorganismen, deren Freisetzung vertretbar erscheint.

Die Freisetzung von gentechnisch veränderten Mikroorganismen wird meist skeptischer beurteilt als die von transgenen Pflanzen. Trotzdem gibt es veränderte Mikroorganismen, deren Freisetzung in Erwägung gezogen werden könnte, insbesondere, wenn die gentechnische Veränderung sich auf Deletionen beschränkt, also auf Veränderungen, bei denen ein Gen ausgeschaltet oder entfernt wird. Diese werden meist als weniger bedenklich angesehen als das Einfügen eines neuen Gens; allerdings können auch Deletionen zu stark veränderten Phänotypen führen. Werden fremde Gene neu eingeführt, so besteht bei Mikroorganismen die Gefahr, daß diese horizontal, also an andere Arten weitergegeben werden und damit neue Gene, deren Auswirkungen nicht abzuschätzen sind, in den Genpool am Ort der Freisetzung eingebracht werden. Diese Gefahr ist allerdings dann als gering anzusehen, wenn der Empfängerorganismus sehr gut bekannt ist, am Ort der Freisetzung vorkommt und ein Gen übertragen wurde, das sich dort in einem anderen Organismus befindet, der mit dem Ausgangsorganismus Gene austauschen kann. Neu ist in diesem Fall die Kombination (die aber auf natürlichem Weg eventuell auch hätte zustande kommen können).

4. Große Nutztiere sind rückholbar, befinden sich aber nicht in einem "geschlossenen System".

Das wesentlichste Kennzeichen eines geschlossenen Systems ist die jederzeit mögliche Kontrolle des Organismus in bezug auf seine Ausbreitung, aber auch auf seine Vermehrung und damit über die Weitergabe der genetischen Merkmale. Transgene Nutztiere wie Rinder oder Schweine sind, ungeachtet der phänotypischen Eigenschaften, unter der Kontrolle des Tierhalters und selbst im Falle des Entkommens leicht rückholbar. Allerdings zeigt sich auch in der konventionellen Zucht, daß es manchmal zu unerwünschten Deckungen kommt, wobei genetisches Material weitergegeben wird.

Daher kann nicht von einem "geschlossenen System" i. e. S. gesprochen werden, auch wenn es keine Probleme bezüglich der Rückholbarkeit gibt. Aus diesem Grund sind gewisse Vorsichtsmaßnahmen auch in bezug auf große transgene Nutztiere notwendig.

5. Der Vergleich mit anderen Organismen ermöglicht Analogieschlüsse.

Geht man davon aus, daß GVO in den meisten Eigenschaften mit den Empfängerorganismen übereinstimmen und sich die Veränderung nur auf wenige Merkmale beschränken, so ist ein Vergleich mit diesen zulässig und hilfreich. Er bestimmt sozusagen den Hintergrund, vor dem die genetische Veränderung gesehen werden kann. Je mehr über einen Organismus bekannt ist (z. B. bei Nutzpflanzen, die bereits sehr lange gezüchtet wurden), desto leichter fällt die Beurteilung. Auch die Eigenschaften der Organismen, aus denen die übertragenen Gene stammen, lassen Rückschlüsse auf deren Funktion zu. Schließlich können manchmal Analogien zu Organismen gezogen werden, die ähnliche Eigenschaften besitzen wie die jeweils zu untersuchenden GVO. Trotzdem sind solche Schlüsse stets mit Vorsicht anzuwenden, die Tatsache, daß ein Organismus bereits lange Zeit hindurch gezüchtet oder angebaut wurde, erübrigt nicht eine genaue Risikoabschätzung, wenn dieser als Empfänger für ein neues Gen dient.

6. Die Beurteilungskriterien sind international ähnlich.

Obwohl über Zulassungskriterien viel gestritten wurde, ergibt sich aus dem Vergleich der Kriterienlisten einiger Länder ein bemerkenswert einheitliches Bild. Es sind zum allergrößten Teil gleiche oder sehr ähnliche Informationen, die vom Antragsteller eingefordert werden, mit jeweils anderen Akzentuierungen und verschiedenen Geltungsbereichen (siehe auch OECD, 1993). Tatsächlich aber kann man davon ausgehen, daß die Beurteilungen in Europa und in den USA in der Praxis im wesentlichen sehr ähnlich sind, auch wenn die USA weniger rigoros in ihren Sicherheitsanforderungen zu sein scheinen. Es gibt allerdings einen Unterschied, der sowohl innerhalb der USA als auch zwischen verschiedenen europäischen Ländern besteht, nämlich die Frage, ob der erwartete Nutzen eines Freisetzungsvorhaben in die Beurteilung miteingehen soll. Dies ist jedoch kein Sicherheitskriterium, sondern eine Frage der Bewertung.

7. Es gibt einige aussagekräftige Methoden für das Monitoring.

Insbesondere für Pflanzen wurden in letzter Zeit Methodensammlungen für das Monitoring zusammengestellt, die einen Überblick über die jeweils geeignetste Methode für eine bestimmte Fragestellung bieten (KJELLSON UND SIMONSEN, 1993). Auch für Mikroorganismen sind solche Methodensammlungen zu erwarten. Derartige Referenzen könnten in Zukunft als Maßstäbe bei der Beurteilung von Anträgen herangezogen werden, um festzulegen, welche Monitoring-Maßnahmen durchzuführen sind.

5.2.2 Verbleibende Fragen, die eine Risikoabschätzung erschweren

- 1. Es gibt zuwenig Kenntnisse über ökologische Fragen.** Wie sich bei der Einführung nichtheimischer Arten gezeigt hat (auch wenn diese strenggenommen nicht in allen Punkten mit GVO als solchen zu vergleichen sind), kann das Verhalten eines bestimmten Organismus in einer für ihn fremden Umwelt sehr schwer vorhergesagt werden. Der Grund hierfür liegt u. a. darin, daß viel zu wenig über die Funktion von Ökosystemen allgemein und über bestimmte Habitats im speziellen bekannt ist. Wollte man verlässliche Aussagen treffen, wäre einerseits sehr viel Grundlagenarbeit vonnöten, andererseits müßte das für eine Freisetzung vorgesehene Gelände hinsichtlich der dortigen und benachbarten Ökosysteme genauestens untersucht werden – eine Forderung, die so gut wie unerfüllbar ist. Aus dieser Tatsache läßt sich auch die Scheu vieler Ökologen ableiten, Aussagen über das Verhalten eines bestimmten (transgenen) Organismus im Vorhinein zu treffen. Es bleiben einzig Analogieschlüsse und Aussagen über Wahrscheinlichkeiten, letztere aber auch nur, wenn sehr ähnliche Organismen bereits freigesetzt wurden.
- 2. Langfristige Folgen lassen sich immer noch kaum abschätzen.** Sind kurzfristige ökologische Folgen schon schwierig absehbar, so gilt dies in verstärktem Maße für langfristige. Ein erst langfristig eintretendes Ereignis kann ernstzunehmende Auswirkungen haben, aber so gut wie nicht vorhersagbar sein. Außerdem können Folgen eintreten, die nicht direkt vom transgenen Organismus selbst verursacht werden, sondern durch Reaktionen des jeweiligen Ökosystems, in dem die Freisetzung stattgefunden hat, oder auch eines anderen, vielleicht nur am Rande betroffenen. Derartige Sekundärfolgen (z. B. Resistenzen bei Schädlingen, die durch schädlingsresistente Pflanzen bewirkt werden) sind von vornherein kaum vorherzusehen.
- 3. Der Zeitpunkt für das Auftreten eines seltenen Ereignisses läßt sich nicht vorhersagen.** Je seltener ein Ereignis ist, desto größer muß die Zahl der Individuen und desto länger die Zeit der Beobachtung sein, um es überhaupt feststellen zu können. Auch hier liefert die Beobachtung der Ereignisse bei der Einführung nichtheimischer Arten einige Beispiele. Es können Jahrzehnte vergehen, bevor ein Organismus mit einem bestimmten Merkmal Bedingungen vorfindet, die ihm einen besonderen Selektionsvorteil bieten. Bis dahin verhält er sich unauffällig, danach kommt es unter Umständen zu einer Verdrängung anderer Arten oder anderen unerwünschten Erscheinungen.
- 4. Es gibt Gruppen von Organismen, deren Freisetzung mit derzeit unwägbareren Risiken verbunden ist.** Hierzu gehören beispielsweise GVO mit fremden Genen, die leicht mobilisierbar sind oder Eigenschaften vermitteln, die einen unmittelbaren und starken Selektionsvorteil bewirken, Mikroorganismen, über deren Vektor- und Plasmidsysteme und deren Fähigkeiten zum Gentransfer daher wenig bekannt ist, transgene Pflanzen, deren Empfängerorganismen nicht genügend charakterisiert sind oder von denen man weiß, daß sie zur Verwilderung neigen, Tiere, deren Entkommen nicht verhindert werden kann, wie Insekten, Fische, Nager etc. Diese Organismen sollten sehr genau untersucht werden, bevor eine Freisetzung eventuell ins Auge gefaßt werden kann.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt erscheint es kaum vertretbar, solche Freisetzungen durchzuführen. Daher ist eine Beurteilung von Fall zu Fall auch weiterhin notwendig, um derartige Projekte (die vielleicht nicht auf den ersten Blick erkennbar sind, siehe das Beispiel "Clavibacter" in Kapitel 2) zu identifizieren.

5. Sicherheitsrelevante Folgen ergeben sich aus Fragen, die nicht Sache der unmittelbaren Risikoabschätzung des Organismus sind.

Da ein transgener Organismus für einen bestimmten Zweck hergestellt wurde, ist er auf die Verwendung unter bestimmten Umständen abgestellt. Treten andere Umstände ein, können die ursprünglich ungefährlichen Eigenschaften einen anderen Charakter bekommen. Beispielsweise kann die Anwendung unter anderen klimatischen oder geographischen Bedingungen andere Eigenschaften zum Tragen bringen, oder der Organismus ist, wenn richtig angewandt, ungefährlich, lädt aber in gewisser Weise zum falschen Gebrauch ein. Herbizidresistente Ackerpflanzen beispielsweise könnten, exaktes Management vorausgesetzt, einen Rückgang des Herbizidverbrauches bewirken, bei nachlässiger, nicht einmal mißbräuchlicher Anwendung wird aber genau das Gegenteil erreicht. Der resultierende übermäßige Herbizidgebrauch stellt ein Sicherheitsrisiko dar, das nicht unmittelbar durch die Pflanze hervorgerufen wurde, sondern durch ihre Anwendung (RUCKENBAUER, in: UMWELTBUNDESAMT, 1992). Eine Risikoabschätzung des GVO geht zu meist auf derartige Risiken nicht ein, obwohl gerade diese den größten (und vielfach berechtigten) Anlaß zur Kritik geben.

6. Ein Nachweis der Abwesenheit eines Risikos ist unmöglich, daher ist für die Entscheidung eine Bewertung notwendig.

Bereits aus den o. a. Gründen wird ersichtlich, daß der Nachweis, daß kein Risiko mit einer Freisetzung verbunden ist, nicht möglich ist. Ein gewisses Risiko besteht selbst bei bestmöglicher Abschätzbarkeit, da solche Abschätzungen eben zukünftige Ereignisse betreffen. Vor allem die Höhe des Risikos ist daher fraglich. Einem Risiko muß ein Nutzen gegenüberstehen, sonst wäre auch das kleinste nicht zu vertreten. Daher führt streng genommen kein Weg an der Abwägung des Nutzens vorbei. Diese Tatsache spiegelt sich in der Erfahrung wider, daß in vielen Beurteilungs-Kommissionen derartige Überlegungen immer wieder geäußert werden, obwohl meist ausdrücklich die Diskussion des möglichen Nutzens einer Freisetzung unerwünscht ist. Einzig Deutschland und Norwegen machen eine Ausnahme, für gewisse Anwendungen (Pestizide) auch die USA. Eine objektive Feststellung des Nutzens ist, aus Mangel an intersubjektiv gültigen Wertmaßstäben, so gut wie ausgeschlossen und Quelle ständiger Kontroverse. Außerdem könnte ein vermuteter hoher Nutzen (für einen bestimmten Personenkreis) zu einer Hinnahme eines großen Risikos (für einen anderen Personenkreis) führen, eine Entwicklung, die äußerst unerwünscht wäre (siehe ÖSTERREICHISCHER NATIONALRAT, 1992).

5.3 MÖGLICHKEITEN FÜR DIE BEURTEILUNG

Da freigesetzte gentechnisch veränderte Organismen sich nicht an politische Grenzen halten, ist es naheliegend, international Rahmenbedingungen festzulegen, um dann auf die speziellen nationalen und regionalen Besonderheiten eingehen zu können. Spätestens mit dem Beitritt Österreichs zum EWR und vielleicht später zur EG werden die EG-Richtlinien 90/219 und 90/220 regulatorisch wirksam. Zu Freiräumen in der nationalen Gesetzgebung sei hier verwiesen (NENTWICH, in: UMWELTBUNDESAMT, 1993). Die Richtlinien müssen also in der Gesetzgebung berücksichtigt werden. Unbestreitbar ist, daß der Katalog im Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 inhaltlich zu erfüllen ist. Das bedeutet, daß jede Information, die eine nationale Behörde vom Antragsteller einfordert, in diesem Katalog inhaltlich enthalten sein muß und daß jede Frage zu stellen ist, die sich aus einem der Punkte im Katalog ableiten läßt und für einen bestimmten Organismus relevant sein könnte. Der nationale Spielraum besteht also im wesentlichen in der Vorgangsweise, im Setzen von Schwerpunkten und im Eingehen auf lokale Gegebenheiten, die die ökologische Beurteilung betreffen.

5.3.1 Empfehlungen für eine Vorgangsweise

Form des Antrags

Anträge sollten nicht ausschließlich an ein Formblatt gebunden, sondern auch frei formuliert sein, insbesondere bei der Beschreibung der genetischen Konstrukte. Dadurch besteht die Möglichkeit, die relevanten Sachverhalte (also diejenigen, die sich auf das tatsächlich Neue bei einem Experiment beziehen) in den Vordergrund zu rücken. Außerdem werden im Wissenschaftsbetrieb normalerweise Informationen in dieser Form ausgetauscht, die sich auch bei anderen Anträgen (etwa für die Forschungsförderung) bewährt hat. Der Sachverhalt ist meist kompliziert und im Einzelfall zu prüfen – das Ausfüllen eines Fragebogens, dessen Fragen nicht auf den jeweiligen Fall zugeschnitten sind, kann zu Unsicherheiten und zum Verlust an relevanter Information führen. Andererseits kann ein Fragebogen die relevanten Angaben zusammenfassen, sodaß auch ein Nichtfachmann das Wichtigste in einfacher Form erkennen kann. Es bietet sich daher eine Kombination aus beidem an: eine Darstellung des Projektes und eine Zusammenfassung anhand einer Fragenliste.

Trennung in allgemeine und fallspezifische Fragen

Dies könnte den Antrag von unnötigem Ballast befreien und das Wesentliche hervorheben. Desgleichen sollten häufig verwendete Organismen, wie z. B. einzelne Nutzpflanzen bzw. deren Sorten, oder häufig verwendete genetische Elemente (GUS-Gen, 35S-Promotor etc.) für den Zweck der Risikoabschätzung generell charakterisiert werden; um die Anträge zu straffen, kann dann darauf Bezug genommen werden. Dies wäre Aufgabe einer einzurichtenden Gentechnikkommission.

Ausarbeitung von Katalogen für spezielle Organismengruppen

Viele Freisetzungen betreffen bestimmte Gruppen von Organismen, zum Beispiel herbizidresistente Nutzpflanzen, Lebendvaccinen etc. Einige Punkte des Katalogs im Anhang der EG-Richtlinie treffen nur für bestimmte Organismengruppen zu, z. B. Mikroorganismen, die die Lithosphäre beeinflussen etc. und sind für andere nicht anwendbar oder irrelevant. Auch die Gewichtung der einzelnen Punkte für die Risikoabschätzung ist von den Organismen typen abhängig. Soll dazu die Beurteilung bei einem Inverkehrbringen noch in Verbindung mit dem jeweiligen Materiegesetz erfolgen, wird die Angelegenheit vollkommen unübersichtlich. Gewisse Einteilungen nach Organismengruppen scheinen also notwendig (ähnlich den australischen Richtlinien).

Planung und Sinn des Versuchs

Die Fragen, zu deren wissenschaftlicher Beantwortung ein Freisetzungsversuch unternommen wird, sollten dargelegt werden, damit von Seiten der Behörde oder einer beratenden Kommission Verbesserungsvorschläge am experimentellen Design angebracht werden können. Dies ist bei der Begutachtung wissenschaftlicher Projekte allgemein üblich und bezieht sich nicht auf den Zweck, sondern auf die Planung der Experimente. Allerdings erscheint insbesondere im Sinne öffentlicher Akzeptanz die Frage nach den weiteren Absichten der Versuche und deren Bewertung ebenfalls nicht unwichtig. Für die Risikobeurteilung von Freisetzungen in kleinem Maßstab sind diese Fragen aber meist nicht relevant.

Monitoring

Von Anfang an sollte eine Monitoring-Strategie vorgelegt werden, wobei klar zwischen den verschiedenen Aufgaben des Monitoring (Datenerhebung, wissenschaftlicher Erkenntnisgewinn, Überwachung, Kontrolle) zu trennen ist. Die aufgeworfenen Fragen und die Wege zu ihrer Beantwortung durch das Monitoring sind darzulegen; es sollte plausibel sein, daß die Maßnahmen zur eventuellen Beseitigung oder Eindämmung der Organismen bei unvorhergesehenen negativen Auswirkungen wirksam sind. Die Herstellung des Organismus, dessen Untersuchung im geschlossenen System und seine Freisetzung samt Monitoring sollten logisch integriert werden und aufeinander abgestimmt sein.

Datenbanken

Daten über häufig verwendete Ausgangsorganismen, Gene, genetische Konstruktionselemente und Freisetzungsexperimente einschließlich von Monitoring-Daten etc. können leicht aus internationalen Datenbanken abgerufen werden. Es ist sinnlos, wenn jeder Antragsteller, der eine transgene Kartoffel freisetzen möchte, alle bekannten biologischen Daten der Spezies Kartoffel angibt. Im Sinne von konzisen Antragsformalitäten ist daher soweit wie möglich auf Referenzen zurückzugreifen, die aber leicht zugänglich sein müssen. Dies fördert auch die internationale Vergleichbarkeit der Prüfpraxis und verhindert Schwierigkeiten im Rahmen der EWR- und EG-Notifikation. Ein Problem kann sich aus der Geheimhaltung wichtiger Daten ergeben, die dem Antragsteller schützenswert erscheinen. In diesem Falle wäre es überlegenswert, ob nicht eine weitgehend offene Praxis (wie in den Niederlanden) der Geheimhaltung vorzuziehen wäre, um so möglicherweise umweltrelevante Daten leichter öffentlich diskutieren zu können.

Persönliche Präsentation

Da sich in der Diskussion über ein geplantes Experiment meist unerwartete Fragen ergeben, die sich am leichtesten behandeln lassen, wenn der- oder diejenige anwesend ist, der/die das Experiment plant, sollte neben der Begutachtung der eingereichten Informationen ein persönliches Gespräch des Antragstellers mit der einzurichtenden wissenschaftlichen Fachkommission vorgesehen werden.

Vorgang der Risikoabschätzung

Der Anhang II zur EG-Richtlinie 90/220 enthält keinen Hinweis über die Vorgangsweise bei der Risikoabschätzung, es ist lediglich festgehalten, daß sie stattzufinden hat. Die Abstimmung des Antragsformulars mit der Vorgangsweise bei der Beurteilung wäre aber notwendig, um ein aufwendiges Zusammensuchen von relevanten Informationen für einzelne Risikokriterien zu vermeiden. Daher sollte die Vorgangsweise der Risikoabschätzung festgelegt werden. Hierzu gibt es mehrere Vorbilder (GENHAZ, britische Regelung, verschiedene amerikanische Richtlinien und Regelungen, siehe Kapitel 4). Es könnte auch vorteilhaft sein, den Vorgang nach der Art des Organismus auszurichten (siehe australische Regelung in Kapitel 4).

Worst case-Analyse

Eine solche Analyse beinhaltet die möglichst rationale Abschätzung, was im schlimmsten, einigermaßen plausiblen Falle schiefgehen kann. Derartige Überlegungen sind u. a. Grundlage jeder statischen Berechnung, ohne daß dies Emotionen hervorruft. In manchen Fällen würde der schlimmstmögliche Fall keine Katastrophe darstellen (bei den berühmten Kölner Petunien ist so etwas eingetreten, ohne daß es gravierende schädliche Auswirkungen hatte), in anderen durchaus (ein herbizidresistenter Raps könnte als ubiquitäres Unkraut ein Problem bedeuten, ein pathogenes antibiotikaresistentes Bakterium mit verändertem Wirtsbereich stellt ein großes Risiko dar).

Seltene Ereignisse: Differenzierung nach Stufe

Der Nachweis seltener Ereignisse ist nur bei zeitlicher oder bei zahlen- oder flächenmäßiger Ausdehnung der Versuche möglich. Viele Fragen nach "seltene Ereignisse" können deshalb erst bei Versuchen in großem Maßstab beantwortet werden und sind für begrenzte Freisetzungen in kleinem Maßstab nicht wirklich von Belang. Die Formulierung der Sicherheitskriterien hängt deshalb auch vom Umfang des Versuchs ab. Dies bedeutet, daß (wie in der Praxis der EPA) auf das Scale-Up größerer Wert gelegt werden soll, daß das Stufenprinzip also strikt eingehalten wird (Abweichungen hiervon sollten nur in wirklich gut begründeten Ausnahmefällen gewährt werden). Von kleinen experimentellen Feldversuchen geht ein geringeres Risiko aus als von Versuchen im großen Maßstab, letztere sind also strenger zu beurteilen (es gibt ja auch bereits mehr Daten aus dem vorangegangenen "kleinen" Versuch). Je nach Stufe ergeben sich auch qualitativ unterschiedliche Fragestellungen. Unmittelbar meßbare Eigenschaften, die "klassischen" sicherheitsrelevanten Daten, sollten im Rahmen von Small Scale-Versuchen untersucht werden, seltene Ereignisse und sekundäre Folgen sind beim Scale-Up zu berücksichtigen. Damit können auch die Bedingungen, unter denen ein Organismus in Verkehr gebracht werden darf (Einsatzbedingungen, bestimmte Restriktionen aus regionalökologischen Gründen etc.), besser bestimmt werden.

Sozioökonomische Parameter

Die Risikoabschätzung nach technischen Sicherheitskriterien und die Beurteilung möglicher sozioökonomischer Auswirkungen ist so weit wie möglich zu trennen. Fragen, die nicht die eigentliche Risikoabschätzung betreffen, sollten nicht zum Kriterium für die Zulassung eines Freisetzungsexperiments gemacht werden. Trotzdem kann vom Antragsteller erwartet werden, daß er in der Lage ist, auf diesbezügliche Fragen zu antworten, ein "Maulkorb" für die Kommission wäre fehl am Platz. Das Stufenprinzip gewährleistet aber, daß mögliche sozioökonomische Auswirkungen bei Versuchen im kleinen Maßstab zunächst nicht zu erwarten sind, somit sollte Zeit sein, derartige Aspekte in größerem Zusammenhang zu behandeln. Richtlinien, welche Anwendungen wünschenswerter sind als andere, sollten in einer Kommission erarbeitet werden.

Beziehung zu anderen Materieregelungen

In einigen Fällen bedürfen Produkte, die GVO enthalten oder aus solchen bestehen (Lebensmittel, Impfstoffe, Pflanzensorten etc.) auch einer Genehmigung nach einem Materiegesetz, meist verbunden mit einer Prüfung. Im Sinne der Vereinfachung könnten die Risikoabschätzung für das Inverkehrbringen und diese einzelnen Prüfungen aufeinander abgestimmt werden, sodaß einige Teiluntersuchungen wechselseitig anerkannt werden. Da aber die Prüfungen nach den Materiegesetzen zumeist für das Inverkehrbringen notwendig sind, haben derartige Vorschriften für die Genehmigung von Freisetzungen zu Versuchszwecken meist wenig Bedeutung. Trotzdem sollten Anforderungen, die aus Materiegesetzen insbesondere für die erwähnten Produkte abgeleitet werden können, möglichst frühzeitig in die Risikoabschätzung einfließen, um spätere Probleme zu vermeiden.

5.3.2 Inhaltliche Schwerpunkte bei der Risikoabschätzung

Bessere Charakterisierung

Oft reicht eine Beschreibung nach Gattung und Art nicht aus, insbesondere in der Frage der Kreuzbarkeit verschiedener Arten innerhalb einer Pflanzengattung kann es zu Schwierigkeiten kommen. Fallweise müssen daher auch Verwandtschaftsverhältnisse zwischen Gattung und Art dargelegt werden. Ähnliches gilt für Sorten, Kultivare, Unterlagen bei Pfropfun-gen, von denen regionalspezifische Verbreitungen abhängen etc. Diese Daten können meist einschlägigen agronomischen und gärtnerischen Werken entnommen werden. Bei vielen Mikroorganismen ist die Charakterisierung hingegen ein Problem; außerdem ist nur ein geringer Teil der Mikroorganismen bekannt. Hier ist von Fall zu Fall zu unterscheiden, ob die verfügbaren Informationen ausreichend sind. Die wissenschaftliche Charakterisierungsmöglichkeit ist allerdings nicht immer mit den praktisch verfügbaren Informationen über einen bestimmten Organismus gleichzusetzen, auf letztere sollte auf keinen Fall verzichtet werden.

Markierung

Eine eindeutige Erkennbarkeit ist unbedingt notwendig. Die Eindeutigkeit und Zuverlässigkeit ist wichtiger als die Methode, mit der dies geschieht. Daher scheint die generelle Einführung molekularer Marker nicht notwendig, solange der Organismus auf andere Art eindeutig und einfach erkennbar ist.

Beurteilung von wichtigen Eigenschaften

Die für die Sicherheitsbeurteilung eines transgenen Organismus wichtigsten Eigenschaften betreffen die Möglichkeiten zum Gentransfer einschließlich der Fortpflanzung sowie Veränderungen der relativen Überlebensfähigkeit, also Verwilderung, Verdrängung und Verbreitung einschließlich der Dauerformen. Der Einfluß der gentechnischen Veränderung auf diese Eigenschaften sollte eindeutig aus dem Antrag auf Freisetzung hervorgehen.

Beurteilung der Veränderungen

Um möglichst rasch zu den für das jeweilige Experiment charakteristischen Problemen zu gelangen, sollen nach der Beurteilung der Ausgangsparameter (Organismus, Gen, Umwelt) diejenigen Punkte herausgehoben werden, die gegenüber den Ausgangsbedingungen und gegenüber früheren Freisetzungen ähnlicher Organismen neu sind. Es soll also das Neue beurteilt werden, vor dem Hintergrund des Bekannten.

Vertrautheit

Dieses Konzept bietet zahlreiche Vorteile, z. B. die Möglichkeit, Langzeiteffekte u.a. mit Hilfe von Analogieschlüssen abzuschätzen. Der Anhang II der Richtlinie 90/220 EWG beinhaltet zwar das Prinzip der Vertrautheit, es findet sich aber versteckt in mehreren Fragestellungen. Zunächst ist ausdrücklich nach bekannten Eigenschaften der Ausgangsorganismen und der betreffenden Umwelt zu fragen, wobei die Eigenschaften auch in größerem Zusammenhang zu sehen sind (Einsatz als Nutzpflanze etc.). Für eine Risikoabschätzung ist auch die Betrachtung der nichtmodifizierten Wildformen notwendig, funktionsanaloge Mechanismen sollten dabei berücksichtigt werden. Aus dem Prinzip der Vertrautheit kann zunächst ein Eindruck gewonnen werden, welche Funktion Spender- und Empfängerorganismus im entsprechenden Habitat haben. Der erste Teil der Risikoabschätzung könnte unter besonderer Berücksichtigung des Prinzips der Vertrautheit auch Eigenschaften verwandter oder funktionell ähnlicher Organismen miteinbeziehen.

Analogien

Der Vergleich zwischen der Freisetzung von GVO und der Einführung nichtheimischer Arten ist die bekannteste Analogie, wenn auch deren Aussagekraft von Fall zu Fall stark unter-

schiedlich ist. Trotzdem sollte auf Analogien nicht verzichtet werden, oft sind sie die einzige Möglichkeit, zu Aussagen zu gelangen. Zu achten ist auf eine eindeutige Begründung, warum eine Analogie in einem bestimmten Fall zulässig und sinnvoll ist.

Alternativen

Zur besseren Einschätzung des Risikos, das von einem GVO ausgeht, kann ein nicht gentechnisch veränderter Organismus mit gleicher oder ähnlicher Funktion auf mögliche Risiken untersucht werden. Dieser Vergleich des Neuen mit dem Bestehenden ist bei Impfstoffen bereits üblich und muß auch für gentechnisch veränderte Impfstoffe gelten. Wenn es Alternativen gibt, sollten sie nach im wesentlichen gleichen Kriterien wie der GVO beurteilt werden. Der Begriff muß allerdings eng gefaßt werden, es kann nicht z. B. um generelle Alternativen für die Landwirtschaft im Sinne einer Umstellung auf biologische Bewirtschaftung gehen, dies wäre eine darüber hinausgehende Aufgabe. Ein bestimmter gentechnisch veränderter Organismus kann nur mit einem ähnlichen, möglichst leistungsgleichen, nicht gentechnisch veränderten verglichen werden, wenn ein derartiger existiert (ähnlich wie bei Impfstoffen üblich). Dann sind Aussagen möglich, welche Risiken bisher in Kauf genommen wurden, und ob eine Erhöhung oder Reduktion des Gesamtrisikos durch den GVO zu erwarten ist.

5.3.3 Ökologische Beurteilung

Beschreibung der Umwelt

In der Diskussion innerhalb der OECD wurde wiederholt angemerkt, daß bei der Freisetzung bislang ökologische Aspekte, vor allem sogenannte "seltene Ereignisse" und Kriterien für Überwachungsmaßnahmen nicht ausreichend berücksichtigt wurden (OECD, 1992d). Dies ist aber nur möglich, wenn die jeweiligen Umweltbedingungen vermehrt in die Risikoabschätzung eingehen. Aus diesem Grund sollte ein Kataster über österreichische Biotope erstellt werden, in denen Freisetzungen möglicherweise stattfinden könnten. Dies entbindet nicht von der Pflicht, die jeweiligen Standortbedingungen anzugeben, erleichtert aber die Antragstellung und die Beurteilung, weil auf charakteristische Eigenschaften des Ortes vor dem Hintergrund des allgemeinen Typus eingegangen werden kann. Für Pflanzen sollte dies ohne weiteres möglich sein, für Mikroorganismen ist ein Katalog von relevanten (Boden-)Parametern zu erstellen. Das Umweltbundesamt hat einen Biotoptypenkatalog vorgelegt (UMWELTBUNDESAMT, 1989), der als Vorlage für solche Erhebungen dienen könnte. Bei Mikroorganismen wird die Beschreibung der (mikrobiellen) Umwelt dadurch erschwert, daß wahrscheinlich weniger als 20 Prozent der Mikroorganismen bekannt und charakterisiert sind.

Simulation unterschiedlicher Umweltbedingungen

Bei Versuchen im geschlossenen System (Glashaus, Mikrokosmos etc.) ist darauf zu achten, daß der Organismus unter möglichst vielen verschiedenen Umweltbedingungen untersucht wird, die auch im Freiland vorkommen können. Das bedeutet, daß künstliche "Störungen" eingeplant werden. Da unerwartete Effekte bei Pflanzen in den meisten Fällen im Anschluß an veränderte Umweltbedingungen beobachtet wurden, können diese so am besten untersucht oder ausgeschlossen werden.

Beteiligung von Ökologen

Die Beurteilung der ökologischen Auswirkungen von Freisetzungen erfordert einen speziellen Sachverstand. Daher kann eine sachgerechte Beurteilung ohne ökologische Expertise nicht durchgeführt werden. Dies ist einer der wichtigsten Punkte, die bei der Einrichtung einer Kommission zur Beurteilung von Freisetzungen zu beachten sein wird. Sinnvollerweise

sollte dieser Sachverstand gepaart sein mit einem molekularbiologischen Grundverständnis, um die gentechnische Konstruktion und die daraus folgenden Eigenschaften beurteilen zu können. Bei der Diskussion in den Arbeitsgruppen wurde sehr bedauert, daß zu wenig Ökologen zur Verfügung standen. Ein weiterer Grund, warum Fachleute aus Gebieten wie der Ökologie beteiligt werden sollten, ist die ansonsten bestehende Gefahr des "Insiderturns", eine Tendenz, die umso stärker ist, je homogener eine Gruppe zusammengesetzt ist. Damit wird die Objektivität und die Glaubwürdigkeit bedroht. Voraussetzung ist allerdings, daß sich jeder mit der Problematik vorurteilslos auseinandersetzen bereit ist.

Indirekte Effekte

Darunter sind Auswirkungen von GVO zu verstehen, die nicht durch die Organismen selbst, sondern aufgrund ihrer Anwendung entstehen und unmittelbar sicherheitsrelevant sind (z. B. Resistenzen bei Schadinsekten, hervorgerufen durch insektenresistente Nutzpflanzen). Solche Effekte sind beim Scale up, also bei Freisetzungen in großem Maßstab zu berücksichtigen, in der Regel aber nicht bei kleinen Feldversuchen (siehe oben). Auswirkungen, die durch den Menschen eintreten können (wie der übermäßige Herbizidgebrauch durch falsche Anwendung von herbizidresistenten Pflanzen), sollten bei der Zulassung zum Inverkehrbringen diskutiert werden können. Auch wenn in anderen EG-Staaten derartige Produkte auf dem Markt und Importe nach Österreich zu erwarten sind, sollte vorab eine Diskussion über mögliche Folgen bei unsachgemäßer Anwendung geführt werden.

5.4 ERGEBNISSE DER ARBEITSGRUPPEN, VORSCHLÄGE FÜR MODIFIZIERUNGEN DES ANHANGS II DER EG-RICHTLINIE 90/220

Zur Erinnerung sollen die Anforderungen an die Beurteilungskriterien noch einmal aufgelistet werden, die aus den Ergebnissen der Arbeitsgruppen für die Freisetzung von Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren abgeleitet wurden. Demnach sollen bei der Beurteilung eines transgenen Organismus für eine Freisetzung (neben den oder in Interpretation der Informationserfordernisse nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220) folgende Punkte beachtet werden:

5.4.1 Empfehlungen für die Beurteilung von Mikroorganismen

I. Empfängerorganismus

Genauere Charakterisierung des Empfängerorganismus einschließlich der enthaltenen Plasmid- und Phagensysteme.

Genauere Darstellung der bisherigen Verwendung und der Erfahrungen mit dem Empfängerorganismus.

Diese Punkte betreffen Abschnitt II A des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 für den Empfängerorganismus. Einerseits erscheint eine zusammenhängende Darstellung und Charakterisierung des Organismus sinnvoller als eine Abhandlung Punkt für Punkt, andererseits sollte mehr Wert auf das "genetische Umfeld" gelegt werden. Ebenso wichtig wie die Eigenschaften des Organismus selbst sind die Möglichkeiten für den Mikroorganismus, Gene auszutauschen und damit Eigenschaften zu verändern. Dies geschieht aber nicht völlig unbeschränkt, sondern es stehen ihm hierzu gewisse Plasmid- und Phagensysteme zur Verfügung. Darüber hinaus kann er aber über eines oder mehrere dieser Systeme mit anderen Mikroorganismen in Kontakt treten, die wiederum über bestimmte andere Systeme mit anderen Organismen kommunizieren und

so den verfügbaren Genpool erweitern. Mikroorganismen stellen also in einem bestimmten Rahmen offene genetische Systeme dar.

Der zweite Punkt betrifft die "Vertrautheit", ein Kriterium, dem auch die OECD große Bedeutung beimißt (OECD, 1992b). Ein Mikroorganismus, über den bereits viel bekannt ist (wie *E. coli*) oder der bereits lange Zeit hindurch praktisch verwendet wurde (im Freiland etwa *Rhizobium*, das seit nahezu einem Jahrhundert für die Ertragssteigerung bei bestimmten Pflanzen angewendet wird) ist, leichter einschätzbar als ein Bakterium, das zwar offensichtlich nicht gefährlich ist, aber erst seit relativ kurzer Zeit verwendet wird, und für das grundlegende Daten zur Ökologie fehlen (wie *Clavibacter*). Freisetzungen kommen demnach nur für solche Mikroorganismen in Frage, für die die anfangs erwähnten Bedingungen gelten.

II. Genetische Veränderung

Zusammenhängende Darstellung der genetischen Konstruktion einschließlich möglicher sicherheitsrelevanter Details (Stabilität, Integration, Sicherheitselemente etc.).

Es hat sich erwiesen, daß die zusammenhängende Darstellung des Konstruktionsplans und der verwendeten Methoden mehr Aufschluß über sicherheitsrelevante Tatsachen gibt als eine Bearbeitung anhand einzelner Punkte des Anhangs II. Hierbei können auch Sicherheitsmerkmale wie "Selbstmordgene" oder besondere Methoden der Integration in das Genom sowie Möglichkeiten für die eindeutige Identifikation im Zusammenhang dargestellt werden. Angaben hierzu sind im Anhang II verteilt auf die Abschnitte II.A., B., C.(1) und V.A.

Die Arbeitsgruppe sprach weiters eine

allgemeine Empfehlung, Antibiotikaresistenzmarker zu vermeiden

aus und schließt sich damit einer Forderung der OECD an, die eine Verbreitung von Antibiotikaresistenzen eindämmen will, obwohl diese in erster Linie durch die übermäßige Antibiotikaverwendung in der Human- und Veterinärmedizin vorangetrieben wird. Es sollte aber zu keiner zusätzlichen Verbreitung durch transgene Mikroorganismen kommen. Weiters sollten in einem Antrag

Angaben zu Auswirkungen, falls das eingeführte Gen außerhalb des GVO in der Umwelt verbleibt,

enthalten sein. Dies ist eine Art "worst case"-Annahme in bezug auf Gentransfer. Der Organismus, in dem das Gen zuerst in das Ökosystem eingebracht wurde, ist dabei aufgrund von Selektionsnachteilen verschwunden, das eingebrachte Gen jedoch wurde von anderen Mikroorganismen aufgenommen und weitergegeben. Dieser Fall ist vermutlich weniger selten als angenommen und muß daher untersucht werden.

III. Versuchsplan

Beurteilung des vorgeschlagenen Experiments daraufhin, ob es geeignet ist, die gestellte Frage zu beantworten.

Abschnitt III.A. des Anhangs II fordert zwar die Beschreibung der vorgeschlagenen Freisetzung und ihrer Ziele, geht aber nicht darauf ein, inwieweit die angegebenen Methoden und Vorgangsweisen geeignet sind, diese Ziele zu erreichen. So führt zum Beispiel das Bestreben, eine möglichst geringe Zahl von GVO freizusetzen, unter Umständen zu einem Versuchsplan, der keine statistisch signifikanten Aussagen zuläßt oder der die Untersuchung seltener Effekte nicht erlaubt. Unter Umständen muß deshalb das Experiment wiederholt werden, wodurch das Gesamtrisiko steigt.

IV. Beurteilung des GVO

Möglichkeiten für die Beurteilung von nicht-GVOs oder von anderen Alternativen nach den gleichen Kriterien.

Diese Möglichkeit ist im Anhang II nicht explizit vorgesehen, sie kann aber eine Hilfestellung bei der Risikobewertung bieten. Die Beurteilung von Risiken, die zum gleichen Zweck durch andere Organismen hervorgerufen werden, kann, wenn sie sich eng an die gestellte Frage hält und strikt nach den gleichen Kriterien und in derselben Weise durchgeführt wird, einen Eindruck davon vermitteln, ob das Risiko einer Freisetzung von GVO tolerabel sein kann oder nicht. Das absolute Risiko wird zwar dadurch nicht größer oder kleiner, die Relationen zu ähnlichen Risiken, die zu demselben Zweck eingegangen werden, würden aber klarer. (Dies hat nichts zu tun mit dem Vergleich zu Risiken, die beim Rauchen oder Autofahren selbstverständlich eingegangen werden, sondern vergleicht solche, die in Kauf genommen werden, um unmittelbar dasselbe Ziel zu erreichen.) Bei der Prüfung von Lebendimpfstoffen sind z. B. verschiedene Präparate nach denselben Kriterien miteinander zu vergleichen, ungeachtet dessen, ob es sich um GVO oder um anders hergestellte Stämme handelt.

Beziehung zu anderen Vorschriften und Beurteilungskriterien, denen der Organismus in der Folge voraussichtlich unterworfen werden wird.

Bei experimentellen Freisetzungen in kleinem Maßstab spielen Produktrisiken, die erst im Falle eines Inverkehrbringens relevant werden, keine große Rolle. Dennoch erscheint es sinnvoll, bei Freisetzungen von Organismen, deren spätere Verwendung klar ist (etwa von Impfstoffen), die einzelnen Materieregelungen im Auge zu behalten, um spätere Schwierigkeiten zu vermeiden. Untersuchungen, die im Zuge einer Risikoabschätzung für eine Freisetzungsgenehmigung durchzuführen sind, könnten in späteren Genehmigungsverfahren nach Materiegesetzen dann anerkannt werden, wenn bestimmte mit diesen Materieregelungen kompatible Kriterien von vornherein mitberücksichtigt werden. Umgekehrt könnte die Risikobeurteilung einer Freisetzung in großem Maßstab von solchen Untersuchungen profitieren, die in anderem Zusammenhang für die Zulassung nach einem Materiegesetz durchzuführen sind, für Freisetzungen aber nicht unbedingt erforderlich wären. Zum Beispiel könnten verschiedene Untersuchungen, die für eine Sortenprüfung von Nutzpflanzen notwendig sind, mit Analysen abgestimmt werden, die Voraussetzung für eine Risikoabschätzung vor einer Freisetzung sind. Auf diese Weise könnten sich unterschiedliche Vorschriften komplementieren, wenn rechtzeitig darauf geachtet wird, daß sie miteinander kompatibel durchgeführt werden.

Die Ergebnisse der Beratungen der Arbeitsgruppe "Mikroorganismen" können darüber hinaus nicht zu generellen oder spezifischen Kriterien verdichtet werden, weil Freisetzungen von Mikroorganismen schwieriger beurteilbar sind als die von Pflanzen. Es war zu bemerken, daß Freisetzungen von Mikroorganismen deutlich kontroverser beurteilt wurden als solche von Nutzpflanzen. Dies mag einerseits daran liegen, daß letztere in vielen Ländern schon in großem Umfang durchgeführt wurden und auch in Österreich zumindest zwei Projekte laufen, die auf eine Freisetzung abzielen. Demgegenüber besteht auch international weitaus weniger Erfahrung mit der Freisetzung von Mikroorganismen, und in Österreich gibt es niemanden, der in absehbarer Zeit eine solche ins Auge faßt.

Ein weiterer Grund liegt in der mangelnden Kenntnis auf dem Gebiet der mikrobiellen Ökologie. Die Arbeitsgruppe empfahl daher, die Forschung auf diesem Gebiet zu intensivieren. Erst wenn Molekularbiologie und Ökologie einander komplementieren, kann die Grundlage für eine sinnvolle Risikoabschätzung und -bewertung gelegt werden.

Eine Adaptierung des Anhangs II der EG-Richtlinie 90/220 wurde nicht als nötig empfunden; da dieser im wesentlichen auf Mikroorganismen ausgerichtet ist, kann dieser ohne große Änderungen (bis auf die Empfehlung der zusammenhängenden Darstellung vor allem der genetischen Konstruktion) direkt übernommen werden, vorausgesetzt, man einigt sich auf einen Mechanismus der Risikoabschätzung. Dieser könnte sich an die britische Vorgangsweise (siehe Kapitel 4) anlehnen, wenn die oben angeführten Punkte berücksichtigt werden. Darüber hinaus sollte das Ökosystem, in das freigesetzt wird, mit größerer Sorgfalt beschrieben werden, sofern diesbezügliche Daten überhaupt vorhanden sind.

5.4.2 Empfehlungen für die Beurteilung von Pflanzen

Der Arbeitsgruppe "Pflanzen" gelang es, Vorschläge für die Risikobeurteilung zusammenzustellen. Dies war möglich, weil konkretere Informationen zu den behandelten Beispielen vorlagen als in der Arbeitsgruppe "Mikroorganismen" und die in eine potentielle Freisetzung in Österreich involvierten Wissenschaftler persönlich an den Beratungen teilnahmen. Außerdem gibt es insgesamt mehr Erfahrung mit der Freisetzung transgener Nutzpflanzen. Folgende Informationen müssen demnach für eine Risikobeurteilung vorliegen, wobei die Reihenfolge gegenüber der Darstellung in Kapitel 2 etwas verändert wurde:

I. Zweck des Versuchs

Darstellung der Zielsetzung und der experimentellen Vorgangsweise.

Angabe früherer ähnlicher Versuche und ihrer Ergebnisse.

II. Zusammenhängende genaue Beschreibung

- *der Merkmale des Empfängerorganismus*
- *der durch das übertragene Gen vermittelten Eigenschaften*
- *des genetischen Konstrukts und seiner Elemente.*

Angaben darüber, wie gut bekannt jedes dieser Ausgangselemente ist. Zitate der Referenzliteratur für häufig verwendete Elemente (Empfängerorganismen, Konstruktionselemente wie Plasmide, Gene etc.).

III. Beschreibung des GVO

Voraussichtliche und in Vorversuchen erhobene Eigenschaften des GVO.

Nicht charakterisierte fremde Nukleinsäuren, die im transgenen Organismus integriert sind.

IV. Zusammenhängende genaue Beschreibung des Freisetzungsortes als Ökosystem und seiner Eigenschaften (als Teil der bekannten Ausgangselemente)

V. Risikoabschätzung

Abschätzung der Risiken im Vergleich zum Empfängerorganismus (Wettbewerbsvorteile, Verwilderung, übermäßige Populationszunahme, Überleben, Vermehrung, Verbreitung).

Einfluß der gentechnischen Veränderung auf die Fähigkeit, zu verwildern.

Abschätzung der Risiken für einen Gentransfer (genaue Charakterisierung des Bestandes und der möglichen Kreuzungspartner), Einfluß der gentechnischen Veränderung darauf.

Abschätzung der Risiken, falls das Transgen übertragen werden sollte (als "worst case").

Für das Inverkehrbringen: Angabe der ökologischen Bedingungen und daraus abgeleitet der Verwendung, für die eine Zulassung ausgesprochen werden kann.

VI. Erläuterung des Versuchsplanes

Aufgliederung der Fragestellung des Versuchs danach, welche Teilfragen während der Freisetzung und welche durch ein anschließendes Monitoring beantwortet werden sollen, Angaben der hierzu vorgesehenen Verfahren.

Darstellung des gegenüber vorherigen Freisetzungsversuchen charakteristisch Neuen und dessen voraussichtlicher Einfluß auf sicherheitsrelevante Sachverhalte (wichtig u. a. für die Entscheidung, ob ein "vereinfachtes Verfahren" in Frage kommt).

Darstellung des Zeitrahmens des Versuchs nach biologischen Zeitabläufen (Vegetationsperioden, Blütezeit etc.).

Hier liegt also das Gewicht auf der genauen Beschreibung dessen, was bekannt ist, nämlich des Ausgangsorganismus, des Gens und der Umwelt. Daneben steht der Versuchsplan im Mittelpunkt. Die Risikoabschätzung ergibt sich aus diesen beiden Elementen und den erwarteten Eigenschaften des GVO, wobei der Anteil des möglicherweise im Organismus verbleibenden, uncharakterisierten, fremden genetischen Materials so gering wie möglich zu halten ist.

Weiters wird vorgeschlagen, folgende Informationen im Zuge der Risikobeurteilung zu erheben:

- *Nicht gentechnisch veränderte Pflanzen mit ähnlichen Eigenschaften und bisherige Erfahrungen damit;*
- *Pflanzen anderer Art, die das eingeführte Gen ebenfalls beinhalten und bisherige Erfahrungen damit;*
- *Bisheriges Verhalten des Ökosystems, in das freigesetzt werden soll, bei der Einführung von neuen Arten oder Pflanzen mit ähnlichen Eigenschaften wie der GVO;*
- *Daten aus Labor-, Glashaus- und anderen Versuchen, die Aufschluß über das Verhalten des GVO unter verschiedenen klimatischen und geographischen Bedingungen geben (Trockenheit, übermäßige Feuchtigkeit, Hitze, Kälte, UV-Strahlung etc.);*
- *Biotop der Freisetzungsumgebung und angrenzender Gebiete, die vom GVO oder seinen Nachkommen beeinflusst werden könnten, nach einer zu erstellenden Liste österreichischer Biotope.*

Sollen diese Forderungen Berücksichtigung finden, könnte der Kriterienkatalog für die im Rahmen einer Risikoabschätzung zu erhebenden Informationen, in Anlehnung an Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 etwa folgendermaßen aufgebaut sein, wobei Ergänzungen für bestimmte Fälle notwendig sein werden. Am Anfang stehen wie in Abschnitt I. des Anhangs II der EG-Richtlinie allgemeine Informationen über den Antragsteller etc.:

5.4.2.1 Vorschlag für einen Kriterienkatalog zur Beurteilung von Freisetzungen transgener Pflanzen

I. ALLGEMEINE INFORMATIONEN (siehe Anhang II)

II. ZWECK DES VERSUCHS

1. Kurze Beschreibung der vorgeschlagenen absichtlichen Freisetzung hinsichtlich der Zielsetzung(en) und möglicherweise geplanter Produkte,
2. Darstellung des spezifisch Neuen des vorgeschlagenen Experiments.

III. BESCHREIBUNG DER AUSGANGSELEMENTE

A. Empfängerorganismus

- a. *genaue Definition der Pflanze nach vorhandener Literatur (Angabe der Zitate)*
 1. wissenschaftliche und züchterische Bezeichnung
 2. taxonomische Daten (auch Position innerhalb der Gattung)
 3. Sortenbeschreibung einschließlich züchterischer phänotypischer und genetischer Merkmale, Identifizierungsmöglichkeiten und ihre Eindeutigkeit, genetische Stabilität und bisherige züchterische Veränderungen
 4. Erfahrungen mit anderen transgenen Pflanzen dieser Art.
- b. *Angaben zur Ökologie der Pflanze*
 1. Herkunft, geographische Verbreitung und Art der Nutzung und des Anbaus
 2. Kreuzbarkeit
 3. Generations- und Lebensdauer, geschlechtliche und ungeschlechtliche Vermehrung
 4. Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit, Kälte etc.
 5. Bildung von Samen und Überdauerungsformen und deren Widerstandsfähigkeit, Ausbreitungsweise
 6. bisher beobachtete Tendenzen zur Verwilderung
 7. Art und Menge von Toxinen in verschiedenen Organen, bekannte Allergenität
 8. Herbizidresistenzen; derzeitige Nutzung dieser Herbizide
 9. Prüfung auf latente Viren, Eigenschaften eventuell vorhandener Viren.

B. Spenderorganismus

(Liste müßte ggf. bezüglich anderen Spenderorganismen ergänzt werden)

- a. *Angaben zur Herkunft des Gens aus viralen Pflanzenpathogenen*
 1. Wirtsbereich
 2. Mechanismus der Pathogenität, Übertragungsweg, Vermehrung
 3. genetische Vielfalt, Mutationsrate, Möglichkeiten für Rekombination und genetischen Austausch
- b. *Angaben zur Herkunft des Gens aus mikrobiellen Symbionten:*
 1. Wirtsbereich
 2. Art der Wechselwirkung, Bedeutung für die Pflanze
 3. genetische Variabilität, Möglichkeiten für genetischen Austausch.

- c. *Angaben zur Herkunft des Gens aus anderen Pflanzen:*
1. Verwandtschaft, Kreuzbarkeit
 2. Rolle des übertragenen Gens für diese Pflanze.
- d. *für alle:*
1. bisherige Verwendung und Erfahrungen
 2. geographische Verbreitung
 3. Erfahrungen mit anderen transgenen Pflanzen, die dieses Gen enthalten.

C. Verwendete genetische Elemente, Konstruktion und Transformation

1. *Konstruktionsprotokoll wie im Formular für die Mitteilung zwischen den Behörden der EG-Länder, Abschnitt B (RAT DER EG, 1991) gefordert.*
2. *Angabe der Herkunft (Literatur) von Vektor, Promotor, anderen genetischen Elementen der Konstruktion und des übertragenen Gens, bisherige Verwendung dieser Elemente.*
3. *Angabe der verwendeten Methoden für die Konstruktion, Transformation und Selektion (Literaturzitate, wenn nicht neue Methoden).*
4. *Angaben, welche Einzelheiten gegenüber bisherigen (zitierten) Versuchen anders sind*
5. *Angaben über nicht charakterisierte übertragbare Sequenzen, mögliche offene Leserahmen und Funktionen entstehender Genprodukte.*

IV. INFORMATIONEN ÜBER DEN ENDGÜLTIGEN GVO

1. *Stabilität der eingeführten genetischen Information*
2. *verfügbare Angaben zum Integrationsort und über nicht charakterisierte übertragene Sequenzen*
3. *Möglichkeiten für die eindeutige Identifikation, Verfahren zum Nachweis der eingeführten Sequenz und des Vektors und deren Empfindlichkeitsgrad (insbesondere, wenn es sich um neue Verfahren handelt, ansonsten Literatur)*
4. *Angaben zur Expression des neuen genetischen Materials und der Aktivität der exprimierten Proteine, Meßverfahren und deren Empfindlichkeitsgrad (insbesondere, wenn es sich um neue Verfahren handelt, ansonsten Literatur)*
5. *Beschreibung der neuen Eigenschaften, wie sie aus Versuchen im geschlossenen System (Labor, Glashaus) ersichtlich sind, einschließlich Angaben über eliminierte Merkmale und pleiotrope Effekte*
6. *Untersuchungen über Verhalten und Eigenschaften des GVO und seiner ökologischen Auswirkungen, die unter verschiedenen simulierten Umweltbedingungen, wie sie natürlicherweise auftreten können, in Klimakammern und Gewächshäusern durchgeführt wurden*
7. *toxische oder mögliche allergene Auswirkungen der transgenen Pflanze oder ihrer Teile, sofern sich diese in der Art oder Höhe von denen des Empfängerorganismus unterscheiden*
8. *mögliche Produktrisiken (nicht für experimentelle Freisetzungen in kleinem Maßstab) bzw. aus Materieregelungen zu erwartende Anforderungen in bezug auf die übertragenen Eigenschaften.*

V. INFORMATIONEN ÜBER DIE UMWELT

1. *geographische Lage des Ortes der Freisetzung (Katasterangabe)*
2. *Größe des Geländes*
3. *Beschaffenheiten und Bewirtschaftung des Freisetzungsgeländes, die ein besonderes Risiko mit sich bringen können (Art und Methode des Anbaus, Bewässerung oder andere Tätigkeiten)*
4. *klimatische und andere Merkmale des Gebiets, das wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen wird (Angaben, wie sie bei landwirtschaftlichen Versuchen üblich sind)*
5. *bereits bekannte, in dem Gebiet geplante Erschließungen oder Geländeumwidmungen, die sich auf den Umwelteinfluß der Freisetzung auswirken könnten*
6. *Nähe zu menschlichen Ansiedlungen und landwirtschaftlichen Betrieben, Bevölkerungsdichte*
7. *Nähe zu wichtigen Biotopen oder aus verschiedenen Gründen geschützten Gebieten*
8. *Beschreibung des Ökosystems am Freisetzungsort und Charakterisierung anhand eines zu erstellenden "Biotop-Katasters"*
9. *Erfahrungen mit früheren Freisetzungen transgener Pflanzen in diesem Ökosystem*
10. *Erfahrungen mit nicht-transgenen Pflanzen, die ähnliche Eigenschaften haben wie die zu untersuchende transgene Pflanze, in diesem Ökosystem*
11. *Vergleich zwischen dem natürlichen Lebensraum des Empfängerorganismus und dem für die Freisetzung vorgesehenen Gebiet.*

VI. ANGABEN ZU ÖKOLOGISCH BEDEUTSAMEN EIGENSCHAFTEN DER GVO IM VERGLEICH ZUM EMPFÄNGERORGANISMUS, EINFLUSS DER GENTECHNISCHEN VERÄNDERUNG DARAUF

A. *Eigenschaften, die zu Wettbewerbsvorteilen, Verwilderung und Verbreitung führen könnten*

- a. *Angaben zu Eigenschaften, die das Überleben beeinflussen wie*
 1. *Resistenzen gegen Herbizide*
 2. *Resistenzen und Toleranzen gegen Umwelteinflüsse (Temperatur, Wasserangebot, Wind, Sonneneinstrahlung, Salz, pH, Schwermetalle etc.)*
 3. *veränderte Eigenschaften und Resistenzen der Samen und Dauerformen.*
- b. *Angaben zu Eigenschaften, die die Vermehrung beeinflussen wie*
 1. *erhöhte Fruchtbarkeit*
 2. *kürzere Vegetationsperiode*
 3. *vermehrte Sproßbildung.*
- c. *Angaben zu Eigenschaften, die die Verbreitung beeinflussen wie*
 1. *veränderte oder erhöhte Fähigkeit zur Verdrängung*
 2. *Möglichkeiten für eine weitere Samenverbreitung*
 3. *geänderte Ansprüche oder größere Toleranz gegenüber dem Standort.*
- d. *Potential für eine übermäßige Populationszunahme in der Umwelt*
 1. *Änderungen des vorgesehenen Lebensraums des GVO gegenüber dem Empfängerorganismus*

2. Angaben zu Eigenschaften des GVO, die nach der Freisetzung zu Selektion und Ausprägung unerwünschter Merkmale bei dem veränderten Organismus führen könnten
3. Ökosysteme, in die der GVO sich ausbreiten könnte, abgeschätzt anhand von Analogien
4. verwandte Arten, die erfolgreich eingebürgert wurden oder verwandte Nutzpflanzen, die verwildert sind.

B. Möglichkeiten für Gentransfer

1. Kreuzungspartner am Ort der Freisetzung oder Entfernung zum nächsten Standort von Kreuzungspartnern, Vergleich zur Pollenverbreitungsweite
2. mögliche Auswirkungen auf das Ökosystem, wenn das eingeführte Gen von der transgenen Pflanze auf einen Kreuzungspartner übertragen wird
3. Gene von Kreuzungspartnern, die Unkrauteigenschaften bewirken können und mögliche Auswirkungen auf das Ökosystem, wenn diese Gene auf die transgene Pflanze übertragen werden
4. Möglichkeiten für andere Wege des Gentransfers nach Stand der Wissenschaft.

C. Auswirkungen auf Ziel- und Nichtzielorganismen

1. Identifizierung und Beschreibung der Zielorganismen
2. Wechselwirkungen, mit deren Hilfe der erwünschte Effekt auf die Zielorganismen ausgeübt wird
3. mögliche Auswirkungen, die durch Reaktionen der Zielorganismen eintreten (z. B. Resistenzen, Änderungen der Wirtsspezifität etc.)
4. Nichtzielorganismen, die voraussichtlich beeinflusst werden könnten und bekannte oder vorhersehbare Wirkungen auf diese
5. Sekundäreffekte auf andere Organismen, die mit diesen Nichtzielorganismen in Wechselwirkung stehen, soweit dies (z. B. anhand von Analogien) abschätzbar ist, insbesondere beim Scale Up.

VII. BESCHREIBUNG DES GEPLANTEN FREISETZUNGSEXPERIMENTS

A. Fragestellung

1. genaue Aufgliederung der Fragestellungen, die mit Hilfe des Freisetzungsexperiments zu beantworten beabsichtigt sind und der dafür angewandten Methoden
2. Angaben darüber, welche Fragen während des eigentlichen Freisetzungsversuchs und welche im Laufe der Nachbeobachtung untersucht werden sollen.

B. Versuchsplan

Zeitpunkte und Angaben der geplanten Methoden für die Freisetzung i. e. S. (Auspflanzung), Beobachtungen, Überwachung, Beendigung des Versuchs und Nachbeobachtung in Abhängigkeit von Witterung und anderen anzugebenden Faktoren (insbesondere biologischen Parametern wie Blütezeit etc.).

- a. *Auspflanzung:*
 1. Vorbereitung des Geländes vor der Auspflanzung
 2. für die Auspflanzung angewandte Methode(n)
 3. Menge der auszupflanzenden GVO
 4. Maßnahmen zum Schutz der Beschäftigten während der Auspflanzung.
- b. *Beobachtung:*
 1. vorgesehene Arbeiten auf dem Gelände während des Freisetzungsvorgangs
 2. Plan für die Beobachtung (Dauer und Häufigkeit)
 3. Methoden zum Aufspüren der GVO und zur Überwachung ihrer Wirkungen, samt Spezifität, Empfindlichkeit und Verlässlichkeit, sofern nicht bereits angegeben
 4. Verfahren zur Ermittlung einer Auskreuzung (oder ev. anderer Wege des Gentransfers) auf andere Organismen.
- c. *Überwachung:*
 1. Methoden und Verfahren zur Vermeidung oder Minimierung der Verbreitung der GVO außerhalb des Freisetzungsgeländes oder des zugewiesenen Nutzungsgebietes
 2. Methoden und Verfahren zum Schutz des Geländes vor dem Betreten durch Unbefugte
 3. Methoden und Verfahren zum Schutz gegen das Eindringen anderer Organismen in das Gelände.
- d. *Beendigung:*
 1. für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuches vorgesehene Verfahren
 2. Art und Menge der erzeugten Abfallstoffe
 3. Gründe für die Notwendigkeit der Beseitigung
 4. Beschreibung des geplanten Entsorgungsverfahrens
- e. *Beobachtung nach Beendigung des Versuchs:*
 1. Zeitplan und Methoden zur Beobachtung des Freisetzungsgeländes und der Umgebung hinsichtlich möglicher, verzögert einsetzender Effekte der Freisetzung
- f. *Noteinsatzpläne*
 1. Methoden und Verfahren zur Kontrolle der GVO für den Fall einer unerwarteten Ausbreitung
 2. Methoden zum vorzeitigen Abbruch des Versuchs, sofern diese sich von den geplanten Methoden für die ordnungsgemäße Beendigung unterscheiden.

5.4.3 Empfehlungen für die Beurteilung von Tieren

Große transgene Nutztiere (Rinder, Schweine etc.) befinden sich nach Meinung der Arbeitsgruppe "Tiere" zwar in der Obhut des Züchters, aber nicht in einem "geschlossenen System", das eine Risikoabschätzung überflüssig machen würde. Für die Beurteilung von Freisetzungen transgener Tiere ist der Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 jedoch besonders schlecht geeignet. Zumindest für große transgene Nutztiere wurden von der Arbeitsgruppe die unten angeführten, allgemeinen Forderungen zusammengestellt. Für andere Tiere (Insekten, Wildtiere, Fische etc.) müßten Adaptionen vorgenommen werden. Die Vorschläge beziehen sich in erster Linie auf die genaue Charakterisierung der GVO.

1. *Informationen über die Herkunft und die Wirkung des Transgens*
 - a) Beschreibung des verwendeten Transgens einschließlich der molekulargenetischen Informationen

- b) Nachweis der Herkunft sowie Beschreibung der Isolierungsmethode des Transgens
 - c) Mögliche negative Auswirkungen durch Eigenschaften des Spenderorganismus auf den GVO oder auf die Umwelt
 - d) Exakte Angabe der Nachweismethode für das Transgen, der Behörde muß die Nachweismethode zugänglich sein.
2. *Beschreibung des Empfängers bzw. des Empfänger-genoms*
 - a) Angaben zur Transformation: Zustandsform des Empfänger-genoms, Herkunft der prokaryoten Zygote, Herkunft der Eizellen und der Gameten (Rassen bzw. Linien)
 - b) Angaben zum Adulttier: Eigenschaften des Empfängerorganismus im normalen Adultstadium, zu erwartender Phänotyp des Empfängers (Rassenstandard, bei Hybriden der normalerweise zu erwartende Phänotyp)
 3. *Beschreibung der Herstellungsmethode des GVO einschließlich Analyse der Genintegration, der Genexpression und des Transgenphänotyps*
 4. *Beschreibung des gentechnisch veränderten Organismus (wie im entsprechenden Abschnitt II. C. der EG-Richtlinie).*

Diese allgemeinen Vorgaben wurden von der Arbeitsgruppe selbst zu folgendem Entwurf umgesetzt:

5.4.3.1 Vorschlag für einen Kriterienkatalog zur Beurteilung von Freisetzungen transgener Tiere (nach K. Schellander und F. Führer)

I. ALLGEMEINE INFORMATIONEN

1. Anmelder

2. Charakterisierung des GVO

Voraussetzung für die Anmeldung ist das Vorhandensein von einer der Kategorie (siehe Erläuterungen der Empfehlungen der Arbeitsgruppe am Ende des Kapitels 2) entsprechenden Anzahl von einander unabhängigen transgenen Linien, bei Kategorie I. ist eine Linie ausreichend, bei Kategorie II. sind drei Linien, in Kategorie III. sind fünf Linien und bei Kategorie IV. sind zehn Linien nötig (bei Insekten und anderen Wirbellosen mit Vorbehalt). Diese Linien müßten im geschlossenen System genau charakterisiert worden sein.

- a) Identität: Tätowierung, Ohrmarke, elektronische Identifizierung o. ä. geeignete Mittel
- b) Anderweitige Freisetzungsanmeldungen.

II. INFORMATIONEN ÜBER DEN SPENDERORGANISMUS (VON DEM DAS ÜBERTRAGENE GEN STAMMT)

1. Herkunft der DNA

homolog/heterolog, Tier, Pflanze, Mikroorganismus.

2. Vollständige Bezeichnung

Ordnung, Familienname, Gattung, Spezies, Unterspezies, Trivialbezeichnung, Rasse, Linie.

3. Geographische Verteilung des Organismus

Herkunftsland, Vorkommen.

4. *Natürlicher Lebensraum des Organismus*
 - a) Wenn es sich um einen Mikroorganismus handelt: Wasser, im Boden frei lebend, im Boden in Verbindung mit Pflanzen, in Verbindung mit Tieren, sonstige (welche?)
 - b) Wenn es sich bei dem Organismus um ein Tier oder einer Pflanze handelt, natürlicher Lebensraum oder übliches Landnutzungssystem.
5. *Nachweis*
 - a) Nachweisverfahren
 - b) Identifizierungsverfahren
6. *Pathogenität des Spenderorganismus für den Menschen: nicht pathogen, fakultativ pathogen, pathogen*
7. *Besitzt der lebende oder tote Organismus pathogene Eigenschaften oder ist er in anderer Weise schädlich? Wenn ja, für welche Organismen: Mensch, Tier, Pflanze.*

III. INFORMATIONEN ÜBER DEN ORGANISMUS VON DEM DER VERWENDETE VEKTOR STAMMT

1. *Handelt es sich um ein*
Viroid, RNS-Virus, DNS-Virus, Bakterium, Pilz, Pflanze, Tier, sonstiges (was?)
2. *Vollständige Bezeichnung*
Ordnung, Familie, Gattung, Spezies, Untersp., Stamm, Cultivar, Pathovar, Trivialname
3. *Ist der Organismus (einschließlich seiner extrazellulären Produkte) lebend oder tot, pathogen oder in anderer Weise schädlich? Wenn ja,*
 - a) für welche Organismen: Menschen, Tiere, Pflanzen
 - b) Sind die verwendeten Sequenzen in irgendeiner Weise an den pathogenen oder schädlichen Eigenschaften des Organismus beteiligt? Wenn ja, relevante Angaben
4. *Wurde der Organismus nach bestehenden Vorschriften der EG für den Schutz der menschlichen Gesundheit und der Umwelt eingestuft? Wenn ja, wie?*
5. *Findet zwischen dem Organismus und dem Empfängerorganismus in der Natur ein Austausch von genetischem Material statt?*

IV. INFORMATION ÜBER DEN EMPFÄNGERORGANISMUS

1. *Vollständige Bezeichnung des Empfängerorganismus*
Ordnung, Familie, Gattung, Spezies, Rasse, Linie
2. *Geographische Verteilung*
Land, Bezirk, Region
3. *Nachweisverfahren*
4. *Pathogene Eigenschaften des Empfängers*
5. *Informationen über die Fortpflanzung*
 - a) Ergebnisse einer klinischen andrologischen bzw. gynäkologischen Untersuchung
 - b) Ergebnisse einer Untersuchung auf Zuchttauglichkeit
 - c) Angaben über die Anzahl der geprüften Nachkommen

- d) Besonderheiten bei den Nachkommen (Vererbung des übertragenen Transgens)
 - e) Angaben zur möglichen Kreuzung mit Wildtierpopulationen
 - f) Besonderheiten der Fortpflanzung
6. *Überlebensfähigkeit*
- a) Angaben zur möglichen Überlebensfähigkeit des Organismus außerhalb der Bedingungen für eine Freisetzung im großen Maßstab
 - b) Faktoren, die die Überlebensfähigkeit positiv beeinflussen
 - c) Faktoren, die die Überlebensfähigkeit negativ beeinflussen
7. *Arten der möglichen Verbreitung*
- a) innerhalb kontrollierter Systeme
 - b) außerhalb kontrollierter Systeme.

V. INFORMATIONEN ÜBER DIE GENETISCHE VERÄNDERUNG

1. *Art der genetischen Veränderung*
Insertion, Deletion, Inaktivierung, Basenaustausch, sonstiges
2. *Angestrebtes Ergebnis der genetischen Veränderung*
3. *Wurde beim Veränderungsverfahren ein Vektor verwendet? Wenn ja, ist der Vektor ganz oder teilweise im veränderten Organismus vorhanden? Wenn ja,*
- a) Art des Vektors
Plasmid, Bakteriophage, Virus, Cosmid, bewegliche DNA-Sequenz, sonstige (welche?)
 - b) Identität des Vektors
 - c) Wirtsbereich des Vektors
 - d) Sequenzen im Vektor mit einem selektierbaren oder identifizierbaren Phänotyp Antibiotikeresistenzen, Schwermetallresistenzen, sonstige (welche?)
 - e) Konstituierende Fragmente des Vektors
4. *Zur Einführung des Vektors in den Empfängerorganismus angewandte Methoden*
- a) Transformation
 - b) Elektroporation
 - c) Mikroinjektion
 - d) Infektion
 - e) sonstige (welche?)
5. *Angaben über das Insert*
- a) Zusammensetzung des Inserts
 - b) Herkunft der Teile, aus denen sich das Insert zusammensetzt
 - c) Beabsichtigte Funktion jedes das Insert zusammensetzenden Teils im GVO
 - d) Lokalisierung des Inserts im Wirtsorganismus (in situ-Hybridisierung)
 - g) Enthält das Insert Teile, deren Produkt oder Funktion unbekannt sind? Wenn ja, welche?

VI. INFORMATIONEN ÜBER DEN GENTECHNISCH VERÄNDERTEN ORGANISMUS

1. *Genetisch oder phänotypische Merkmale des Empfängerorganismus, die von den genetischen Veränderungen betroffen wurden. Unterscheidet sich der GVO vom nicht-GVO in bezug auf seine*

- a) Überlebensfähigkeit? Wenn ja, wie?
- b) Fortpflanzungsart/-rate? Wenn ja, wie?
- c) Verbreitung? Wenn ja, wie?
2. *Genetische Stabilität des veränderten Organismus, Nachweis der Vererbung des Transgens auf die Nachkommen*
3. *Ist der GVO (einschließlich seiner extrazellulären Produkte) lebend oder tot, pathogen oder in anderer Weise schädlich? Wenn ja, für welche Organismen:
Menschen, Tiere, Pflanzen, weitere relevante Angaben.*
4. *Beschreibung von Identifizierungs- und Nachweisverfahren, Techniken zur Identifizierung des GVO in der Umwelt*
 - a) Nachweis der Tierkennzeichnung
 - b) molekulargenetischer Nachweis.
5. *Physiologische Parameter:*
 - a) Ergebnisse der klinischen Untersuchung:
komplettes klinische Untersuchungsprofil – Angaben der Blutwerte, Harnwerte, Organuntersuchung.
 - b) Ergebnisse der anatomischen Untersuchung:
histologische Untersuchung aller Organe, Besonderheiten.
6. *Verhaltensparameter: ethologischer Untersuchungsbefund (mit doppelter Kontrolle).*
7. *Je nach Spezies Angabe der entsprechenden Zucht und Leistungsparameter*
8. *Besondere Anforderungen des GVO an die Umwelt
(aufgrund der genetischen Veränderung, z. B. Haltungsbedingungen).*
9. *Angaben über die Leistungsparameter des entsprechenden GVO
Futtermittelaufnahme, Futtermittelverwertung, tägliche Zunahme
entsprechend dem Verwendungszweck: Zuchtleistung, Mastleistung, Schlachtleistung,
Nutzleistung*
10. *Angaben zur Genexpression (aus allen Organen und Altersgruppen), zu analysieren sind
in der Kategorie I. 5 Tiere, in der Kategorie II.–IV. jeweils 20 Tiere.*

VII. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNG

1. *Zweck der Freisetzung*
2. *Ist der Ort der Freisetzung ein anderer als der natürliche Lebensraum, in dem der GVO gezüchtet und gehalten wird? Wenn ja, welcher?*
3. *Information über das Gelände und die Umgebung der Freisetzung*
 - a) Geographische Lage (Verwaltungsbezirke und gegebenenfalls Standortangabe)
 - b) Größe und Art des Haltungssystems
 - c) detaillierte Beschreibung des Haltungssystems
 - d) Nähe zu international anerkannten geschützten Biotopen oder Schutzgebieten (einschließlich Trinkwasserreresvoirs), die beeinträchtigt werden könnten
 - e) Flora und Fauna, die möglicherweise in Wechselwirkung mit dem GVO treten können

4. *Methode und Anzahl der freigesetzten Tiere*
 - a) Anzahl der freigesetzten Tiere
 - b) Freisetzung im kleinen Maßstab:
Für die Freisetzung im kleinem Maßstab gelten in der Kategorie I–IV 20–25 Tiere, 50 % dieser Tiere sind als Stichproben nach den Erfordernissen nach Abschnitt VI. zu untersuchen. Erst wenn diese Stufe durchlaufen ist, kann die Freisetzung im großen Maßstab erfolgen.
 - c) Freisetzung im großen Maßstab:
Diese Freisetzung hat nach Abschluß einer Freisetzung in kleinem Maßstab nach denselben allgemeinen Richtlinien zu erfolgen. 1% aller Tiere sind wie in Punkt b) zu untersuchen.
5. *Dauer des Freisetzungsversuchs*
6. *Methode oder Verfahren, um die Ausbreitung der GVO außerhalb des Freisetzungsgeländes zu vermeiden.*

VIII. WECHSELWIRKUNGEN DES GVO MIT DER UMWELT UND MÖGLICHE UMWELTAUSWIRKUNGEN

1. *Beschreibung der Organismen mit denen der GVO in Wechselwirkung treten könnte*
2. *Voraussichtliche Mechanismen und Folgen der Wechselwirkung*
3. *Ist zu erwarten, daß nach der Freisetzung für den GVO eine Selektion auftritt?*
ja – nein – nicht bekannt; wenn ja, beschreiben
4. *Beschreibung der Ökosysteme, in denen die GVO verbreitet und etabliert werden könnten*
5. *Vollständige Bezeichnung von Organismen, die über unbekannt Wege indirekt vom GVO beeinflußt werden könnten*
6. *Wahrscheinlichkeit eines Genaustauschs in vivo*
 - a) Von dem GVO in Organismen im Freisetzungsökosystem
 - b) Aus anderen Organismen in den GVO
7. *Verweis auf relevante Ergebnisse der Untersuchungen über das Verhalten und die Eigenschaften des GVO in Hinblick auf ökologische Auswirkungen, die unter simulierten natürlichen Umweltbedingungen durchgeführt wurden.*

IX. INFORMATIONEN ÜBER DIE ÜBERWACHUNG

1. *Methoden zur Überwachung der GVO*
2. *Methoden zur Überwachung der Auswirkungen auf das Ökosystem*
3. *Verfahren zur Ermittlung einer Übertragung der transferierten genetischen Eigenschaften auf andere Organismen*
4. *Räumliche Ausdehnung des Überwachungsbereichs*
5. *Dauer der Überwachung*
6. *Häufigkeit der Überwachung.*

X. INFORMATIONEN ÜBER DIE ABFALLENTSORGUNG

1. *Behandlung des Standorts nach der Freisetzung*
2. *Behandlung der GVO nach der Freisetzung*
3. *Abfall*
 - a) *Art und Menge der erzeugten Abfallstoffe*
 - b) *Entsorgung des Abfalls.*

XI. INFORMATIONEN ÜBER NOTEINSATZPLÄNE

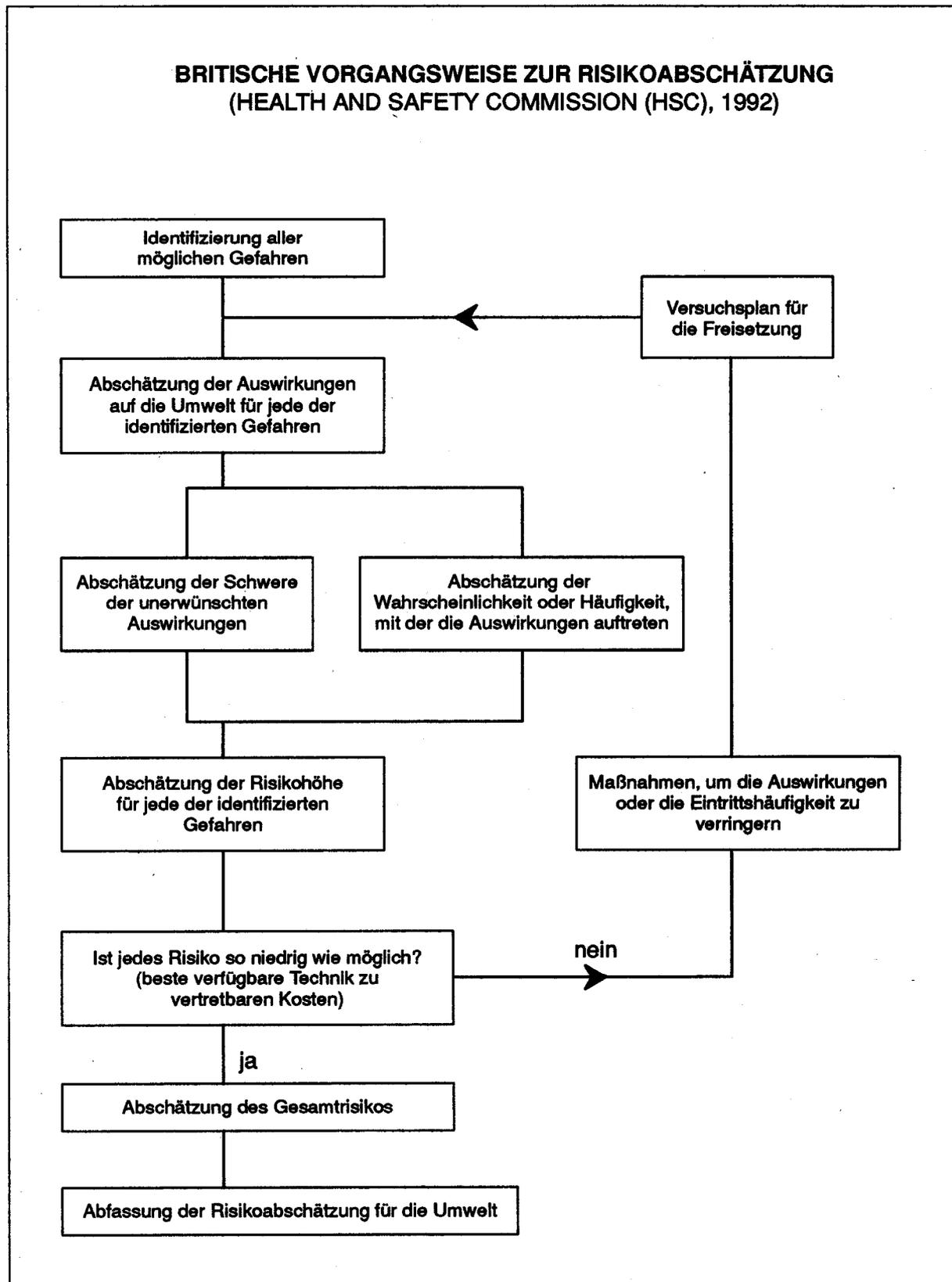
1. *Methoden und Verfahren zur Kontrolle der GVO für den Fall einer unerwarteten Ausbreitung*
2. *Methoden eines Rückholprogrammes unerwartet ausgebreiteter GVO*
3. *Pläne zum Schutz der menschlichen Gesundheit und der Umwelt im Falle des Auftretens unerwünschter Wirkungen.*

5.5 VORGANG DER RISIKOABSCHÄTZUNG

Die in den vorigen Kapiteln angeführten Adaptionen des Kataloges der anzugebenden Informationen nach Anhang II der EG-Richtlinie 90/220 stellen einen Vorschlag und eine Diskussionsanregung dar. Für den einen oder anderen Fall sind sie sicherlich zu erweitern oder zu verändern. Durch das Eingehen auf Besonderheiten der Organismengruppen (Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere) kann besser auf sicherheitsrelevante Überlegungen Bedacht genommen, und der Vorgang der Risikoabschätzung praxisgerechter gestaltet werden.

Die Informationserhebung ist jedoch nur die eine Seite der Risikoabschätzung. Die andere und ebenso wichtige ist die Verarbeitung der Informationen, um zu einer Bewertung zu kommen. Der Vorgang der Risikoabschätzung sollte, zumindest am Anfang einer Begutachtungstätigkeit in einer Kommission oder in der Behörde, nach einer festgelegten und möglichst erprobten Abfolge einzelner Schritte erfolgen, nicht zuletzt deswegen, weil damit die Objektivität besser gewahrt werden kann.

Für eine derartige Vorgangsweise gibt es mehrere Vorbilder, von denen einige in Kapitel 4 bereits vorgestellt wurden. Sie sollte allerdings an europäische Verhältnisse angepaßt und in Übereinstimmung mit der EG-Richtlinie 90/220 sein, daher wird vorgeschlagen, dem britischen Beispiel zumindest probenhalber zu folgen. In aller Kürze sei diese noch einmal zusammenfassend skizziert (Details sind Kapitel 4 zu entnehmen).



5.6 SCHLUSSBEMERKUNG

Freisetzungen von gentechnisch veränderten Organismen, insbesondere von Nutzpflanzen, werden in der ganzen Welt in steigendem Ausmaß durchgeführt und sind auch in Österreich in absehbarer Zeit zu erwarten. Selbst wenn demnächst keine Anträge von österreichischen Wissenschaftlern oder Firmen gestellt werden sollten, könnten doch Firmen aus dem Ausland ihre Organismen oder Produkte, die in den jeweiligen Heimatländern bereits freigesetzt wurden oder auf dem Markt sind, auch in Österreich zur Genehmigung anmelden.

Fehlen Vorschriften oder Richtlinien für eine sachgerechte und an internationalen Beispielen orientierte und kompatible Risikobeurteilung, könnten schwerwiegende Probleme entstehen. Wäre keinerlei Abschätzung notwendig, könnte dies falsche Signale in Richtung derjenigen Wissenschaftler oder Firmen aussenden, die in ihren Heimatländern Schwierigkeiten bei der Genehmigung ihrer Projekte befürchten müssen, weil diesbezüglich Sicherheitsbedenken bestehen. Weiters könnte ein Fehlen von Richtlinien lange Verzögerungen für den Antragsteller mit sich bringen, bis man sich auf geeignete Begutachtungsverfahren geeinigt hat. Ein zügiges Erstellen von entsprechenden Vorschriften und Richtlinien ist daher dringend geboten.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag dazu liefern, die für eine realistische Risikoabschätzung relevanten Informationen möglichst sinnvoll und rationell zu erheben. Gleichzeitig soll sie helfen, eine Vorgangsweise zu etablieren, mit der geplante Freisetzungen von gentechnisch veränderten Organismen in einer Weise begutachtet werden können, die zwei Forderungen vereint: Einerseits müssen die Interessen des Antragstellers nach zügiger und kompetenter Behandlung des Antrags berücksichtigt werden, andererseits muß sichergestellt sein, daß nur solche Freisetzungen durchgeführt werden, deren ökologische und gesundheitliche Unbedenklichkeit weitestgehend gewährleistet ist.



6 LITERATUR

- ADVISORY COMMITTEE ON GENETIC MODIFICATION (ACGM), 1990a, Genetic Manipulation Safety Committees, ACGM/HSE/Note 11, London.
- ADVISORY COMMITTEE ON GENETIC MODIFICATION (ACGM), 1990b, The Intentional Introduction of Genetically Manipulated Organisms into the Environment ACGM/HSE/Note 3 (revised).
- ADVISORY COMMITTEE ON GENETIC MODIFICATION (ACGM), 1993, Risk Assessment of a *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* with a Gene für GUS.
- ALDHOUS, P., 1991, Zagury Challenges NIH Report [news], *Nature*, 352, 180.
- ASSEMBLÉ NATIONALE, 1992, Loi no. 92-654 du 13 juillet 1992 relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination des organismes génétiquement modifiés et modifiant la loi no. 76-663 du 19 juillet 1976 relative aux installations classées pour la protection de l'environnement, *Journal officiel de la République française* du 16. juillet 1992, 9523, Paris.
- BERINGER, J., The Release of Genetically Modified Organisms, in: ROBERTS, L., WEALE, A. (Hrsg.), *Innovation and Environmental Risk*, Belhaven, London 1991.
- BIOTEKNOLOGIUTVALGET, 1990, Moderne bioteknologi, Sikkerhet, helse og miljø, hovedinnstilling, *Norges Offentlige Utredninger* 1990:1, Oslo.
- BOMAN, H.G., HULMARK, D., 1987, Cell-free Immunity in Insects, *Annual Rev. Microbiol.* 41, 103-126.
- BREM, G., KRÄUSSLICH, H., STRANZINGER, G., 1991, *Experimentelle Genetik in der Tierzucht, Grundlagen für spezielle Verfahren in der Biotechnik*, Ulmer Verlag, Stuttgart.
- BUNDESANSTALT FÜR BERGBAUERNFRAGEN (Hrsg.), 1991, J. Hoppichler: Das Prinzip Verantwortungslosigkeit, die Folgen der Gen- und Biotechnologie für die Landwirtschaft, *Forschungsbericht Nr. 30*, Wien.
- BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, SPORT UND KONSUMENTENSCHUTZ, 1992, Entwurf eines Bundesgesetzes über Maßnahmen zum Schutz der Gesundheit des Menschen einschließlich seiner Nachkommenschaft und der Umwelt vor Schäden durch gentechnische Eingriffe - Gentechnikgesetz. Begutachtungsvorlage, Wien.
- CASPER, R., LANDSMANN J. (Hrsg.), 1992, *Proceedings of the 2nd International Symposium on The Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms*, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig.
- CATENHUSEN, W.M., NEUMEISTER, H. (Hrsg.), 1987, *Chancen und Risiken der Gentechnologie: Dokumentation des Berichts an den Deutschen Bundestag/Enquete Kommission*, Gentechnologie 12, Schweitzer Verlag, München.
- CETINER, M.S., 1989, *Studies on the Agrobacterium Mediated Transformation of Potato and Tobacco with Antibacterial and High Essential Amino Acids Encoding Genes*, Dissertation, Wisconsin State University.
- CHEN, ZHANG-LIANG, 1992, *Field Releases of Recombinant Bacteria and Transgenic Plants in China*, in: Casper, R., Landsmann J., 1992.
- COUNCIL OF EUROPE, 1992, *Steering Committee for the Conservation and Management of the Environment and Natural Habitats (CDPE), Ecological Impact of Genetically Modified Organisms, a Survey of Literature, Guidelines, and Legislation, draft, PE-S-GG (92) 3*, Straßburg.
- CRAWLEY, M.J., 1992, *The Comparative Ecology of Transgenic and Conventional Crops*, in: Casper, R., Landsmann J., 1992.

- CRAWLEY, M.J., HAILS, R.S., REES, M., KOHN, D., BUXTON, J., 1993, Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats, *Nature* 363, 6430, 620–623.
- DANNER, K., 1989, Smallpox Vaccination for Investigators [letter; comment]. *Lancet*, 2, 1337–1338.
- DANSK FOLKETING, 1991, Lov nr. 356 af 6. juni 1991 om miljø og genteknologi, Miljömin.j.nr. D 21003–0004, Kopenhagen.
- DEPARTMENT OF ADMINISTRATIVE SERVICES, 1991, Genetic Manipulation Advisory Committee, Annual Report 1990–91. Australian Government Publishing Service, Canberra.
- DESTEFANO–BELTRAN, L. et al., 1991, in: International Potato Center, Molecular Methods for Potato Improvement, Reports of the Planning Conference, 5.–9. March, 1990, Lima, c.f. J. Schmidt, pers. Mitt.
- DEUTSCHER BUNDESTAG, 1990, Gesetz zur Regelung von Fragen der Gentechnik vom 20. 6. 1990, Bundesgesetzblatt Teil I, S. 1080.
- DIRECTORATE GENERAL FOR FOOD, 1992, The Biomolecular Engineering Commission, Activity in 1991, Ministry of Agriculture and Forestry, Paris.
- DRAHOS, D., 1991, Current Practices for Monitoring Genetically Engineered Microbes in the Environment, *AgBiotech News and Information* 3 (1) 39–48.
- DÜVELL, A., 1990, Überblick über Freisetzungsexperimente betreffende Richtlinien verschiedener Länder und bekanntgewordene Freisetzungsexperimente mit genetisch veränderten Organismen, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF), Braunschweig.
- EEDE, G. v. d. (Hrsg.), Community Documentation Centre on Biotechnology Safety and Regulation, Bulletin No. 1, Joint Research Centre of the Commission of the European Communities, Institute for Systems Engineering and Informatics, Ispra.
- EG–KOMMISSION, 1991, Förderung eines wettbewerbsorientierten Umfeldes für die industrielle Anwendung der Biotechnologie in der Gemeinschaft, SEK (91) 629.
- EG–KOMMISSION, 1992a, Handbook for the Implementation of Directive 90/220/EEC on the Deliberate Release of Genetically Modified Organisms to the Environment, Volume 1, Directorate General XI/322/92–EN.
- EG–KOMMISSION, 1992b, Regulatory Framework and Research Policy Effort on Biotechnology in the EC and the US, Interim Report of the Biotechnology Coordinating Committee (BCC), Brussels, 16. Nov. 1992.
- EG–KOMMISSION, 1992c, Vorschlag für eine Verordnung (EWG) des Rates über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten, KOM(92)295 endg. – SYN 426, Brüssel, 7. Juli 1992.
- FIKSEL, J., COVELLO, V. C. (Hrsg.), 1988, Safety Assurance for Environmental Introductions of Genetically Engineered Organisms, Springer, Berlin.
- FINCHAM, J.R.S., RAVETZ, J.R., 1991, Genetically Engineered Organisms, Open University Press, Milton Keynes.
- GINZBURG, L.R. (Hrsg.), 1991, Assessing Ecological Risks of Biotechnology, Butterworth–Heinemann, Stoneham MA.
- HEALTH AND SAFETY COMMISSION (HSC), 1992, Genetically Modified Organisms (GMOs): Revised Proposals for New Regulations, Department of Environment, Health and Safety Commission, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Scottish Office, Welsh Office, London.
- HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE (HSE), 1989, Genetic Manipulation Regulations 1989, Her Majesty's Stationery Office, London.
- HIRSCH, P.R., WADEY, R.B., BERINGER, J.E., 1984, Genetic Interaction Between Rhizobium Inoculum and Native Strains in the Field, 2nd Int. Symp. on the Molecular Genetics of the Bacteria–Plant Interaction, Ithaka, USA.

- HIRSCH, P.R., SPOKES, J.R., DAY, J.M., 1987, Revised Proposal to Release a Genetically Manipulated Strain of *Rhizobium leguminosarum* in the Field, Official Proposal to ACGM from Rothamsted Experimental Station, Harpenden.
- HOFFMANN, T., GOLZ, C., SCHIEDER, O., 1992, Preliminary Evidence for Horizontal Gene Transfer between Higher Plants and *Aspergillus niger*, in: Casper, R., Landsmann J., 1992.
- HUTTNER, S.L., ARNTZEN, CH., BEACHY, R., BREUNING, G., NESTER, E., QUALSET, C., VIDAVER, A., 1992, Revising Oversight of Genetically Modified Plants, *Bio/Technology* 10 (9) 967–971.
- INTERDISZIPLINÄRE SCHWEIZERISCHE KOMMISSION FÜR BIOLOGISCHE SICHERHEIT (SKBS), 1992, Richtlinien für das Arbeiten mit genetisch veränderten Organismen, Version Februar 1992.
- JASANOFF, S., 1993, Variations on the Theme of Novelty in US and European Biotechnology Regulation, Vortrag auf dem Kongreß "Resistance to New Technologies", April 1993, Science Museum, London.
- JEFFERSON, R.A., KAVANAUGH, T.A., BEVAN, M.W., 1987, *EMBO J.* 6, 3901, c.f. J. Schmidt, pers. Mitt.
- KAPLAN, C., 1989, Vaccinia Virus: a Suitable Vehicle for Recombinant Vaccines? *Arch. Virol.* 106, 127–139.
- KAREIVA, P., 1993, Transgenic Plants on Trial, News and Views, *Nature* 363, 6430, 580–581.
- KJELLSON, G., SIMONSEN, V., 1993, Catalogue of Methods for Ecological Risk Assessment of Genetically Modified Plants (running title), Natural Forest and Nature Agency, Danish Environmental Protection Agency, National Environmental Research Institute, draft, Copenhagen.
- KLINGMÜLLER, W. (Hrsg.), 1988, Risk Assessment for Deliberate Releases. The Possible Impact of Genetically Modified Organisms on the Environment, Springer, Berlin.
- LAIMER DA CAMARO MACHADO, M., DA CAMARA MACHADO, A., HANZERT, V., WEISS, H., REGNER, F., STEINKELLNER, H., MATTANOVICH, D., PLAIL, R., KNAPP, E., KALTHOFF, B., KATINGER, H., 1992, Regeneration of Transgenic Plants of *Prunus Armeniaca* Containing the Coat Protein Gene of Plum Pox Virus, *Plant Cell Reports* 11, 25–29.
- LAKE, G., 1991, Scientific Uncertainty and Political Regulation: European Legislation on the Contained Use and Deliberate Release of Genetically Modified (Micro)organisms, *Project Appraisal* 1/91, 7–15.
- LEVIDOW, L., 1993, Dissertation (unpubl.), Open University, Milton Keynes.
- MARLIER, E., 1992, Eurobarometer 35.1: Opinions of Europeans on Biotechnology in 1991, in: Durant, J. (Hrsg.), *Biotechnology in Public, a Review on Recent Research*, Science Museum, London.
- MARTIN, R.R., 1992, Is Heterologous Encapsidation a Problem with Plants Transgenic for Potato Leafroll Virus Coat Protein Gene?, in: Casper, R., Landsmann J., 1992.
- MEER, P. v. d., 1991, Existing Risk Assessment and Risk Management Documents, Manuskript.
- MILJÖVERNDEPARTEMENTET, 1992, Om lov om framstilling og bruk av genmodifiserte organismer (genteknologiloven), Ot prp nr. 8 (1992–93), Oslo.
- MILLER, H. I. et al, 1990, Risk-Based Oversight of Experiments in the Environment, *Science* 250, S. 490–491.
- MOONEY, H.A., BERNARDI, G. (Hrsg.), 1990, Introduction of Genetically Modified Organisms into the Environment, *Scope* 44, Wiley, New York.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989, Field Testing Genetically Modified Organisms: Framework for Decisions. National Academy Press, Washington, D.C.
- NIEDERLÄNDISCHES PARLAMENT, 1990, Genetically Modified Organisms, Decree Pursuant to the Chemical Substances Act. Staatsblad 53, Den Haag.

- NIEDERLÄNDISCHES PARLAMENT, 1991, Nuisance Act, Staatsblad 410, Den Haag.
- NORWEGIAN DIRECTORATE FOR NATURE MANAGEMENT, 1992, Ecological Risks of Releasing Genetically Modified Organisms into the Natural Environment, DN Report 1991-7b, Trondheim.
- OECD, 1986, Recombinant DNA Safety Considerations ("Blue Book"), Paris.
- OECD, 1992a, Safety Considerations for Biotechnology (Good Industrial Large Scale Practice, GILSP, and Good Developmental Principles, GDP), Paris.
- OECD, 1992b, Report Of The OECD Workshop on the Monitoring of Organisms Introduced into the Environment, a Record of Discussion, Environment Monograph No. 52, Paris.
- OECD, 1992c, Group of National Experts on Safety in Biotechnology, Seminar on Scientific Approaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants (draft document), Jouy-en-Josas, DSTI/STP/BS(92)4.
- OECD 1992d, Group of National Experts on Safety in Biotechnology, Working Group III, Safety Assessment: Scientific Considerations Pertaining to the Environmental Safety of the Scale-Up of Crop Plants Developed by Biotechnology (draft document), Paris, DSTI/STP/BS(92)2/REV2.
- OECD, 1992e, Draft Report on the OECD Workshop on Methods for Monitoring Organisms in the Environment, Ottawa.
- OECD, 1993, Chairman's Report of the Workshop 3/4, May 1993.
- OFFICE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY POLICY (OSTP), 1992, Exercise of Federal Oversight Within Scope of Statutory Authority: Planned Introductions of Biotechnology Products into the Environment, Federal Register 57 (38), 6753-6762, Washington D.C.
- ÖSTERREICHISCHER NATIONALRAT, 1992, Bericht der parlamentarischen Enquete-Kommission betreffend Technikfolgenabschätzung am Beispiel der Gentechnologie, 740 der Beilagen zu den Stenographischen Protokollen des Nationalrates XVIII. GP., Wien.
- PASTORET, P.-P., BROCHIER, B., COPPENS, P., 1992, Development of a Recombinant Vaccinia-Rabies Virus for Wildlife Vaccination Against Rabies, in: Casper, R., Landsmann J., 1992.
- RAT DER EG, 1990a, Richtlinie 90/219/EWG vom 23.4.1990 über die Anwendung genetisch veränderter Mikroorganismen in geschlossenen Systemen, ABI L 117/1 vom 8.5.1990.
- RAT DER EG, 1990 b, Richtlinie 90/220/EWG vom 23. 4. 1990 über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt, ABI L 117/15 vom 8.5.1990.
- RAT DER EG, 1991a, Richtlinie über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln (91/414/EWG), ABI L 230/1 vom 19.8.1991.
- RAT DER EG, 1991b, Entscheidung des Rates vom 4. November 1991 über den formalen Aufbau der Zusammenfassung der Anmeldung nach Artikel 9 der Richtlinie 90/220/EWG über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt (91/596/EWG), ABI L 322/1 vom 23.11.1991.
- RECOMBINANT DNA MONITORING COMMITTEE, 1987, Procedures for Assessment of the Planned Release of Recombinant DNA Organisms. Department of Industry, Technology and Commerce, Canberra ACT 2600.
- ROYAL COMMISSION ON ENVIRONMENTAL POLLUTION, 1991, Fourteenth Report: GENHAZ, a System for the Critical Appraisal of Proposals to Release Genetically Modified Organisms Into the Environment, London.
- SARINK, H., VOORZANGER, B., 1991, Discussions About Genetically Modified Organisms in the Environment, Study W36, Nederlandse Organisatie for Technologisch Aspectenonderzoek (NOTA), Den Haag.
- SCHWEIZERISCHE BUNDESANSTALT FÜR UMWELT, WALD UND LANDSCHAFT (BUWAL), 1992, Handbuch II zur Störfallverordnung (StFV), Richtlinie für Betriebe mit Mikroorganismen, Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern.

- SHACKLEY, S., HODGSON, J., 1991, *Biotechnology Regulation in Europe*, *Bio/Technology*, 9, 1056–1058.
- SMIT, E., VAN ELSAS, J.D., VAN VEEN, J.A., 1992, *Risks Associated with the Application of Genetically Modified Microorganisms in Terrestrial Ecosystems*, *FEMS Microbiology Rev.*, 88, 263–278.
- STRAUSS, H.S., HATTIS, D., PAGE, G., HARRISON, K., VOGEL, S., CALDART, C., 1985, *Direct Release of Genetically Engineered Microorganisms: a Preliminary Framework for Risk Evaluation under TSCA*. Report no. CTPID 85–3, Centre for Technology Policy and Industrial Development, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA.
- SUSSMAN, M., COLLINS, C.H., SKINNER, F.A., STEWART–TULL, D.E. (Hrsg.), 1988, *The Release of Genetically Modified Microorganisms*, Academic Press, London.
- TIEDJE, J.M., COLWELL, R.K., GROSSMAN, Y.L., HODSON, R.E., LENSKI, R.E., MACK, R.N., REGAL, P.J., 1989, *The Planned Introduction Of Genetically Engineered Organisms: Ecological Considerations And Recommendations*, *Ecology* 70, 2, 298–315.
- UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.), 1989, *Biotoptypen in Österreich. Vorarbeiten zu einem Katalog*, Wien.
- UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.), 1991, *Gen- und Biotechnologie, Nutzungsmöglichkeiten und Gefahrenpotentiale, Handlungsbedarf für Österreich zum Schutz von Mensch und Umwelt, Monographien Bd. 28*, Wien.
- UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.), 1992, *Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen. Wege zur Beurteilung ökologischer Auswirkungen. Tagungsberichte Nr. 6*, Wien.
- UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.), 1993, *Gutachten von M. Nentwich bezüglich spezifischer nationaler Spielräume bei der Umsetzung der EG–Freisetzungsrichtlinie (90/220/EWG) anlässlich eines EWR– beziehungsweise EG–Beitritts Österreichs, im Auftrag der FTB, Reports des Umweltbundesamtes*, Wien.
- UNITED STATES CONGRESS, 1975, *Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA)*, 7.U.S.C. 136 et seq.
- UNITED STATES CONGRESS, 1983, *Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA)*, 21. U.S.C. 321 et seq.
- UNITED STATES CONGRESS, OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT (OTA), 1988, *Field–Testing Engineered Organisms: Genetic and Ecological Issues – Special Report, OTA BA–350*, U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
- UNITED STATES CONGRESS, OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT (OTA), 1991, *Biotechnology in a Global Economy, OTA–BA–494*, U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991a, *Agricultural Biotechnology Research Advisory Committee, Supplement to Minutes, Document No. 91–04* USDA, Washington D.C.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991b, *Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), Introduction of Organisms Altered or Produced Through Genetic Engineering which Are Plant Pests or which there is Reason to Believe Are Plant Pests*, *Federal Register* 52 (115), 22892–22915, Washington D.C.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 1991c, *Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), User's Guide for Introducing Genetically Engineered Plants and Microorganisms*, Washington D.C.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1991d, *Proposed Guidelines for Research Involving the Planned Introduction Into the Environment of Organisms With Deliberately Modified Hereditary Traits*, *Federal Register*, 56 FR 4134, Washington D.C.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (DHHS), 1992, *Food and Drug Administration (FDA), Foods Derived from New Plant Varieties. Docket Nr. 92 N–0139*, Washington D.C.

- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1990, OPP (Office of Pesticide Program) Scientific Position on Crop Genetics International's 1/16/90 Application for a Genetically Engineered Microorganism Experimental Use Permit, Memorandum.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1992, Briefing Paper , Case Number P92-399-403 on *Rhizobium meliloti* (einschließlich vorhergegangener experimenteller Freisetzungen).
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1993, Draft EPA Proposal to Clarify the Regulatory Status of Plant Pesticides, 1992.
- WADE, D., ANDREU, D., MITCHELL, S.A., SILVEIRA, A.M.V., BOMAN, A., BOMAN, H.G., MERRIFIELD, R.B., 1992, Antibacterial Peptides Designed as Analogs or Hybrids of Cecropins and Melittin, *Int. J. Peptide Res.* **40**, 429-436.
- WENZEL, R.P., NETTLEMAN, M.D., 1989, Smallpox Vaccination for Investigators Using Vaccinia Recombinants, *Lancet* **22**, 630-631.
- WRUBEL, R.P., KRIMSKY, S., WETZLER, R.E., 1992, Field Testing Transgenic Plants, an Analysis of the US Department of Agriculture's Environmental Assessments, *BioScience* **42**, 4, 280-289.

ANHANG

VOR EINER FREISETZUNG ANZUGEBENDE INFORMATIONEN NACH ANHANG II DER RICHTLINIE 90/220

I. ALLGEMEINE INFORMATIONEN

A. Name und Anschrift des Anmelders

B. Informationen über das Personal und dessen Ausbildung:

1. Name der für die Planung und Durchführung der Freisetzung verantwortlichen Person(en) einschließlich der Personen, die für die personelle und fachliche Überwachung und Sicherheit verantwortlich sind, insbesondere Name und Befähigung des verantwortlichen Wissenschafters,
2. Informationen über Ausbildung und Befähigung des mit der Freisetzung befaßten Personals.

II. INFORMATIONEN ÜBER DIE GVO

A. Eigenschaften des (der) a) Spender-, b) Empfänger- oder c) (gegebenenfalls) Elternorganismus(men):

1. wissenschaftliche Bezeichnung,
2. taxonomische Daten,
3. sonstige Namen (Trivialname, Stamm, Cultivar usw.),
4. phänotypische und genetische Marker,
5. Grad der Verwandtschaft zwischen Spender- und Empfängerorganismus oder zwischen Elternorganismen,
6. Beschreibung der Identifizierungs- und Nachweisverfahren,
7. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren,
8. Beschreibung der geographischen Verbreitung und des natürlichen Lebensraumes des Organismus einschließlich Informationen über natürliche Räuber, Beuten, Parasiten, Konkurrenten, Symbionten und Wirtschaftsorganismen,
9. Möglichkeiten des Gentransfers und des Genaustauschs mit anderen Organismen,
10. Prüfung der genetischen Stabilität der Organismen und Faktoren, die diese beeinflussen,
11. pathologische, physiologische und ökologische Eigenschaften:
 - a. Risikoeinstufung nach derzeitigen Regeln der Gemeinschaft hinsichtlich des Schutzes der menschlichen Gesundheit und/oder der Umwelt,
 - b. Generationsdauer in natürlichen Ökosystemen, geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzungszyklus,

- c. Informationen über das Überleben einschl. der jahreszeitlichen Aspekte und Fähigkeit zur Bildung von Überlebensorganen, z. B. Bildung von Samen, Sporen und Sklerotien,
 - d. Pathogenität: Infektiösität, Toxigenität, Virulenz, Allergenität, Träger (Vektor) von Pathogenen, mögliche Vektoren, Wirtsspektrum einschließlich der Nichtzielorganismen. Mögliche Aktivierung latenter Viren (Proviren). Fähigkeit zur Kolonisierung sonstiger Organismen,
 - e. Antibiotikaresistenzen und potentielle Nutzung dieser Antibiotika an Menschen und Haustieren zur Prophylaxe und Therapie,
 - f. Beteiligung an Umweltprozessen: Primärproduktion, Nährstoffumsatz, Abbau organischer Stoffe, Atmung usw.,
12. Art der bereits natürlich beherbergten Vektoren:
- a. Sequenz,
 - b. Häufigkeit der Mobilisierung (Mobilisierungsfrequenz),
 - c. Spezifität,
 - d. Vorhandensein von Genen, die Resistenz bewirken,
13. Zusammenfassung der früheren genetischen Veränderungen.

B. Eigenschaften des Vektors:

1. Art und Herkunft des Vektors,
2. Sequenz von Transposons, Vektoren und anderen nichtkodierenden genetischen Sequenzen, die zur Konstruktion des GVO verwendet wurden und die Funktion des eingeführten Vektors und Genabschnitts im GVO sicherstellen,
3. Häufigkeit der Mobilisierung des eingeführten Vektors und/oder Fähigkeit zum Gentransfer und Methoden zu deren Bestimmung,
4. Informationen darüber, inwieweit der Vektor auf die DNS beschränkt ist, die zur Erfüllung der geplanten Funktion erforderlich ist.

C. Eigenschaften des veränderten Organismus:

1. Informationen über die genetische Veränderung:
 - a. zur Veränderung angewandte Methoden,
 - b. zur Konstruktion und Einführung der neuartigen Genabschnitte in den Empfängerorganismus oder zur Deletion einer Sequenz angewandte Methoden,
 - c. Beschreibung des eingeführten Genabschnitts und/oder der Konstruktion des Vektors,
 - d. Reinheit des eingeführten Genabschnitts in bezug auf unbekannt Sequenzen und Informationen darüber, inwieweit die eingeführte Sequenz auf die DNS beschränkt ist, die zur Erfüllung der geplanten Funktion erforderlich ist,
 - e. Sequenz, funktionelle Identität und Lokalisation, an der die veränderte(n)/eingeführte(n)/deletierte(n) Nukleinsäuresequenz(en) eingeführt ist (sind), insbesondere Angaben über als schädlich bekannte Sequenzen,
2. Informationen über den endgültigen GVO:
 - a. Beschreibung der genetischen Merkmale oder phänotypischen Eigenschaften und insbesondere jeglicher neuen Merkmale oder Eigenschaften, die exprimiert werden können oder nicht mehr exprimiert werden können,
 - b. Struktur und Menge jeder Art von Vektor und/oder einer Donor-Nukleinsäure, die noch in der endgültigen Konstruktion des veränderten Organismus verblieben ist

- c. Stabilität des Organismus in bezug auf die genetischen Merkmale,
- d. Anteil und Höhe der Expression des neuen genetischen Materials, Meßverfahren und deren Empfindlichkeitsgrad,
- f. Beschreibung und Identifizierungs- und Nachweisverfahren einschließlich der Verfahren zur Identifizierung und zum Nachweis der eingeführten Sequenz und des Vektors,
- g. Empfindlichkeit, Zuverlässigkeit (quantitative Angaben) und Spezifität der Nachweis- und Identifizierungsverfahren,
- h. Zusammenfassung der früheren Freisetzungen oder Anwendungen des GVO,
- i. gesundheitliche Erwägungen:
 - i. toxische oder allergene Auswirkungen der nicht lebensfähigen GVO und/oder ihre Stoffwechselprodukte,
 - ii. Produktrisiken,
 - iii. Vergleich des veränderten Organismus mit dem Spender-, Empfänger- oder (gegebenenfalls) Elternorganismus in bezug auf die Pathogenität,
 - iiii. Kolonisierungskapazität,
 - iiiii. wenn der Organismus für Menschen pathogen ist, die immunokompetent sind:
 - verursachte Krankheiten und Mechanismus der Pathogenität einschließlich Invasivität und Virulenz,
 - Übertragbarkeit,
 - Infektionsdosis,
 - Wirtsbereich, Möglichkeit der Änderung,
 - Möglichkeit des Überlebens außerhalb des menschlichen Wirtes,
 - Anwesenheit von Vektoren oder Mitteln der Verbreitung,
 - biologische Stabilität,
 - Muster der Antibiotikaresistenz,
 - Allergenität,
 - Verfügbarkeit geeigneter Therapien.

III. INFORMATIONEN ÜBER DIE FREISETZUNGSBEDINGUNGEN UND DIE UMWELT, IN DIE GVO FREIGESETZT WERDEN

A. Informationen über die Freisetzung:

1. Beschreibung der vorgeschlagenen absichtlichen Freisetzung einschließlich der Zielsetzung(en) und der geplanten Produkte,
2. voraussichtliche Zeitpunkte der Freisetzung und Zeitplan des Versuchs einschließlich der Häufigkeit und der Dauer der Freisetzungen,
3. Vorbereitung des Geländes vor der Freisetzung,
4. Größe des Geländes,
5. für die Freisetzung angewandte Methode(n),
6. Menge des/der freizusetzenden GVO,
7. Störungen am Freisetzungsgelände (Art und Methode des Anbaus, Bergbau, Bewässerung oder andere Tätigkeiten),
8. Maßnahmen zum Schutz der Beschäftigten während der Freisetzung,

9. Behandlung des Geländes nach der Freisetzung,
10. für die Beseitigung oder Inaktivierung der GVO am Ende des Versuchs vorgesehene Verfahren,
11. Informationen und Ergebnisse früherer Freisetzungen des/der GVO, und zwar insbesondere Freisetzungen in unterschiedlichem Maßstab und in verschiedenen Ökosystemen.

***B. Informationen über die Umwelt
(sowohl am Ort der Freisetzung als auch in der weiteren Umgebung):***

1. geographische Lage des Ortes der Freisetzung und genaue Standortangabe (Raster) (...),
2. physikalische oder biologische Nähe zu Menschen u. zu sonstigen wichtigen Lebewesen,
3. Nähe zu wichtigen Biotopen oder geschützten Gebieten,
4. Umfang der ortsansässigen Bevölkerung,
5. wirtschaftliche Tätigkeiten der ortsansässigen Bevölkerung, die sich auf die natürlichen Ressourcen des Gebiets stützen,
6. Entfernung zu den nächstgelegenen Gebieten, die zum Zweck der Trinkwassergewinnung und/oder aus Umweltgründen geschützt sind,
7. klimatische Merkmale des Gebiets/der Gebiete, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden,
8. geographische, geologische und pedologische Eigenschaften,
9. Flora und Fauna einschließlich Nutzpflanzen, Nutztiere und wandernde Arten,
10. Beschreibung der Ziel- und Nichtziel-Ökosysteme, die wahrscheinlich von der Freisetzung betroffen werden,
11. Vergleich zwischen dem natürlichen Lebensraum des Empfängerorganismus und dem für die Freisetzung vorgesehenen Gebiet,
12. bereits bekannte, in dem Gebiet geplante Erschließungen oder Geländeumwidmungen, die sich auf den Umwelteinfluß der Freisetzung auswirken könnten.

***IV. INFORMATIONEN ÜBER DIE WECHSELWIRKUNGEN
ZWISCHEN DEM GVO UND DER UMWELT***

***A. Eigenschaften, die das Überleben,
die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen:***

1. biologische Eigenschaften bezüglich des Überlebens, der Vermehrung und Verbreitung,
2. bekannte oder vorhersehbare Umweltbedingungen, die das Überleben, die Vermehrung und Verbreitung beeinflussen könnten (Wind, Wasser, Boden, Temperatur, pH usw.),
3. Empfindlichkeit gegenüber spezifischen Agenzien.

B. Wechselwirkungen mit der Umwelt:

1. vermutlicher Lebensraum des GVO,
2. Untersuchungen über das Verhalten und die Eigenschaften des GVO und seiner ökologischen Auswirkungen, die unter simulierten natürlichen Umweltbedingungen wie in Mikrokosmen, Klimakammern und Gewächshäusern durchgeführt werden,
3. Fähigkeit zu Gentransfer:
 - a) Transfer genetischen Materials von dem/den GVO in Organismen in den betroffenen Ökosystemen bei der Freisetzung,
 - b) Transfer genetischen Materials von einheimischen Organismen in den/die GVO, nachdem die Freisetzung stattgefunden hat,
4. Wahrscheinlichkeit einer Selektion nach der Freisetzung, die zur Ausprägung unerwarteter und/oder unerwünschter Merkmale bei dem veränderten Organismus führt,
5. zur Sicherung und Überprüfung der genetischen Stabilität angewandte Maßnahmen. Beschreibung der genetischen Merkmale, die die Verbreitung genetischen Materials verhüten oder auf ein Minimum beschränken können. Methoden zur Überprüfung der genetischen Stabilität,
6. Wege der biologischen Verbreitung, bekannte oder potentielle Arten der Wechselwirkungen mit dem Verarbeitungsgang einschließlich der Einatmung, Einnahme, Oberflächenberührung, des Eingrabens in die Haut usw.,
7. Beschreibung von Ökosystemen, in die der GVO sich ausbreiten könnte.

C. Potentielle Auswirkungen auf die Umwelt:

1. Potential für eine übermäßige Populationszunahme in der Umwelt,
2. Wettbewerbsvorteil des GVO gegenüber dem/den nicht veränderten Empfänger- oder Elternorganismus(men),
3. Identifizierung und Beschreibung der Zielorganismen,
4. voraussichtliche Mechanismen und Folgen der Wechselwirkungen zwischen dem/den freigesetzten GVO und den Zielorganismen,
5. Identifizierung und Beschreibung der Nichtzielorganismen, die unabsichtlich beeinflusst werden könnten,
6. Wahrscheinlichkeit von Änderungen in den biologischen Wechselwirkungen oder im Bereich der Wirtsorganismen bei der Freisetzung,
7. bekannte oder vorhersehbare Wirkungen auf Nichtziel-Organismen in der Umwelt, Wirkung auf die Populationsniveaus der Konkurrenten, Beuteorganismen, Wirtsorganismen, Symbioten, Räuber, Parasiten und Pathogenen,
8. bekannte oder vorhersehbare Beteiligung an biogeochemischen Prozessen,
9. sonstige potentiell signifikante Wechselwirkungen mit der Umwelt.

V. UNTERRICHTUNG ÜBER ÜBERWACHUNG, KONTROLLE, ABFALLENTSORGUNG UND NOTEINSATZPLÄNE

A. Überwachungsverfahren:

1. Methoden zum Aufspüren des/der GVO und zur Überwachung ihrer Wirkungen,
2. Spezifität (zur Identifizierung des/der GVO und zu ihrer Unterscheidung von den Spender-, Empfänger- oder (gegebenenfalls) Elternorganismen, Empfindlichkeit und Verlässlichkeit der Überwachungsverfahren,
3. Verfahren zur Ermittlung einer Übertragung der übertragenen genetischen Eigenschaften auf andere Organismen,
4. Dauer und Häufigkeit der Überwachung.

B. Überwachung der Freisetzung:

1. Methoden und Verfahren zur Vermeidung und/oder Minimierung der Verbreitung des/der GVO außerhalb des Freisetzungsgeländes oder des zugewiesenen Nutzungsgebietes,
2. Methoden und Verfahren zum Schutz des Geländes vor dem Betreten durch Unbefugte,
3. Methoden und Verfahren zum Schutz gegen das Eindringen anderer Organismen in das Gelände.

C. Abfallentsorgung:

1. Art der erzeugten Abfallstoffe,
2. voraussichtliche Abfallmenge,
3. mögliche Gefahren,
4. Beschreibung des geplanten Entsorgungsverfahrens.

D. Noteinsatzpläne:

1. Methoden und Verfahren zur Kontrolle der GVO für den Fall einer unerwarteten Ausbreitung,
2. Methoden zur Dekontaminierung der betroffenen Geländeabschnitte, z.B. Vernichtung des/der GVO,
3. Methoden zur Beseitigung oder Behandlung von Pflanzen und Tieren, Böden usw., die durch die Ausbreitung oder danach dem GVO ausgesetzt waren,
4. Methoden zur Abschirmung des durch die Ausbreitung betroffenen Gebiets,
5. Pläne zum Schutz der menschlichen Gesundheit und der Umwelt im Falle des Auftretens unerwünschter Wirkungen.