

32
09

> Biosicherheit im Bereich der ausserhumanen Gentechnologie

Ergebnisse des BAFU-Forschungsprogramms 2004–2008



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Bundesamt für Umwelt BAFU

32
—
09

> Biosicherheit im Bereich der ausserhumanen Gentechnologie

Ergebnisse des BAFU-Forschungsprogramms 2004–2008

Avec résumé en français – Con riassunto in italiano – With summary in English

Impressum

Herausgeber

Bundesamt für Umwelt (BAFU)

Das BAFU ist ein Amt des Eidg. Departements für Umwelt, Verkehr, Energie und Kommunikation (UVEK).

Autorinnen und Autoren

Dirk Babendreier, Angelika Hilbeck, Roger Konrad, Jochen Mayer, Matthias Meier, Hans-Rudolf Oberholzer, Susanne Scheid, Franco Widmer (EcoStrat GmbH, Zürich)

Daniel Ammananiël ammann consulting, dacon, Zürich)

Christoph Bühler (Hintermann & Weber AG, Reinach)

Franz Bigler, Jörg Romeis, Olivier Sanvido (Forschungsanstalt

Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Zürich)

Stéphanie Aviron (Forschungsanstalt Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Wädenswil)

Andreas Bachmann, Klaus Peter Rippe (ethik im diskurs, Zürich)

Valentin Küng (Küng – Biotech + Umwelt, Bern)

Andreas Fliessbach, Paul Mäder, Karin Nowack, Bernadette Oehen

(Forschungsanstalt für biologischen Landbau FiBL, Frick)

Sylvain Marcel, Uta Paszkowski (Département de biologie moléculaire végétale, Université de Lausanne)

Silvia Dorn, Cesare Gessler, Anja Rott, Ute Vogler (Institut für

Pflanzenwissenschaften, ETH Zürich)

Linde Hönemann, Simon Knecht, Wolfgang Nentwig, Corinne Zurbrügg

(Institut für Ökologie und Evolution, Universität Bern)

Begleitung BAFU

Hans Hosbach, Sabrina Leuenberger, Andrea Raps, Gérald Hess,

Roland von Arx (Abteilung Stoffe, Boden, Biotechnologie)

Begleitung extern

Jan Lucht (ginko communication), Alain Denis Meyer (Advolis)

Zitierung

BAFU (Hrsg.) 2009: Biosicherheit im Bereich der ausserhumanen Gentechnologie. Ergebnisse des BAFU-Forschungsprogramms 2004–2008. Umwelt-Wissen Nr. 0932. Bundesamt für Umwelt, Bern: 74 S.

Gestaltung

Ursula Nöthiger-Koch, 4813 Uerkheim

Titelfoto

Gabriela Brändle

Download PDF

www.umwelt-schweiz.ch/uw-0932-d

(eine gedruckte Fassung ist nicht erhältlich)

Code: UW-0932-D

© BAFU 2009

> Inhalt

Abstracts	5		
Vorwort	7		
Zusammenfassung	8		
Résumé	13		
Riassunto	18		
Summary	23		
Einleitung	27		
<hr/>			
1	Die Früherkennung von unerwarteten und langfristigen Umweltauswirkungen von GVO	30	
1.1	Methodische Grundlagen der Langzeitüberwachung von GVO: Schutzziele – Indikatoren – Erhebungsmethoden	30	
1.2	Umweltmonitoring während des kommerziellen Anbaus von <i>Bt</i> -Mais	36	
<hr/>			
2	Analyse ethischer Fragen zur Risikobewertung im Bereich der Biotechnologie	41	
2.1	Ethische Risikobewertung	41	
2.2	Bedeutung des Schadensbegriffs für die Risikobewertung mit Fallbeispielen	44	
<hr/>			
3	Risiken für das Ökosystem des Bodens	49	
3.1	Belastungen des Ökosystems Boden durch natürliche sowie gentechnisch veränderte Organismen – Effekte, Methoden und Schadensdefinition als Beitrag zur Risikobeurteilung	49	
3.2	Abbaubarkeit von <i>Bt</i> -Mais im Boden und Auswirkungen auf Regenwürmer und andere Bodenmakroorganismen	54	
<hr/>			
4	Risiken für Nichtzielorganismen	59	
4.1	Auswirkungen schädlingsresistenter transgener Pflanzen auf Solitärbiene	59	
4.2	Die Wirkung erhöhter Resistenz gegen Krankheitserreger auf die Interaktion mit symbiotischen Pilzen im Reis	64	
4.3	Einfluss der Transgenosis auf die Pflanzen-Insekten-Beziehungen im Apfel-System, insbesondere auf chemisch vermittelte Wechselwirkungen	68	
<hr/>			
	Verzeichnisse		73
	Abkürzungen		73
	Abbildungen		73
	Tabellen		73

> Abstracts

The research programme presented here deals with the detection of possible negative effects on the environment that could be caused by genetically modified organisms (GMO), crops in particular. The goal is to provide authorities with the scientific basis to evaluate risks and for the decision-making process. Research focus was set around four topics with a total of eight projects covering aspects that so far were not or were insufficiently investigated. The study shows how a post market monitoring (PMM) has to be set up and what operating expenses it would cause. It also shows the limits of PMM and proposes alternatives. Ethical considerations for evaluating risks are outlined and discussed. Two projects deal with the ecosystem soil. Methods are developed and tested that allow detecting impacts of the exposure of the soil to new biologicals. It is also demonstrated that the litter of transgenic corn does not influence soil organisms and that it is not different from normal corn in the fields. Finally, three projects dealt with the influence of different GMOs on non-target organisms. In all the cases analysed, no effect of the GMOs on non-target organisms could be detected.

Keywords:
genetically modified organisms,
transgenic plants,
monitoring,
risk assessment,
gene technology,
biological safety

Das vorliegende Forschungsprogramm befasst sich mit dem Nachweis möglicher negativer Effekte von gentechnisch veränderten Pflanzen (GVP) auf die Umwelt. Dabei geht es um die Schaffung der wissenschaftlichen Grundlagen für die behördliche Beurteilung von Risiken und für die Beschlussfassung. Gewählt wurden vier Schwerpunkte mit insgesamt acht Projekten über Aspekte, welche bislang noch nicht oder unzureichend untersucht wurden. Die Studie zeigt den Aufbau und den Aufwand eines anbaubegleitenden Monitorings sowie dessen Grenzen auf und schlägt mögliche Alternativen vor. Die ethischen Ansätze für die Risikobewertung werden diskutiert. Zwei Projekte befassen sich mit dem Ökosystem Boden. Es wurden Methoden für den Nachweis der biologischen Belastung des Bodens ausgearbeitet und getestet. Ferner wird gezeigt, dass der biologische Abbau von transgenem Mais im Feld sich nicht vom Abbau des normalen Mais unterscheidet und die untersuchten Bodenorganismen nicht beeinträchtigt worden sind. Schliesslich befassen sich 3 Projekte mit dem Einfluss von verschiedenen GVP auf Nichtzielorganismen, wobei sich anhand der ausgewählten Beispiele und der verwendeten Organismen keine Beeinträchtigungen von Nichtzielorganismen nachweisen lassen.

Stichwörter:
genetisch veränderte
Organismen,
transgene Pflanzen,
Monitoring,
Risikoabschätzung,
Gentechnologie,
Biosicherheit

Cette étude traite de la détection d'éventuels effets négatifs sur l'environnement qui seraient provoqués par la présence d'organismes génétiquement modifiés (OGM), des plantes en particulier. Il s'est agi de fournir des critères scientifiques aux autorités afin d'évaluer les risques et de permettre la prise de décisions. L'accent a été mis sur quatre thématiques et un total de huit projets sur lesquelles il n'existait jusqu'à présent peu d'études ou des données insuffisantes. L'étude montre la conception d'une surveillance y compris les coûts engendrés. Elle montre aussi les limites du suivi et propose des approches alternatives. Une approche éthique de l'évaluation du risque y est discutée. Deux projets s'occupent de l'écosystème du sol. Des méthodes qui permettent d'évaluer l'impact provenant de sources biologiques ont été développées et testées. Il est également démontré que la décomposition en champs d'un maïs transgénique ne se distingue pas de celle du maïs classique correspondant et que les organismes du sol ne sont pas perturbés par les protéines exprimées par ce maïs. Enfin, trois projets se sont penchés sur les effets de différentes plantes transgéniques sur des organismes non-ciblés. Pour les exemples qui ont été choisis, aucune atteinte sur des organismes non-ciblés n'a pu être mise en évidence.

Il programma di ricerca qui presentato cerca di evidenziare eventuali effetti negativi sull'ambiente che potrebbero essere stati provocati dalla presenza di organismi geneticamente modificati (OGM) e in particolare di piante geneticamente modificate. Lo studio ha come scopo quello di fornire dei criteri scientifici alle autorità affinché possano valutare i rischi e prendere delle decisioni in merito. Sono state scelte quattro tematiche per un totale di otto progetti. Su molte di queste tematiche gli studi svolti sono inesistenti o insufficienti. Lo studio mostra l'assetto di una possibile sorveglianza e i costi da essa generati. Il programma di ricerca evidenzia anche i limiti di una sorveglianza e propone delle idee alternative. Si cerca anche di delineare e discutere l'approccio etico della valutazione dei rischi. Due progetti si occupano dell'ecosistema del suolo. Sono stati sviluppati e testati dei metodi che permettono di valutare l'impatto del suolo con nuove risorse biologiche. Lo studio ha dimostrato che la decomposizione di mais transgenico sui campi non si distingue da quella di mais convenzionale, e che gli organismi del suolo non sembrano essere disturbati dalle proteine espresse dal mais transgenico. Infine, tre progetti si occupano degli effetti di diverse piante transgeniche su degli organismi che non sono bersaglio delle piante transgeniche in questione. Gli esempi scelti non hanno evidenziato compromissioni sugli organismi che non sono bersaglio delle piante transgeniche.

Mots-clés:

organismes génétiquement modifiés,
plantes transgéniques,
surveillance,
évaluation du risque,
génie génétique,
biosécurité

Parole chiave:

Organismi geneticamente modificati, piante transgeniche,
sorveglianza, valutazione dei rischi, ingegneria genetica,
biosicurezza

> Vorwort

Verschiedene Analysen haben mehrfach gezeigt, dass in der Schweiz Forschungsbedarf bezüglich der Verwendung transgener Organismen besteht. Ausserdem wurde von politischer Seite anerkannt, dass die Forschung auf diesem Gebiet gefördert werden soll.

Im Frühjahr 2004 hat deshalb das BAFU ein Forschungsprogramm im Bereich Biosicherheit lanciert. Ziel der Forschung war eine Aufarbeitung und Verbesserung des Wissens zu verschiedenen Themen über die möglichen Folgen der Verwendung gentechnisch veränderter Organismen in der Umwelt. Es hat dabei vollzugsnahe Themen wie zum Beispiel Monitoring von GVO in der Umwelt oder Kriterien für die Risikobewertung vorgegeben. Nach einer öffentlichen Ausschreibung sind von einer externen Gruppe von Fachleuten aus Forschung und Industrie 8 Projekte ausgewählt worden.

Der vorliegende Bericht stellt in zusammenfassender Form die Resultate dieses 3-jährigen Forschungsprogramms vor. Folgende Schwerpunkte wurden berücksichtigt: das Monitoring von GVO, Fragen der Risikoethik, Fragen zu Risiken für das Ökosystem Boden und schliesslich Fragen zu Risiken für Nichtzielorganismen. Alle Forschungsprojekte tragen nicht nur dazu bei, vorhandene Wissenslücken zu füllen, sondern auch dazu, noch offene Fragen zu identifizieren und zu formulieren.

Das BAFU bedankt sich bei allen, die zum Gelingen dieses Forschungsprogramms beigetragen haben, insbesondere bei den Forscherinnen und Forschern für die geleistete Arbeit. Verschiedene Projekte haben im Nationalen Forschungsprogramm 59 über «Chancen und Risiken der Freisetzung gentechnisch veränderter Pflanzen» eine Fortsetzung gefunden. Das BAFU freut sich, dass dank der vielen neuen Ergebnisse der Wissensstand über die Folgen der Verwendung gentechnisch veränderter Organismen in der Umwelt in wichtigen Fragen verbessert werden konnte.

Gérard Poffet
Vizedirektor
Bundesamt für Umwelt (BAFU)

> Zusammenfassung

Ausgangslage und Auftrag

Das Gentechnikgesetz vom 21. März 2003 schreibt vor, dass die Sicherheit im Bereich der Freisetzung von genetisch veränderten Organismen gewährleistet sein muss.

Die wissenschaftlichen Grundlagen für die Umsetzung der gesetzlichen Vorgaben sind jedoch gemäss den Thesen der Schweizerischen Akademie der Naturwissenschaften (SANW) vom Mai 2001 unzureichend. Zahlreiche Umfragen in der Öffentlichkeit bestätigen, dass der Forschungsbedarf auch unter Nichtwissenschaftlern verspürt wird. Gentechnisch veränderte Pflanzen (GVP), welche in anderen Staaten und vor allem ausserhalb Europas bereits grossräumig angebaut werden, sind in der europäischen Öffentlichkeit umstritten. Gerade in der Schweiz führte dies über eine eidgenössische Abstimmung 2005 zum Beschluss eines Moratoriums für den kommerziellen Anbau von genetisch veränderten Pflanzen. Dieses Moratorium ist bis im Jahr 2010 in Kraft.

Um die gesetzlichen Sicherheitsauflagen wissenschaftlich zu untermauern, lancierte das Bundesamt für Umwelt (BAFU) im Jahr 2004 ein 3-jähriges Forschungsprogramm mit dem Titel «Biosicherheit im Bereich der ausserhumanen Gentechnik».

Bei der Auswahl der Forschungsschwerpunkte wurden 4 Themen und Aspekte gewählt, für die bislang noch relativ wenige oder unbefriedigende Daten zur Verfügung standen.

Die Forschungsschwerpunkte und die gewonnenen Erkenntnisse

Forschungsschwerpunkt 1 befasste sich mit der Früherkennung von unerwarteten und langfristigen Umweltauswirkungen von gentechnisch veränderten Organismen (GVO).

2 Forschungsprojekte wurden zu diesem Schwerpunkt durchgeführt. Im ersten Projekt, *Methodische Grundlagen der Langzeitüberwachung von GVO: Schutzziele – Indikatoren – Erhebungsmethoden*, wurden zunächst anhand der bestehenden Gesetzes- und Verordnungstexte die Schutzziele von einem rechtlichen Standpunkt aus zusammengetragen, analysiert und beschrieben. Im zweiten Teil des Projektes wurden als Modell *Diabrotica*- und glyphosatresistenter Mais sowie *Phytophthora*-resistente Kartoffeln gewählt. Für diese Modellpflanzen wurden theoretisch mögliche Szenarien von unerwünschten oder allenfalls negativen Umwelteinflüssen entworfen, welche die formulierten und gesetzlich festgehaltenen Schutzziele gefährden könnten. Ausgehend von diesen Szenarien wurden in der Folge die Indikatoren und die Erhebungsmethoden (Monitoring-Protokolle) mitsamt der Kostenschätzung hergeleitet, mit denen sich mögliche negative Effekte frühzeitig nachweisen liessen.

Forschungsschwerpunkt:
Früherkennung von unerwarteten
und langfristigen Umweltaus-
wirkungen

Im zweiten Projekt dieses Schwerpunktes, *Umweltmonitoring während des kommerziellen Anbaus von Bt-Mais – Ansätze zur Erfassung möglicher Auswirkungen auf Tagfalter und Nützlinge*, wurde untersucht, wie ein Umweltmonitoring konzipiert werden müsste, um Veränderungen der Artenvielfalt oder Individuenzahl in Tagfalterpopulationen oder in der Artenvielfalt der Nützlinge festzustellen. Grund für diese Untersuchung sind Bedenken, dass das insektizide Protein des *Bt*-Mais nicht nur für Maiszünslerlarven, sondern auch für Tagfalter und Nützlinge toxisch sein könnte. Bei der Konzeption des Umweltmonitorings für Tagfalter zeigte sich, dass Tagfalterpopulationen und auch deren Artenreichtum eine natürliche räumliche und zeitliche Variabilität aufweisen. Die Ursachen für diese Variabilität sind nur in einzelnen Fällen auf bestimmte landwirtschaftliche Praktiken oder auf klimatische Faktoren zurückzuführen. In den meisten Fällen sind die Gründe für die Fluktuationen unbekannt oder resultieren aus der Summe verschiedener Faktoren. Einen möglichen Einfluss der GVP auf die Biodiversität liesse sich daher nur mit sehr hohem Aufwand und nur bei relativ grossen Veränderungen von über 30 Prozent eindeutig nachweisen. Damit wäre zwar eine statistische Korrelation zwischen GVP-Anbau und Veränderungen in der Biodiversität aufgezeigt, ein kausaler Zusammenhang aber noch nicht bewiesen. Angesichts des hohen Aufwandes und des bescheidenen wissenschaftlichen Wertes der durch ein Umweltmonitoring von Tagfaltern gewonnenen Daten ist nach Auffassung der Autoren eine Erweiterung der Risikobewertung dem anbaubegleitenden Umweltmonitoring vorzuziehen. Sollten nach Abschluss dieser erweiterten Studien noch wesentliche wissenschaftliche Unsicherheiten bestehen, wäre zur Überprüfung einer plausiblen Hypothese allenfalls eine fallspezifische Überwachung angezeigt (im Sinne der EU-Regulation).

Der zweite Teil des Projekts befasste sich mit der Frage geeigneter Monitoringpläne für *Nützlinge*. Die vorhandenen Forschungsergebnisse aus der Risikobewertung (vor der Vermarktung) liefern keine wissenschaftlich solide Hypothese zum Einfluss des *Bt*-Mais auf Nützlinge, die ein fallspezifisches Monitoring rechtfertigen würde. Als Alternative schlagen die Autoren deshalb vor, in einer allgemeinen Überwachung (im Sinne der EU-Regulation) ökologische Funktionen der Nützlinge, nämlich die natürliche Schädlingsregulierung, zu überwachen. Diese Beobachtungen würden durch die GV-Mais anbauenden Landwirte und durch Pflanzenschutzdienste durchgeführt. Solche Überwachungsmethoden werden in der EU bereits angewandt.

Forschungsschwerpunkt 2 war der Analyse ethischer Fragen im Zusammenhang mit der Risikobewertung gewidmet. In diesem Schwerpunkt ging es darum, Risikobewertungen von GVO aus einer umfassenden, die naturwissenschaftliche Perspektive ergänzenden Gesamtsicht vorzunehmen.

Forschungsschwerpunkt:
Analyse ethischer Fragen zur
Risikobewertung im Bereich
Biotechnologie

Das Projekt selbst war in zwei Unterprojekte aufgeteilt. Im ersten Teil, *Ethische Risikobewertung*, wurden zunächst Begriffe definiert und Kriterien erarbeitet, an denen man sich orientieren sollte, um die Entscheide im Zusammenhang mit der ethischen Risikobewertung treffen zu können. Unabhängig von der Biotechnologie wurde die Frage formuliert, welche Risiken zumutbar sind und welche nicht. Dabei wurde für den Entscheidungsprozess das Konzept des Schwellenwerts als einziges anwendbares Kriterium beim Umgang mit Risiken identifiziert. Aufgrund der Wahrscheinlichkeit

eines Schadens und aufgrund des vermeintlichen Schadenausmasses wird ein Erwartungswert bestimmt. Nur wenn der Erwartungswert unter dem Schwellenwert liegt, darf ein Risiko eingegangen werden.

Im anderen Teil, *Bedeutung des Schadenbegriffs für die Risikobewertung von GVO*, wurde untersucht, welche Rolle dieser Schadensbegriff für die Risikobewertung einnimmt. Es wird festgestellt, dass der Risikobewertung zwei Wertschätzungen zugrunde liegen, nämlich die des Schutzgutes und jene des wünschenswerten Zustandes. Schaden tritt dann auf, wenn ein gewisses Mass der Abweichung vom wünschenswerten Zustand der Schutzgüter erreicht oder überschritten ist. 3 Fallbeispiele wurden beigezogen, um die Kriterien für die Risikobewertung herzuleiten. Empirisch lässt sich das Risiko dieser Beispiele in einer sogenannten Risikomatrix eintragen. In den Fällen, bei denen sowohl das Schadenausmass als auch die Eintrittswahrscheinlichkeit des Schadens abschätzbar sind, erlaubt dies eine quantitative Darstellung des Risikos.

Die Anwendung der in beiden Teilprojekten erarbeiteten Kriterien erwies sich gerade in den Beispielen aus der pflanzlichen Gentechnologie als schwierig. Der Grund hierfür ist, dass für die ethische Risikobewertung sowohl Kenntnisse über ein mögliches Schadenausmass als auch über dessen Eintrittswahrscheinlichkeit nötig sind.

Im *Forschungsschwerpunkt 3* geht es um die Risiken für das Ökosystem Boden.

Forschungsschwerpunkt:
Risiken für das Ökosystem Boden

Zwei Forschungsprojekte befassten sich mit diesem Schwerpunkt. Im ersten Projekt, *Belastungen des Ökosystems Boden durch natürliche sowie gentechnisch veränderte Organismen – Effekte, Methoden und Schadensdefinition als Beitrag zur Risikobeurteilung*, wurden mögliche Effekte biologischer Bodenbelastungen auf das Ökosystem Boden definiert, Methoden zu deren Erfassung sowie Kriterien zur Bewertung der Eignung dieser Methoden zusammengestellt, ein Vorgehen zur effektbezogenen Methodenauswahl für die Risikobeurteilung dieser Organismen erarbeitet sowie definiert, wann eine Veränderung einen Schaden für den Boden darstellt. Das Projekt unterteilt sich in 4 Module. Modul 1 beinhaltet die theoretischen Arbeiten unter anderem auf Basis der Auswertung internationaler Konzepte zur Bestimmung der Bodenqualität sowie einer Literaturübersicht zum Thema GVO und eingeführte Organismen. In den Modulen 2 und 3 wurde das erarbeitete Vorgehen für eine effektbezogene Methodenauswahl sowohl in einem Modellversuch im Gewächshaus als auch in einem Freilandversuch praktisch angewendet. Im Modellversuch wurde *Pseudomonas fluorescens* Stamm CHA0 eingesetzt, im Feldversuch das Präparat «Effektive Mikroorganismen». Modul 4 enthält die Synthese der Module 1 bis 3.

Das in Modul 1 erarbeitete Vorgehen zur Erfassung möglicher Effekte auf das Ökosystem Boden durch biologische Bodenbelastungen hat sich als geeignet erwiesen. Basierend auf den Kriterien der Schadensdefinition konnten in beiden Versuchen keine Veränderungen von Bodeneigenschaften bzw. -funktionen im Sinne eines Schadens für den Boden festgestellt werden.

Im zweiten Projekt, *Abbaubarkeit von Bt-Mais im Boden und Auswirkungen auf Regenwürmer und andere Bodenmakroorganismen*, wurde der Abbau von Pflanzen-

rückständen von verschiedenen transgenen Maissorten, die das insektizide *Bt*-Protein enthalten, und den entsprechenden nicht-transgenen Sorten auf dem Feld untersucht. Unterschiede in der Abbaugeschwindigkeit fanden sich lediglich zwischen verschiedenen Sorten, nicht aber in Abhängigkeit ihrer gentechnischen Veränderung. Im Labor wurden des Weiteren die Wirkung des *Bt*-Toxins auf verschiedene Bodenorganismen wie Regenwürmer, Schnecken und Fliegenlarven untersucht. Die ausgewählten Organismen wurden während bis zu 4 Generationen verfolgt, um längerfristige Effekte und Auswirkungen auf die Fertilität feststellen zu können. Innerhalb der untersuchten Bedingungen liess sich kein Unterschied zwischen gentechnisch veränderten und konventionellen Maissorten nachweisen. Die Studie kommt daher zum Schluss, dass von diesen transgenen Maissorten kein erhöhtes ökologisches Risiko für den Boden ausgeht. Dieses zweite Projekt mit der Untersuchung von Bodenorganismen bildet auch eine Überleitung zum vierten Schwerpunkt, in dem mögliche Auswirkungen auf Nichtzielorganismen untersucht wurden.

Im *Forschungsschwerpunkt 4* ging es mit insgesamt 3 Projekten um mögliche Auswirkungen von GVP auf Nichtzielorganismen. In diesen Projekten wurde der Einfluss verschiedener gentechnisch veränderter Pflanzen auf Organismen untersucht, für welche bislang nur wenige oder gar keine Studien im Zusammenhang mit gentechnisch veränderten Pflanzen vorlagen.

Forschungsschwerpunkt:
Risiken für Nichtzielorganismen

Das erste Projekt, *Auswirkungen schädlingsresistenter transgener Pflanzen auf Solitärbienen*, befasste sich mit Wildbienen. Die Wirkung insektenresistenter Pflanzen auf Honigbienen wurde zuvor vielfach untersucht, nicht jedoch auf die Wildbienen, obschon diese für die Befruchtung unzähliger Blütenpflanzen, darunter viele Kulturpflanzen, unentbehrlich sind. Larven der Bienen wurden mit Pollen, vermischt mit 3 verschiedenen Proteinen (OC-1, Cry1Ab sowie GNA), gefüttert. Der Einfluss der transgenen Pflanzen wurde auch auf die adulten Tiere getestet. Schliesslich wurde überprüft, ob Honigtau von GVP eine mögliche Belastungsquelle für die Tiere darstellt, die sich gelegentlich davon ernähren.

Als Schlussfolgerung dieser Studie steht fest, dass negative Effekte auf Wildbienen-Bestände durch die getesteten transgenen Pflanzen praktisch auszuschliessen sind. Die in diesem Projekt entwickelten Testverfahren können in Zukunft auf weitere, neue transgene insektenresistente Pflanzen angewandt werden.

Das zweite Projekt, *Die Wirkung erhöhter Resistenz gegen Krankheitserreger auf die Interaktion mit symbiotischen Pilzen im Reis*, befasste sich mit der wichtigen Frage, ob eine Resistenz gegenüber krankheitserregenden Pilzen die Pflanzen möglicherweise auch von der Interaktion mit symbiotischen unterirdischen Mykorrhizapilzen ausschliesst. Im ausgewählten Beispiel liess sich kein Unterschied zwischen den gentechnisch veränderten Reispflanzen und ihren entsprechenden nicht-transgenen Kontrollen feststellen. Es stellte sich dabei heraus, dass die über gentechnologische Veränderung eingebrachte Resistenz gegen den Reisbrand-Auslöser nicht in den Wurzeln wirkt. Die Wurzeln des Reisbrand-resistenten Reises liessen sich wie die Kontrollen durch Mykorrhiza-Pilze kolonisieren. Somit ist der Resistenzmechanismus der gewählten genetisch veränderten, Reisbrand-resistenten Reissorte kein Hindernis für eine Kolonisie-

zung mit den nützlichen Mykorrhiza-Pilzen. Die Frage, ob in Wurzeln aktive Resistenzen gegenüber pathogenen Pilzen auch die Interaktion mit den nützlichen Mykorrhizapilzen beeinflussen, bleibt offen und sollte somit integrierter Bestandteil der entsprechenden Risikobewertung sein.

In einem dritten Projekt, *Einfluss der Transgenosis auf die Pflanzen-Insekten-Beziehungen im Apfel-System, insbesondere auf chemisch vermittelte Wechselwirkungen*, wurde der Einfluss der Schorfresistenz auf Apfelblattminierer und auf Schlupfwespen, welche durch spezifische Duftstoffe der Apfelblätter angelockt werden, untersucht. Die Resistenz gegenüber dem Schorf hervorrufenden Pilz wird in der Kultursorte «Florina» durch das *HcrVf2*-Gen vermittelt. Dieses wurde in die Kultursorte «Gala» mittels Transgenosis eingebracht. Vier Apfelsorten wurden miteinander verglichen: Die klassisch gezüchteten Kultursorten «Florina» und «Gala» sowie die transgenen «Gala»-Sorten mit oder ohne *HcrVf2*-Gen. Auch in diesem Fall erwies sich die entwickelte Nachweismethode als empfindlich und für weitere Untersuchungen anwendbar. Im untersuchten Fall konnten Unterschiede zwischen den Kultursorten, jedoch nicht in Abhängigkeit der gentechnischen Veränderung festgestellt werden.

Die Resultate dieses Forschungsprogramm wurden anhand einer Tagung am 17. Juni 2008 der Öffentlichkeit vorgestellt und diskutiert.

> Résumé

Situation de départ et mandat

Le 21 mars 2003, le Parlement a adopté une loi sur le génie génétique fixant les exigences de sécurité à respecter en matière de dissémination des organismes génétiquement modifiés (OGM).

Toutefois, en mai 2001, l'Académie suisse des sciences naturelles (ASSN) a émis l'avis que les bases scientifiques nécessaires à la mise en œuvre des textes de loi alors en projet étaient insuffisantes. De nombreux sondages d'opinion ont en outre montré que la population non-scientifique était elle aussi préoccupée par l'insuffisance des connaissances et de la recherche, notamment la population européenne, sceptique à l'égard des plantes génétiquement modifiées (PGM), déjà cultivées à grande échelle dans certains pays majoritairement non européens. Et en particulier la population suisse, qui a même voté en 2005 l'adoption d'un moratoire interdisant la culture commerciale des dites plantes jusqu'en 2010.

Pour activer l'acquisition des bases scientifiques manquantes, l'Office fédéral de l'environnement (OFEV) a lancé en 2003 un programme de recherche quadriennal, baptisé «La biosécurité dans le génie génétique appliqué au domaine non humain».

Pour ce programme, quatre axes de recherche ont été retenus, correspondant à quatre domaines pour lesquels les données à disposition ont été jugées insuffisantes en quantité ou en qualité.

Axes de recherche et résultats

Le premier axe de recherche du programme portait sur la détection précoce d'effets à long terme non anticipés des OGM sur l'environnement.

Pour cet axe, deux projets de recherche ont été menés. Le premier projet, baptisé «*Bases méthodologiques de la surveillance à long terme des OGM: objectifs de protection – indicateurs – méthodes de relevé*», s'est déroulé en deux phases: une première phase, pour laquelle il s'agit de lister, analyser et décrire les objectifs de protection sous l'angle juridique, à partir des textes de lois et d'ordonnances existants; et une deuxième phase, qui a consisté à sélectionner deux modèles de plantes transgéniques, à savoir le maïs résistant au *diabrotica* et au glyphosate et la pomme de terre résistante au *phytophthora*, puis à élaborer pour ces plantes les scénarios théoriquement envisageables d'effets environnementaux non souhaités ou potentiellement négatifs qui seraient susceptibles de contrarier les objectifs ainsi formulés et inscrits dans la législation, et enfin à définir à partir de ces scénarios les protocoles de monitoring (indicateurs et méthodes de relevé) qui permettraient la détection précoce ainsi que les coûts y afférents.

Axe de recherche «Détection précoce d'effets à long terme non anticipés sur l'environnement»

Le deuxième projet, baptisé «Monitoring environnemental de la culture commerciale du maïs Bt – approches pour le recensement des effets potentiels sur les papillons diurnes et les organismes utiles» a été mené en raison des craintes émises sur une possible toxicité de la protéine insecticide du maïs Bt non seulement pour les larves de pyrale (parasite ciblé) mais aussi pour les papillons diurnes et les organismes utiles (espèces non ciblées). Il a consisté en une étude destinée à déterminer la façon dont un monitoring environnemental devrait être conçu pour garantir la détection précoce d'éventuelles modifications, d'une part au niveau du nombre d'espèces et d'individus au sein des populations de papillons diurnes, et d'autre part au niveau de la diversité des organismes utiles.

Les travaux sur le monitoring environnemental des *papillons diurnes* ont montré que les populations concernées présentent, à la fois en termes d'importance et de diversité, une variabilité spatiale et temporelle naturelle, que cette variabilité n'est que très rarement imputable à des pratiques agricoles déterminées ou aux facteurs climatiques, et qu'elle résulte le plus souvent soit de causes inconnues soit de la conjonction de plusieurs facteurs. Les auteurs de l'étude en ont conclu que l'on ne pourrait clairement démontrer les effets potentiels des PGM sur la biodiversité qu'à très grand renfort de moyens et uniquement en cas de modifications relativement importantes (supérieures à 30 %) des nombres d'espèces et d'individus. Et que, même si l'on y parvenait, cela permettrait d'établir une corrélation statistique entre la culture de PGM et les modifications de la biodiversité, mais pas de prouver un véritable lien de cause à effet. Estimant ainsi que les données qui seraient recueillies dans le cadre d'un monitoring environnemental des papillons diurnes n'auraient qu'une valeur scientifique limitée en regard des coûts qui seraient occasionnés par leur collecte, ils ont considéré qu'il fallait préférer au monitoring des cultures une évaluation du risque étendue, et ont proposé que cette évaluation puisse éventuellement, pour le cas où des doutes scientifiques sérieux persisteraient après sa réalisation, être suivie d'une surveillance spécifique (au sens de la réglementation européenne), ciblée sur les seules hypothèses plausibles.

Les travaux sur le monitoring environnemental des *organismes utiles* ont quant à eux montré que les recherches menées dans le cadre de l'évaluation du risque (antérieure à la commercialisation) ne permettaient d'émettre aucune hypothèse scientifiquement fondée sur les effets du maïs Bt sur ces organismes, et que rien ne justifiait par conséquent la conduite d'une surveillance spécifique. Les auteurs de l'étude ont donc proposé comme solution de remplacement de soumettre les fonctions écologiques des organismes utiles, à savoir leur rôle dans la régulation naturelle des parasites, à une surveillance générale (au sens de la réglementation européenne), assurée à la fois par les agriculteurs cultivant le maïs transgénique et par les services phytosanitaires, comme cela se fait déjà au sein de l'UE.

Le deuxième axe de recherche du programme visait à analyser les questions éthiques liées à l'évaluation du risque dans le domaine de la biotechnologie, de façon à pouvoir à terme soumettre les OGM à des évaluations de risques globales, intégrant les aspects éthiques en complément des aspects scientifiques.

Axe de recherche «Analyse de questions d'ordre éthique liées à l'évaluation du risque dans le domaine de la biotechnologie»

Pour cet axe, deux projets ont été menés. Le premier projet, baptisé «*Evaluation éthique du risque*», avait pour objectif de déterminer les notions et critères qui devraient servir de base aux décisions en rapport avec la composante éthique de l'évaluation du risque. A cet effet, les spécialistes qui ont travaillé sur ce projet se sont demandé, ceci d'ailleurs de façon tout à fait générale et non uniquement pour le domaine de la biotechnologie, quels risques pouvaient être considérés comme acceptables, et quels risques devaient au contraire être considérés comme inacceptables. Il en est ressorti l'idée que le concept de la valeur seuil était le seul critère applicable au processus décisionnel relatif à la gestion éthique des risques. Concept qui veut que l'on calcule la valeur attendue du dommage lié au risque évalué à partir de la probabilité d'apparition et de l'ampleur estimée de ce dommage, et que l'on ne prenne finalement le risque en question que si cette valeur se révèle inférieure à la valeur seuil prédéfinie.

Le deuxième projet, baptisé «*Importance de la notion de dommage dans l'évaluation du risque des OGM*», avait quant à lui pour objectif de déterminer le rôle de cette notion dans l'évaluation éthique du risque dans le domaine particulier de la biotechnologie. Les experts qui ont travaillé sur ce projet ont commencé par poser ce double constat: de manière générale, l'évaluation éthique du risque repose sur deux autres évaluations, à savoir celle de l'état effectif des biens à protéger, et celle de l'état souhaitable pour ces mêmes biens; on considère qu'il y a dommage lorsque l'écart entre ces deux états atteint un niveau critique prédéterminé. En s'appuyant sur trois exemples concrets de plantes transgéniques, ils ont ensuite défini les critères à utiliser pour évaluer le risque du point de vue éthique dans le domaine particulier de la biotechnologie. En effet, il est empiriquement possible d'intégrer le risque dans ce que l'on appelle une matrice d'évaluation du risque, soit un outil qui permet de quantifier le risque dans les cas où la probabilité d'apparition et l'ampleur estimée du dommage considéré sont mesurables.

Les critères élaborés dans le cadre de ces deux projets se sont révélés difficilement applicables aux trois exemples tirés de la biotechnologie mentionnés ci-dessus: l'évaluation éthique du risque implique la connaissance de la probabilité d'apparition et de l'ampleur estimée du dommage considéré; or ce sont là deux éléments encore mal connus dans le cas des OGM.

Le *troisième axe de recherche* du programme portait sur les risques encourus par l'écosystème sol.

Axe de recherche «Risques encourus par l'écosystème sol»

Deux projets de recherche se sont intéressés à cet axe. Le premier projet, baptisé «*Atteintes portées à l'écosystème sol par les organismes naturels et les organismes génétiquement modifiés – effets, méthodes et définition du dommage en appui de l'évaluation du risque*», a consisté à définir les effets potentiels des atteintes biologiques portées au sol sur l'écosystème sol, à dresser la liste des différentes méthodes possibles pour recenser lesdits effets et des critères à utiliser pour évaluer l'adéquation desdites méthodes, à élaborer une procédure pour sélectionner à chaque évaluation de risque la méthode la mieux adaptée aux effets à recenser, et enfin à déterminer à partir de quel moment une modification du sol doit être considérée comme un dommage porté à celui-ci. Il s'est divisé en quatre modules: le module 1 a servi à poser les bases

théoriques, notamment à partir d'une analyse des différents concepts utilisés à travers le monde pour déterminer la qualité du sol et d'une revue de la littérature disponible sur les OGM et les organismes introduits; les modules 2 et 3 ont quant à eux permis de mettre en pratique la procédure de sélection élaborée pour les méthodes de recensement, ceci à la fois dans le cadre d'un essai pilote réalisé en serre, avec l'organisme *Pseudomonas fluorescens* de souche CHA0, et dans le cadre d'un essai en plein champ, réalisé pour sa part avec la préparation «Micro-organismes effectifs». Le module 4, enfin, a consisté à dresser la synthèse des trois premiers modules.

La procédure élaborée dans le cadre du module 1 pour le recensement des effets potentiels des atteintes biologiques portées au sol sur l'écosystème sol s'est révélée appropriée. Les deux essais mentionnés n'ont quant à eux permis de constater au niveau des propriétés et fonctions du sol aucune modification pouvant être considérée comme un dommage au sens des critères retenus.

Le deuxième projet, baptisé «*Dégradabilité du maïs Bt dans le sol et effets sur les vers de terre et autres macro-organismes du sol*», s'est composé d'une expérience de terrain et d'une expérience de laboratoire. L'expérience de terrain a consisté à étudier la décomposition des résidus végétaux de diverses variétés de maïs transgéniques contenant la protéine insecticide Bt parallèlement à celle de leurs pendants non modifiés génétiquement: les seules différences de vitesse de décomposition qui ont été constatées l'ont été entre les variétés; aucune différence n'a en effet été observée entre les sujets transgéniques et non transgéniques d'une même variété. L'expérience de laboratoire a ensuite consisté à étudier l'action de la toxine Bt sur divers organismes du sol, tels que les vers de terre, les limaces et les larves de mouches: les organismes sélectionnés ont été suivis sur une longue durée, équivalant dans certains cas à quatre générations, ceci afin de pouvoir déterminer les effets de ladite toxine sur le long terme et sur la fertilité des individus; mais là encore, aucune différence n'a pu être constatée, en tout cas dans les conditions étudiées, entre les variétés de maïs transgéniques et les variétés classiques. Le deuxième projet s'est par conséquent achevé sur la conclusion que les variétés de maïs transgéniques étudiées ne représentaient pas de risque écologique accru pour le sol. Il a par ailleurs constitué une transition avec le quatrième et dernier axe de recherche, consacré à l'étude des effets potentiels sur les organismes non ciblés.

Le quatrième axe de recherche du programme, qui visait donc à évaluer les effets potentiels des PGM sur les organismes non ciblés, a donné lieu à trois projets, ayant tous consisté à étudier les réactions d'organismes encore peu étudiés, voire pas étudiés du tout, en rapport avec la transgénèse.

Le premier projet, baptisé «*Effets des plantes transgéniques résistantes aux ravageurs sur les abeilles solitaires*», s'est plus particulièrement intéressé aux abeilles sauvages, indispensables à la fécondation d'innombrables plantes à fleurs (parmi lesquelles beaucoup de plantes de culture), et pourtant absentes de toutes les études réalisées antérieurement et axées exclusivement sur les abeilles communes. Il s'est composé de trois études: une première, qui était destinée à évaluer les effets des plantes transgéniques sur des larves d'abeilles nourries avec un pollen mélangé à trois protéines diffé-

Axe de recherche «Risques encourus par les organismes non ciblés»

rentes (OC-1, Cry1Ab et GNA); une deuxième, qui visait à tester ces mêmes effets sur les abeilles adultes; et enfin une troisième, dont le but était de déterminer si le miellat issu des PGM pouvait être à l'origine de quelconques atteintes pour les individus qui s'en nourrissent occasionnellement.

Les auteurs de ces études ont conclu que l'on pouvait pratiquement exclure tout effet négatif des plantes transgéniques testées sur les populations d'abeilles sauvages. Ils ont par ailleurs développé pour ce projet des méthodes de test qui pourront être réutilisées pour d'autres PGM résistantes aux insectes.

Les membres du deuxième projet, baptisé «*Effets des transgènes conférant une résistance accrue aux pathogènes sur l'interaction avec les champignons symbiotiques dans le riz*», ont pour leur part cherché à répondre à la question fondamentale de savoir si l'intégration d'un gène de résistance aux champignons pathogènes dans le patrimoine génétique d'une plante pouvait aussi entraver l'interaction, bénéfique, de cette plante avec les champignons mycorrhiziens symbiotiques présents au niveau de ses racines. Leur étude, basée sur l'exemple du riz, n'a fait ressortir aucune différence entre les plantes de riz modifiées génétiquement pour résister au champignon pathogène agent de la pyriculariose du riz et les plantes contrôles non transgéniques correspondantes: les racines des plantes de riz résistantes ont été colonisées par les champignons mycorrhiziens de la même manière que celles des plantes contrôles. Ces résultats permettent de conclure deux choses: d'une part, la résistance à la pyriculariose conférée par transgenèse n'agit pas au niveau des racines; d'autre part, le mécanisme de défense des variétés de riz porteuses du gène de résistance à la pyriculariose et sélectionnées pour l'étude n'entrave pas la colonisation de leurs racines par les champignons mycorrhiziens utiles. Ils ne disent pas néanmoins si les résistances aux pathogènes fongiques qui, contrairement à la résistance à la pyriculariose, sont actives au niveau des racines peuvent, elles, influencer sur l'interaction avec ces champignons mycorrhiziens utiles. Or c'est une question à laquelle il faudra tâcher de répondre lors d'une évaluation du risque appropriée.

Le troisième projet, baptisé «*Influence de la transgenèse sur les relations plante-insecte, en particulier sur les interactions par voie chimique, dans le système pomme*», s'est intéressé à l'impact de la résistance à la tavelure sur la mineuse des feuilles du pommier et sur les mouches ichneumon attirées par les senteurs spécifiques émises par ces feuilles. L'étude réalisée pour ce projet a consisté à comparer entre eux quatre cultivars de pommiers différents: un cultivar classique de la variété «Florina», naturellement résistant au champignon responsable de la tavelure du fait de son gène HcrVf2; un cultivar classique de la variété «Gala», sensible lui à la tavelure; un cultivar transgénique de l'espèce «Gala», auquel a été transféré le gène HcrVf2; et un autre cultivar transgénique de l'espèce «Gala» mais non porteur du gène HcrVf2. La méthode de test développée pour sa réalisation a permis la mesure de changements subtils et pourra elle aussi être réutilisée pour d'autres études. Dans le cas présent, elle a permis de constater des différences entre les cultivars, différences qui se sont néanmoins révélées sans lien avec la transgenèse.

Les résultats du programme de recherche ont été présentés et débattus lors d'un workshop qui s'est tenu le 17 juin 2008.

> Riassunto

Situazione iniziale e mandato

La legge del 21 marzo 2003 sull'ingegneria genetica prescrive le norme di sicurezza cui attenersi nell'ambito della disseminazione di organismi geneticamente modificati.

Tuttavia, secondo le tesi pubblicate nel maggio 2001 dall'Accademia svizzera delle scienze naturali (ASSN) le basi scientifiche necessarie all'applicazione delle prescrizioni legali sono insufficienti. Numerosi sondaggi confermano che la richiesta di condurre attività di ricerca supplementari proviene anche da ambienti estranei al mondo scientifico. In Europa sono contestate in particolare le piante transgeniche, già coltivate su vasta scala in altri Paesi, soprattutto oltremare. In Svizzera, ciò ha condotto alla votazione federale del 2005 e alla decisione di introdurre una moratoria alla coltivazione commerciale di piante transgeniche. La moratoria è in vigore fino al 2010.

Allo scopo di fornire una base scientifica alle prescrizioni legali concernenti la sicurezza, nel 2003 l'Ufficio federale dell'ambiente (UFAM) ha varato un programma di ricerche quadriennale intitolato «Sicurezza biologica nell'ingegneria genetica nel settore non umano».

La scelta degli aspetti prioritari della ricerca si è focalizzata su quattro aspetti riguardo ai quali i dati e le conoscenze disponibili fino allora erano ancora scarsi o insoddisfacenti.

Gli aspetti prioritari della ricerca e le conoscenze ottenute

La *priorità di ricerca 1* si è occupata dell'identificazione tempestiva degli effetti inattesi e durevoli degli organismi geneticamente modificati (OGM) sull'ambiente.

Su questo aspetto sono stati realizzati due progetti. Nel primo, *Basi metodologiche per la sorveglianza degli OGM a lunga scadenza: obiettivi – indicatori – metodi di rilevamento*, sono dapprima stati riassunti, esaminati e descritti gli obiettivi di protezione dal punto di vista giuridico, sulla base dei testi legali e delle ordinanze esistenti. La seconda parte del progetto ha considerato due modelli: il granoturco resistente alle *Diabrotica* e al glifosate e le patate resistenti alle *Phytophthora*. Sono stati definiti possibili scenari teorici per quanto riguarda gli effetti indesiderati o eventualmente negativi sull'ambiente, i quali potrebbero minacciare gli obiettivi di protezione legali. In seguito, sono stati estrapolati gli indicatori ed elaborati i metodi di rilevamento (protocolli di osservazione) atti a identificare precocemente i possibili effetti negativi. Infine, è stata effettuata una valutazione dei costi.

Il secondo progetto di questo tema prioritario, *Osservazione ambientale nell'ambito della coltivazione commerciale di granoturco Bt – approccio atto a recensire i possibi-*

Tema prioritario di ricerca:
Identificare tempestivamente gli
effetti ambientali inattesi e
durevoli

li effetti sulle farfalle diurne e gli ausiliari, ha esaminato in che modo deve essere concepita un'osservazione ambientale volta a stabilire cambiamenti nella diversità delle specie o nel numero di individui in seno alle popolazioni di farfalle diurne o nella diversità specifica degli organismi ausiliari. Queste analisi sono motivate dal sospetto che le proteine insetticide prodotte dal granoturco *Bt* siano tossiche anche per le farfalle diurne e gli ausiliari oltre che per la larva della piralide del granoturco. La concezione dell'osservazione ambientale per quanto riguarda le *farfalle diurne* ha indicato che le loro popolazioni e la quantità di specie sono sottoposte a variabilità spaziali e temporali naturali. Le cause di questa variabilità sono dovute solo in alcuni casi isolati a determinate pratiche agricole o a fattori climatici. Nella maggior parte dei casi, i motivi delle fluttuazioni rimangono sconosciuti o provengono dall'accumulazione di diversi fattori. In questa situazione, il possibile influsso delle piante OGM sulla biodiversità può essere stabilito con certezza solo mediante un impegno particolarmente sostenuto e nel caso di variazioni relativamente importanti, oltre al 30 per cento. Ciò dimostrerebbe solo una correlazione statistica tra la coltivazione di piante transgeniche e certi cambiamenti nella biodiversità, ma non un nesso causale. Visto l'elevato impegno richiesto e il modesto valore scientifico dei dati raccolti mediante l'osservazione ambientale delle farfalle diurne, gli autori considerano che la valutazione del rischio deve preferibilmente essere estesa all'osservazione accompagnante la coltivazione. Alla conclusione di tali esami approfonditi, qualora sussistessero importanti incertezze scientifiche, potrebbe essere considerata la sorveglianza di un caso specifico allo scopo di esaminare un'ipotesi plausibile (ai sensi delle normative dell'UE).

La seconda parte del progetto ha esaminato il problema di stabilire dei piani d'osservazione adeguati nei confronti degli *ausiliari*. I risultati provenienti dalla ricerca sulla valutazione del rischio (prima della commercializzazione) non forniscono alcuna ipotesi scientifica solida sull'azione esercitata dal granoturco *Bt* sugli ausiliari che possa giustificare un monitoraggio specifico. Gli autori propongono pertanto, come alternativa, di svolgere una sorveglianza delle funzioni ecologiche degli ausiliari in seno a una sorveglianza generale (ai sensi delle normative dell'UE), in particolare della regolazione naturale dei parassiti. Queste osservazioni sono state svolte dagli agricoltori che hanno coltivato del granoturco OGM e dai Servizi fitosanitari. Tali metodi di sorveglianza vengono già applicati nell'UE.

La *ricerca prioritaria 2* è stata dedicata all'analisi degli interrogativi di tipo etico riguardo alla valutazione del rischio. Questa priorità aveva lo scopo di considerare in un'ottica complessiva e complementare alla visione scientifica le valutazioni dei rischi legati agli OGM.

Anche questo progetto era suddiviso in due parti. Nella prima, *Valutazione etica del rischio*, sono stati dapprima stabiliti ed elaborati i criteri verso cui orientarsi affinché le decisioni possano essere prese in accordo con la valutazione etica del rischio. Indipendentemente dalla biotecnologia, è stato formulato l'interrogativo sui rischi accettabili e non. Il concetto di valore di soglia è stato identificato come unico criterio applicabile nel processo decisionale per quanto riguarda il rischio. In base alla probabilità del danno e della portata evitabile di quest'ultimo viene definito un valore d'aspettativa. Il

Tema prioritario di ricerca: analisi degli interrogativi di tipo etico riguardo alla valutazione del rischio biotecnologico

rischio può essere assunto solo quando il valore d'aspettativa è inferiore al valore di soglia.

La seconda parte, *Importanza del concetto di danno nella valutazione del rischio legato agli OGM*, ha esaminato il ruolo del concetto di danno nella valutazione del rischio. Sono state sottoposte due stime: quella del bene da tutelare e quella dello stato auspicabile. Il danno appare allorché viene raggiunto o oltrepassato un certo margine di deviazione dallo stato auspicabile dei beni da tutelare. La deduzione dei criteri atti a valutare il rischio è avvenuta dopo considerazione di tre casi esemplari. Empiricamente, il rischio considerato in questi esempi può essere introdotto in una cosiddetta matrice del rischio. Nei casi in cui sia possibile valutare tanto la portata dei danni quanto la probabilità che essi avvengano, il rischio può essere rappresentato quantitativamente.

I criteri elaborati nei due progetti parziali si sono rivelati difficilmente applicabili proprio negli esempi derivanti dall'ingegneria genetica applicata alle piante, poiché la valutazione del rischio dal punto di vista etico richiede tanto la conoscenza della possibile portata del danno quanto quella della probabilità che esso avvenga.

Nella *ricerca prioritaria 3* sono stati studiati i rischi nei confronti dell'ecosistema suolo.

A tale tema sono stati dedicati due progetti di ricerca. Il primo, *Perturbazioni dell'ecosistema suolo causate da organismi naturali e geneticamente modificati – effetti, metodi e definizioni del danno come contributo alla valutazione del rischio*, è servito a definire gli effetti possibili delle perturbazioni biologiche sull'ecosistema suolo. In seguito sono stati elaborati i metodi per recensirle e definiti i criteri per valutarne l'idoneità. Successivamente è stato elaborato un procedimento atto a selezionare i metodi, tenendo conto degli effetti, per valutare il rischio dovuto a tali organismi. Infine, è stato definito quando un cambiamento rappresenta un danno per il suolo. Il progetto è suddiviso in quattro moduli. Il primo contiene gli studi teorici, fra i quali le basi per la valutazione di concetti internazionali atti a definire la qualità del suolo e una panoramica delle pubblicazioni sul tema OGM e organismi introdotti. Nei moduli 2 e 3 il procedimento di cui sopra è stato applicato a una situazione modello sperimentale sotto serra e a una situazione sperimentale in campo aperto. Nella situazione modello è stato introdotto il ceppo CHA0 di *Pseudomonas fluorescens*, mentre in quella in campo aperto è stato introdotto il preparato «microrganismi effettivi». Il quarto modulo costituisce una sintesi dei primi tre.

Il procedimento atto a recensire gli effetti possibili di perturbazioni biologiche sull'ecosistema suolo, elaborato nel modulo 1, si è rivelato idoneo. In entrambe le situazioni sperimentali, i criteri per la definizione del danno non hanno consentito di stabilire cambiamenti nefasti delle proprietà o delle funzioni del suolo.

Nel secondo progetto, *Degradabilità del granoturco Bt nel suolo ed effetti sui lombrichi e altri organismi macroscopici del suolo*, è stata esaminata, in campo aperto, la decomposizione di resti vegetali di diverse varietà di granoturco che producono la proteina insetticida *Bt* e le corrispondenti varietà non transgeniche. Vi sono alcune

Tema prioritario di ricerca:
rischi nei confronti
dell'ecosistema suolo

leggere differenze nella cinetica della decomposizione delle diverse varietà, ma esse non dipendono dal fatto che la pianta sia modificata geneticamente o meno. Inoltre, l'azione della tossina *Bt* è stata esaminata riguardo a vari organismi del suolo come lombrichi, lumache e larve di mosca. Gli organismi selezionati sono stati seguiti fino alla quarta generazione, alla ricerca di effetti a lunga scadenza e di effetti sulla fertilità. Nelle condizioni sperimentali esaminate non sono state riscontrate differenze tra le varietà di granoturco geneticamente modificato e convenzionale. Lo studio giunge dunque alla conclusione che non vi è un rischio ecologico maggiore per il suolo dovuto a queste varietà transgeniche di granoturco. Questo progetto e il relativo esame degli organismi del suolo costituiscono anche la transizione verso la quarta priorità, nel quale sono stati studiati gli effetti sugli organismi non mirati.

Mediante tre progetti, la *ricerca prioritaria 4* si è dedicato agli effetti possibili degli OGM sugli organismi non mirati. I progetti hanno esaminato l'influsso di diverse piante transgeniche su organismi che finora sono stati poco considerati, o non sono stati considerati affatto, in relazione con la coltivazione di piante geneticamente modificate.

Il primo progetto, *Effetti delle piante transgeniche resistenti ai parassiti sulle api solitarie* si è interessato a quest'ultimo tipo di api selvatiche. L'azione delle piante resistenti agli insetti è stata ampiamente studiata in passato sulle api mellifere, ma non su quelle selvatiche, nonostante esse siano indispensabili all'impollinazione di innumerevoli piante, fra cui diverse piante coltivate. Le larve delle api sono state nutrite con polline contenente le tre diverse proteine (OC-1, Cry1Ab e GNA). L'influsso delle piante transgeniche è stato esaminato anche sugli animali adulti. Infine, è stato esaminato in quale misura la mielata di piante OGM possa costituire una fonte di perturbazioni per gli animali che se ne nutrono occasionalmente.

Questo studio conclude che possono praticamente essere esclusi effetti nefasti delle piante transgeniche sulle popolazioni di api selvatiche. In futuro, i procedimenti sperimentali messi a punto in questo progetto potranno essere applicati anche ad altre, nuove piante transgeniche resistenti agli insetti.

Il secondo progetto, *L'azione di un aumento della resistenza ai patogeni sulle interazioni con i funghi simbiotici del riso*, ha considerato un importante interrogativo: la resistenza delle piante nei confronti dei funghi patogeni può escludere anche l'interazione con i funghi simbiotici delle radici, del tipo delle micorrize? L'esempio selezionato non consente di stabilire una differenza tra le piante di riso geneticamente modificate e le loro corrispondenti non transgeniche. È stato così possibile stabilire che la resistenza all'agente patogeno fungino ustilagine, introdotto mediante modificazione genetica, non agisce nelle radici. Le radici del riso resistente all'ustilagine sono state colonizzate dai funghi micorrizici come quelle delle piante di controllo. Il meccanismo di resistenza al fungo patogeno dell'ustilagine non è dunque un ostacolo alla colonizzazione del riso da parte dei funghi ausiliari micorrizici. Rimane aperto l'interrogativo riguardo all'influenza di resistenze ai funghi patogeni attive nelle radici sull'interazione con i funghi ausiliari micorrizici. Esso dovrebbe dunque costituire parte della corrispondente valutazione del rischio.

Tema prioritario di ricerca:
rischi nei confronti degli
organismi non mirati

Il terzo progetto, *Influenza della transgenesi sulle relazioni piante-insetti nel sistema dei meli, in particolar modo sulle interazioni mediate da agenti chimici*, ha esaminato l'influsso della resistenza alle ticchiolature sui fillominatori del melo e gli icneumonidi, attirati alle foglie del melo da specifiche sostanze odoranti. Nella varietà coltivata «Florina», la resistenza al fungo che causa le ticchiolature è conferita dal gene *HcrVf2*. Esso è stato introdotto nella varietà coltivata «Gala» mediante transgenesi. Sono state messe a confronto quattro varietà di mele: le varietà coltivate classiche «Florina» e «Gala» e le varietà transgeniche «Gala» con o senza il gene *HcrVf2*. Anche in questo caso, il metodo d'esame sviluppato si è rivelato sensibile e applicabile ad altri esami. Nel caso esaminato sono state riscontrate differenze fra le varietà coltivate che non dipendevano tuttavia dalle modificazioni genetiche.

I risultati di questo studio sono stati resi pubblici e discussi il 17 giugno 2008 nell'ambito di un convegno.

> Summary

Starting point and mandate

The Gene Technology Act of 21 March 2003 stipulates that safety measures be taken when releasing genetically modified organisms.

However, the scientific bases for implementing the statutory provisions are insufficient, according to the theses of the Swiss Academy of Sciences (SCNAT) of May 2001. Numerous public surveys confirm that also non-scientists feel the need for more research. Genetically modified plants (GMPs), which are already cultivated on a large scale in other countries, particularly outside Europe, are a matter of public concern in Europe. In Switzerland, this led to a federal referendum in 2005 and to the decision for a moratorium on the commercial cultivation of genetically modified plants. This moratorium will remain in force until 2010.

In order to provide a scientific foundation for the statutory safety requirements, in 2003 the Federal Office for the Environment (FOEN) launched a four-year research programme entitled “Biosafety in non-human gene technology”.

The research priorities were four topics and aspects for which relatively few or only unsatisfactory data are so far available.

The research priorities and their findings

Research priority 1 focused on the early detection of unexpected and long-term environmental impacts of genetically modified organisms (GMOs).

Two research projects were carried out within this research priority. In the first, *Methodological bases for the long-term monitoring of GMOs: protection goals – indicators – survey methods*, the protection targets were first listed, analysed and described from a legal point of view using existing legal texts. In the second part of the project, *Diabrotica*- and glyphosate-resistant maize and *Phytophthora*-resistant potatoes were selected as models. For each model plant, hypothetical scenarios were drawn up of undesired or adverse environmental impacts that could impair the protection targets formulated and set down in the law. These scenarios were then used to derive the indicators and survey methods (monitoring protocols), that might be used for early recognition of possible harmful impacts, including an estimate of cost.

The second project of this Research priority, Environmental monitoring of commercial Bt-maize crops – Approaches to detecting potential effects on butterflies and beneficial organisms, investigated how environmental monitoring should be designed to detect changes in biodiversity or number of individuals in butterfly populations, or in the biodiversity of beneficial organisms. Behind this investigation lay concerns that the

Research priority:
Early detection of unexpected and
long-term environmental impacts

insecticide protein in Bt-maize might be toxic not just to corn borer larvae, but to butterflies and beneficial organisms as well. When designing environmental monitoring for butterflies it was shown that butterfly populations and their biodiversity display a natural spatial and temporal variability. Only in exceptional cases can this variability be attributed to particular agricultural practices or climatic factors. In most cases, the reasons for the fluctuations are unknown, or they are known to result from the sum of different factors. Any possible impact of GMPs on biodiversity could therefore be proved definitively only with great effort, and only if the changes are relatively large (over 30%). Although a statistical correlation between cultivation of GMPs and changes in biodiversity would then have been demonstrated, a causal relationship would not have been proven. In view of the major effort required and the modest scientific value of the data obtained from the environmental monitoring of butterflies, the authors therefore conclude that risk assessment should be prioritised over environmental monitoring of cultivation. Should significant scientific uncertainty still remain after this extended study has been completed, a case-related monitoring might be indicated in order to test a plausible hypothesis (according to the EU legislation).

The second part of this project focused on the issue of suitable monitoring of beneficial organisms. The available results of the risk assessment (before marketing) do not provide a grounding for the hypothesis of the influence of Bt-maize on beneficial organisms that is scientifically sound enough to justify case-specific monitoring. As an alternative, the authors therefore propose monitoring the beneficial organism's ecological functions, i.e. natural pest control, as part of general surveillance (according to the EU legislation). These observations would be carried out by the farmers cultivating the GM maize and by plant protection services. Such surveillance methods are already being employed in the EU.

Research priority 2 was devoted to analysing ethical issues of risk assessment. This research priority concentrated on making comprehensive overall risk assessments of GMOs that supplemented the perspective of the natural sciences.

Research priority:
Analysis of ethical issues in risk
assessment in biotechnology

The project was divided into two subprojects. The first, *Ethical risk assessment*, defined terms and drew up criteria to be used when making decisions in connection with ethical risk assessment. Independently of biotechnological issues, the study considered which risks are acceptable and which not, identifying the concept of threshold value as the single applicable criterion for decision-making when dealing with risk. An anticipated value is determined, based on the probability of damage and the anticipated extent of the damage. Only if this anticipated value lies below the threshold may a risk be taken.

The other subproject, *Significance of the damage definition for the risk assessment of GMOs*, investigated the role played by the definition of damage itself in risk assessment. It has been determined that the assessment of risk is based on two estimates: that of the value of the natural resource and that of the desired state. Damage occurs if a defined degree of deviation from the desired state of the natural resources to be protected is reached or exceeded. Here, in order to derive the criteria for risk assessment, the risks considered in three case studies were entered in a risk matrix. When both the

extent of the damage and the probability that it will occur can be estimated empirically, the risk can be presented quantitatively

The application of the criteria developed in the two subprojects proved to be difficult, particularly to cases taken from plant gene technology. The reason for this is that knowledge of both the extent of the damage and the probability that it will occur are needed for ethical risk assessment.

Research priority 3 focused on the risks to the soil ecosystem.

Two research projects focused on this research priority. The first project, *Burden on the soil ecosystem of natural and genetically modified organisms – effects, methods and definition of damage as a contribution to risk assessment*, defined possible effects of biological pollution on the soil, collated methods for recording these effects and criteria for assessing the suitability of these methods, developed a procedure for selecting effect-related methods for the risk assessment of these organisms, and defined under which conditions a change represented damage to the soil. The project is subdivided into four modules. Module 1 contains the theoretical aspects, including work based on the evaluation of international strategies for determining soil quality, and an overview of the literature on GMOs and introduced organisms. Modules 2 and 3 put into practice the procedure drawn up for selecting effect-related methods, both in a model experiment in the greenhouse and in a field trial. The model experiment employed *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0, and the field trial the bacterial product “Effective microorganisms”. Module 4 contains the synthesis of modules 1 to 3.

The procedure developed in module 1 has proved to be suitable for recording possible effects of biological pollution on the soil ecosystem. Based on the criteria given by the definition of damage, neither experiment has been able to determine any changes in soil properties or functions indicating damage to the soil.

The second project, *Degradability of Bt-maize in the soil and impacts on earthworms and other soil macroorganisms*, investigated the degradation in the field of plant residue of various transgenic maize varieties containing the insecticide *Bt* protein and non-transgenic varieties. Differences in the speed of degradation were found only between different varieties, irrespective of their genetic modification. In the laboratory, the effect of the *Bt* toxin on various soil organisms such as earthworms, snails and fly larvae was investigated further. The organisms selected were followed for up to four generations, to determine longer-term effects and effects on fertility. Under the conditions investigated, no difference between genetically modified and conventional maize varieties could be detected. The study therefore concludes that there is no increased ecological risk to the soil from these transgenic maize varieties. By investigating soil organisms this second project forms a bridge to the fourth research priority, which studies possible impacts on non-target organisms.

Research priority:
Risks to the soil ecosystem

With a total of three projects, *Research priority 4* studied possible impacts of GMPs on non-target organisms. These projects investigated the influence of different genetically modified plants on organisms for which few or no studies are yet available in this connection.

Research priority:
Risks for non-target organisms

The first project, *Impacts of transgenic plants on solitary bees*, studied wild bees. The effect of insect-resistant plants on honey bees has been investigated many times, but not the effect on wild bees, although these are indispensable for the fertilisation of countless flowering plants, including many crops. Bee larvae were fed with pollen mixed with three different proteins (OC-1, Cry1Ab and GNA). The influence of the transgenic plants was tested on the adult animals. Finally, the study considered whether honeydew from GMPs could represent a possible source of pollution for the animals that occasionally feed on it.

This study concludes that adverse effects of the transgenic plants on the stocks of wild bees tested can be practically excluded. The test procedures developed in this project can be applied to novel transgenic insect-resistant plants in the future.

The second project, *Impacts of transgenes that confer increased resistance to pathogens on the interactions of rice with symbiotic fungi*, considered the important question of whether resistance to pathogenic fungi can also hinder the interaction with symbiotic underground mycorrhiza. In the example selected, no difference between the genetically modified rice plants and their corresponding non-transgenic controls was detected. It was found that resistance to blast disease pathogen, inserted by gene technology, is ineffective in the plant roots: the roots of blast disease-resistant rice can be colonised by mycorrhiza, just like the controls. Thus the resistance mechanism of the specific genetically modified rice variety is no barrier to colonisation with the beneficial mycorrhiza fungi. The question of whether active resistance to pathogenic fungi in roots can also influence interaction with beneficial mycorrhiza remains open, and will therefore be integrated into the corresponding risk assessment.

A third project, *Influence of transgenesis on plant-insect relationships in the apple system, particularly on semiochemical interactions*, investigated the influence of scab resistance on the apple tentiform leafminer and on ichneumon wasps, which are attracted to the apple leaves by specific scents. In the cultivar "Florina", resistance to the scab-causing fungus is given by the *HcrVf2* gene. This was inserted into the cultivar "Gala" using transgenesis. Four varieties of apple were compared: the classic cultivars "Florina" and "Gala", and the transgenic "Gala" varieties with and without *HcrVf2*. In this case, too, the detection method developed proved to be sensitive and applicable to further investigations. In the case studies, differences between the cultivars could be determined, but showed no dependency on genetic modification.

The results of this research programme were presented to the public and discussed in a workshop on 17 June 2008.

> Einleitung

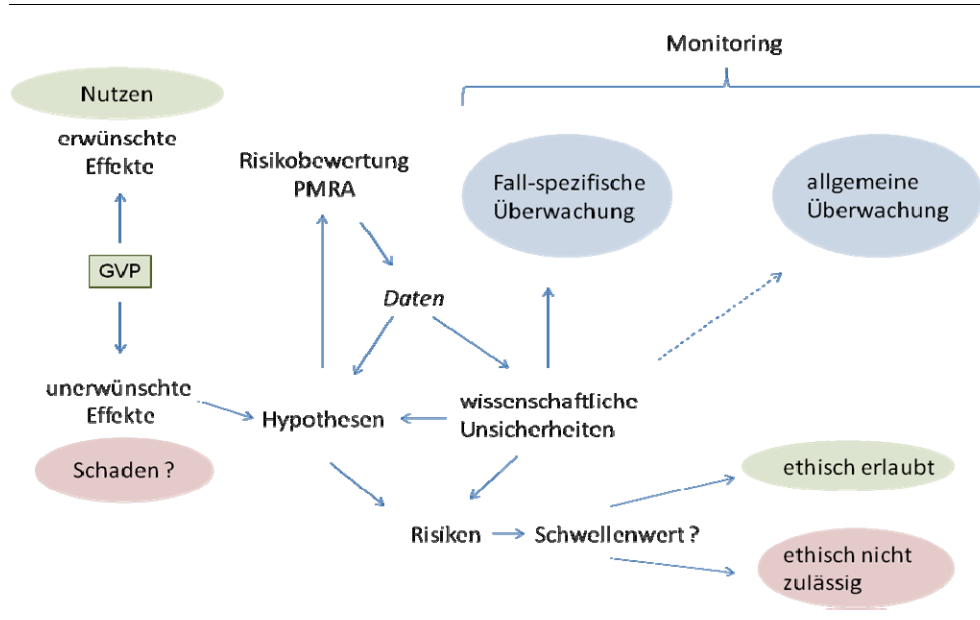
Ziel des Forschungsprogramms war es, den Stand der Erkenntnisse zur Biosicherheit von gentechnisch veränderten Pflanzen zu erweitern und somit den Vollzug der gesetzlichen Vorgaben zu erleichtern. Die gesetzliche Vorlage sieht bei kommerziellem Anbau von gentechnisch veränderten Pflanzen eine Langzeitüberwachung vor. Wie diese Überwachung angegangen werden muss, war ebenfalls ein zentrales Thema dieser Studie.

Für den behördlichen Entscheidungsprozess über eine kommerzielle Anbauerlaubnis, müssen für eine gentechnisch veränderte Pflanze die Grundlagen in zahlreichen, von einander abhängigen Schritten geschaffen werden.

Im Folgenden werden diese Schritte erläutert und anhand einer Skizze (Abb. 1) veranschaulicht. Die einzelnen Projekte dieser Studie werden in diesem Schema eingeordnet und unter dem Gesichtspunkt ihres Beitrages zum Auftrag beleuchtet und diskutiert.

Abb. 1 > Schaffung der Grundlagen für den behördlichen Entscheidungsprozess

Siehe Text für Details



Eine genetisch veränderte Pflanze (GVP) wird mit der Absicht entwickelt, dass sie einen Nutzen bringt. Dieser Nutzen ist der erwünschte Effekt bzw. der erwünschte Effekt ist der Nutzen. Der kommerzielle Anbau dieser GVP ist eventuell mit unerwünschten Wirkungen verbunden, welche gegebenenfalls einen Schaden darstellen. Die Projekte «Methodische Grundlagen der Langzeitüberwachung von GVO: Schutzziele – Indikatoren – Erhebungsmethoden» (Projekt 1.1), «Bedeutung des Schadensbegriffes für die Risikobewertung von GVO» (Projekt 2.2) und «Belastungen des Ökosystems Boden durch natürliche sowie gentechnisch veränderte Organismen – Effekte, Methoden und Schadensdefinition als Beitrag zur Risikobeurteilung» (Projekt 3.1) beschreiben wie ein Schaden definiert werden kann.

Schadensbegriff

Um festzustellen, ob die unerwünschten Wirkungen einen Schaden (eine Gefahr) darstellen, müssen Hypothesen formuliert werden. Formulierten Hypothesen können experimentell im Rahmen der Risikobewertung vor der Vermarktung getestet werden. Die Experimente der Risikobewertung liefern eine Reihe von Daten, welche zu neuen Hypothesen führen oder wissenschaftliche Unsicherheiten hinterlassen.

Hypothesen

Die Hypothesen und die gesammelten Daten lassen ein Risiko abschätzen, das mit einem Schadensausmass und der (geschätzten) Eintrittswahrscheinlichkeit dieses Schadens definiert ist.

Die Natur eines Nutzens sowie deren Nutzniesser sind für die wissenschaftliche Betrachtung nicht von Bedeutung. Ein Nutzen-/Schaden-Vergleich liefert weder Hypothesen noch Ansätze für eine Risikobewertung. Die ethische Betrachtung (Projekt «Ethische Risikobewertung»; Projekt 2.1) schliesst auch eine Nutzen-Schaden Analyse als Kriterium des Entscheidungsprozesses aus.

Nutzen vs. Schaden

Das Projekt «Umweltmonitoring während des kommerziellen Anbaus von *Bt*-Mais – Ansätze um mögliche Auswirkungen auf Tagfalter und Nützlinge zu erfassen» (Projekt 1.2) betont unter anderem die absolute Notwendigkeit formulierter Hypothesen, um mit den Mitteln der Risikobewertung Daten über mögliche negative Effekte zu sammeln. Verbleibende wissenschaftliche Unsicherheiten müssten aus wissenschaftlicher Sicht und gemäss gesetzlichen Vorgaben in der EU über fallspezifische Überwachung verfolgt werden. Die Projekte 1.1 und 3.1 beschreiben die Methoden, die angewandt werden müssten, um ein solches Monitoring durchzuführen.

Die Projekte des vierten Kapitels, Effekte auf Nichtzielorganismen, zusammen mit den Arbeitshypothesen der Projekte 1.2, 3.2 und die Gedanken, welche den Projekten 2.2 und 3.2 («Abbaubarkeit von *Bt*-Mais im Boden und Auswirkungen auf Regenwürmer und andere Bodenmakroorganismen») zugrundeliegen, decken wissenschaftliche Aspekte ab, welche bislang nicht zur Genüge untersucht wurden. Von Natur aus gehören diese Untersuchungen zur Risikobewertung. Die Projekte «Die Wirkung erhöhter Resistenz gegen Krankheitserreger auf die Interaktion mit symbiotischen Pilzen im Reis» (Projekt 4.2) und «Einfluss der Transgenosis auf die Pflanzen-Insekten-Beziehungen im Apfel-System, insbesondere auf chemisch vermittelte Wechselwirkungen» (Projekt 4.3) behandeln Pflanzen, bei denen die Risikobewertung durch einen vermeintlichen zukünftigen Gesuchsteller noch nicht abgeschlossen bzw. nicht begonnen

keine negativen Effekte für Nichtzielorganismen oder Boden erkennbar

wurden. Trotzdem tragen all diese Studien wesentlich zu der Beantwortung offener Fragen bei. Mit den untersuchten Beispielen und den experimentellen Ansätzen konnten in dieser Studie keine wissenschaftlich begründeten negativen Effekte oder Risiken aufgedeckt werden. In all diesen Fällen wurden aufgrund der Eigenschaften der gentechnisch veränderten Pflanzen und des Umfeldes im Falle eines kommerziellen Anbaus Arbeitshypothesen aufgestellt. Diese Hypothesen wurden hernach experimentell getestet.

Aus der ethischen Betrachtung lässt sich kein Schwellenwert ermitteln, weil sowohl die Natur des Schadens (und somit dessen Ausmass), als folglich auch dessen Eintrittswahrscheinlichkeit unbekannt sind. Im Schema (Abb. 1) kann ein nichtformuliertes Risiko auch nicht eingetragen werden.

allgemeines Risiko durch GVO?

1 > Die Früherkennung von unerwarteten und langfristigen Umweltauswirkungen von GVO

1.1 Methodische Grundlagen der Langzeitüberwachung von GVO: Schutzziele – Indikatoren – Erhebungsmethoden

Matthias Meier
Daniel Ammann
Christoph Bühler
Angelika Hilbeck

Mit der Freisetzung von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) in die Umwelt – insbesondere dem Anbau von gentechnisch veränderten Pflanzen (GVP) – werden diese Teil des betreffenden Ökosystems. Innerhalb dessen treten GVP in vielfältige Wechselwirkungen mit ihrer Umwelt und können so ökologische Prozesse beeinflussen und verändern. Aufgrund der Komplexität der Wechselwirkungen zwischen einer GVP und ihrer Umwelt ist die Bandbreite der möglichen Konsequenzen ihres Anbaus gross und reicht von Effekten auf Bodenprozesse, Nahrungsketten, Fitness von Arten, Bestäubungsprozesse, usw. bis hin zu agronomischen Effekten (z. B. veränderte Krankheitsanfälligkeit).

Die Risikoabklärung, die für die Zulassung einer GVP durchgeführt werden muss, soll verhindern, dass schädliche GVP auf den Markt gelangen. Dabei beschränkt sich die Risikoabklärung bezüglich Umwelteffekte vor allem auf die Abklärung von bekannten und erwarteten Gefahren, die vom betreffenden Transgen ausgehen. In den Tests, die heute im Rahmen der Umweltprüfung für die Zulassung durchgeführt werden, können darüber hinaus in der Regel lediglich akute, gravierende Effekte aufgedeckt werden. Die Effekte einer GVP, die aufgrund ihrer Wechselwirkungen mit ihrer Umwelt zu Stande kommen, könnten aber schleichend verlaufen und sich erst nach einer längeren Zeit manifestieren. Um solche in der Regel unerwarteten und langfristigen Effekte frühzeitig erkennen und bewerten zu können, sieht die Gesetzgebung während des Anbaus einer GVP deren Langzeitüberwachung – auch Monitoring genannt – vor.

Damit die gesetzlich vorgegebenen Zielsetzungen des GVO-Monitorings in der Schweiz erfüllt werden können, müssen für die Entwicklung eines Monitoringkonzeptes Fragen zu den Bewertungsmaßstäben, den zu erhebenden Messgrößen (Indikatoren) sowie zum Erhebungsdesign und zu den Messmethoden geklärt werden. Die Umsetzung eines erfolgreichen GVO-Monitorings erfordert deshalb eine sorgfältige Abstimmung von rechtlich verankerten Schutzzielen, Indikatoren und Erhebungsmethoden.

Monitoring

Innerhalb dieses Projektes wurde ein Prozessverfahren entwickelt, mit dessen Hilfe ausgehend von gesetzlich vorgegebenen Schutzgütern und -zielen geeignete Indikatoren identifiziert werden können. Für diese wurden Varianten eines Erhebungsdesigns

entwickelt, die sich für verschiedene Anbausituationen von GVP eignen. Der Gesamtprozess von der Identifikation von Indikatoren bis hin zur Entwicklung eines Erhebungsdesigns mit geeigneten Erhebungsmethoden wurde exemplarisch für das Schutzgut Biodiversität veranschaulicht. Modellhaft wurde dabei vom Anbau der beiden GVP *Phytophthora*-resistente Kartoffel und Herbizid-/*Diabrotica*-resistenter *Bt*-Mais ausgegangen.

1.1.1 Schutzziele

Aufgrund ihrer Umweltwirkungen können GVO negative Effekte auf Schutzgüter für die Umwelt haben und damit vorgegebene Schutzziele verletzen. Schutzziele für die Umwelt sind Bestrebungen zur nachhaltigen Nutzung beziehungsweise der Erhaltung oder Wiederherstellung von Umweltelementen (Luft, Wasser, Boden, Landschaft, Flora, Fauna etc.). Für den Umgang mit GVO in der Umwelt sind zahlreiche Schutzgüter und dazugehörige Schutzziele auf Verfassungs-, Gesetzes- und Verordnungsebene festgeschrieben.

Schutzziele

Bis anhin wurden Schutzzielnormen aus dem geltenden Recht im Zusammenhang mit dem GVO-Monitoring nur zerstreut und exemplarisch erwähnt. Vorschläge zu möglichen Schutzzieldefinitionen, die daraus abgeleitet wurden, erfolgten ohne konsequente Ausführung des Bezugs zur rechtlichen Norm. Deshalb wurden in diesem Projekt die in den aktuellen Rechtserlassen aufgeführten Schutzgüter bzw. Schutzziele bezüglich ihrer Relevanz für die Früherkennung von unerwarteten und langfristigen Umweltauswirkungen von GVO erfasst und bezüglich ihrer Anwendbarkeit diskutiert.

Die Analyse von über 30 Schweizerischen Rechtserlassen (Bundesverfassung, Gesetze und Verordnungen sowie weitere rechtsassoziierte Richtlinien) führte zu einer streng systematischen und auf das geltende Recht abgestützten Auslegeordnung von Schutznormen. Die als relevant erkannten Normen wurden verschiedenen Schutzgütern zugeteilt. Dabei wurde der gesetzliche Originalwortlaut bezüglich Schutzobjekt, Schutzanspruch und Schutzmass in der Kernaussage der jeweiligen Schutznorm beibehalten. Ausgehend von dieser Auslegeordnung erfolgte eine Auswahl von 13 Schutzgütern und 13 dazugehörigen, qualitativ und teilweise quantitativ konkretisierten Schutzzielen, die im Zusammenhang mit Umweltwirkungen von GVO von Bedeutung sind. Aus der Liste der 13 Schutzgüter wurden jene Schutzgüter selektioniert, die sich quantifizieren lassen, woraus eine engere Auswahl von 6 besonders relevanten Schutzgütern resultierte (Tab. 1). Diese engere Auswahl diente als Ausgangspunkt für die Identifikation geeigneter Indikatoren für ein GVO-Monitoring. Damit war gewährleistet, dass der Wahl von Indikatoren eine rechtsorientierte, schutzzielgeleitete Grundlage als Ausgangspunkt zur Verfügung stand.

Tab. 1 > Die in Projektteil «Schutzziele» engere Auswahl der Schutzgüter

Gesetzliche Grundlage Stand Herbst 2004

Schutzgut	Schutzziel: Qualitative Ausprägung	Schutzziel: Quantifizierung
Lebensraum	Schutz vor und Begrenzung von schädlichen und lästigen Einwirkungen	beeinträchtigte Fläche von 4 ha = mittlere Schädlichkeit
Empfindliche Lebensräume	Bezeichnung der besonders schützenswerten Lebensräume (Gebiete unter Naturschutz, oberirdische Gewässer, 3 Meter breiter Streifen entlang oberirdischer Gewässer, unterirdische Gewässer, Grundwasserschutzzonen, Wald)	Nulltoleranz
Boden	Dauerhafter Erhalt der Bodenfruchtbarkeit und Schutz vor Beeinträchtigung	ab 50 m ² reduzierter Bodenfruchtbarkeit = leichte Schädlichkeit, ab 1 Hektar reduzierter Bodenfruchtbarkeit = mittlere Schädlichkeit
Biodiversität	Schutz der biologischen Vielfalt	ab 1 verdrängten, verschwundenen, ausgestorbenen Art = mittlere Schädigung, 5 verdrängte, verschwundene, ausgestorbene Arten = katastrophale Schädigung, 2 dezimierte Populationen = mittlere Schädlichkeit
Tiere	Schutz vor schädlichen und lästigen Einwirkungen	1 erkranktes, verletztes oder deformiertes Tier = leichte Schädlichkeit, ab einer Anzahl von 740 toten bzw. 24 erkrankten, verletzten oder deformierten Tiere = mittlere Schädlichkeit
Biolandbau	Verzicht auf gentechnisch veränderte Organismen	Nulltoleranz

1.1.2 Indikatoren

Nachdem die Schutzgüter und -ziele (Tab. 1) identifiziert und definiert worden sind, kommt der Auswahl der Indikatoren eine zentrale Stellung bei der Konzeption eines sensitiven GVO-Monitorings zu. Über die Indikatoren muss einerseits mit einer begrenzten aber hinreichenden Anzahl geeigneter Messgrößen eine Beurteilung des Zustands eines Schutzgutes vorgenommen werden können, der in der Regel nicht direkt messbar ist. Die Messung des Zustands eines Schutzgutes muss Rückschlüsse über langfristige und unerwartete Effekte von GVO erlauben. Andererseits müssen negative Einwirkungen auf die Umwelt durch GVO bereits im Anfangsstadium erfasst werden können.

Indikatoren

Negative Effekte von GVO lassen sich insbesondere dann frühzeitig entdecken, wenn die Wirkungskette, die zum Schaden geführt hat, bekannt ist. Die Indikatoren für das Monitoring sind dann so zu wählen, dass sie die ersten Stufen innerhalb der kausalen Wirkungskette abbilden. Je genauer der kausale Zusammenhang innerhalb einer Wirkungskette bekannt ist, desto präziser kann ein entsprechender Indikator ausgewählt werden. Kausale Wirkungsketten lassen sich mit Hilfe von Techniken der Risikoanalyse wie der Event-Tree- und Fault-Tree-Analyse herleiten.

Ausgehend vom Anbau der beiden Modell-GVP *Phytophthora*-resistente Kartoffel und herbizidresistenter/*Diabrotica*-resistenter *Bt*-Mais wurde zuerst für das Schutzgut Biodiversität aufgezeigt, wie geeignete Indikatoren identifiziert werden können. Dazu leiteten wir mit Hilfe der Event-Tree-Analyse verschiedene kausale Wirkungsketten her, über die das Schutzgut Biodiversität beim Anbau der beiden Modell-GVP negativ betroffen sein könnte. Aus diesen Wirkungsketten konnten verschiedene potenzielle

faunistische und floristische Indikatoren abgeleitet werden, welche in Tabelle 2 zusammengefasst sind.

Für die restlichen Schutzgüter in Tabelle 1 gingen wir von möglichen Schäden innerhalb dieser Schutzgüter aus und analysierten mit Hilfe der Fault-Tree-Analyse, welche Ereignisse zusammenwirken müssen, damit der Schaden eintritt. Daraus leiteten wir mögliche Indikatoren ab und filterten jene Indikatoren heraus, die mehrere Schutzziele abdecken können (Tab. 3).

Tab. 2 > Für das Schutzgut «Biodiversität» identifizierte Indikatoren

fettgedruckte Indikatoren wurden im Teil «Erhebungsmethoden» weiterverfolgt

Identifizierte Indikatoren	Vermutete Reaktion auf GVP-Anbau
Modell-GVP Herbizid-resistenter <i>Bt</i> -Mais: <ul style="list-style-type: none"> • Ackerbegleitflora • Blatt- und Rüsselkäfer in Ackerbiotopen • Laufkäfer in Ackerbiotopen • Schmetterlinge in Ackerbiotopen • epigäische und endogäische Arthropoden und Anneliden in Ackerbiotopen • Kurzflügler in Ackerbiotopen • Modell-GVP <i>Phytophthora</i>-resistente Kartoffel: • <i>Solanum nigrum</i> (Schwarzer Nachtschatten) • mit alternativen <i>Phytophthora</i>-Wirten assoziierte Insekten 	<ul style="list-style-type: none"> • Veränderung des Artenspektrums und der Abundanz infolge des mit der GVP gekoppelten Herbizideinsatzes • Veränderung des Artenspektrums aufgrund der Veränderungen bei der Ackerbegleitflora (Wirtspflanzen) • Toxische Wirkung von abgelagerten <i>Bt</i>-Pollen, der über die Nahrung aufgenommen wird • Toxische Wirkung von <i>Bt</i>-Toxin in der Beute (Nahrungsketteneffekte) • Toxische Wirkung von abgelagerten <i>Bt</i>-Pollen, der über die Nahrung aufgenommen wird • Toxische Wirkung von aufgenommenem <i>Bt</i>-Pflanzenmaterial und Nahrungsketteneffekte • Nahrungsketteneffekte • Reduzierte Fitness aufgrund eines stärkeren Befalls durch <i>Phytophthora infestans</i> • Veränderung des Artenspektrums und der Abundanz infolge Veränderung des Wirtspflanzenspektrums

Tab. 3 > Mögliche Indikatoren für weitere Schutzgüter

Schutzgüter	Indikatoren
«Biodiversität», «Tiere», «Lebensraum», «empfindliche Lebensräume» und «Biolandbau»	• Nichtzielorganismen innerhalb der assoziierten Insektenfauna («Biolandbau»: insbesondere «Nützlinge»)
«Lebensraum», «empfindliche Lebensräume» und «Biolandbau»	• Präsenz/Absenz von GVP, transgenen Hybriden zwischen verwandten Arten und/oder Transgenprodukten
«Boden»	• mikrobielle Diversität

1.1.3 Erhebungsmethoden

Das Erhebungsdesign ist entscheidend für die Leistungsfähigkeit des Monitorings, weil es die Möglichkeiten für die Datenauswertung und Aussagen bestimmt. Ein geeignetes Erhebungsdesign muss GVO-induzierte Veränderungen möglichst frühzeitig und kosteneffizient erkennen. Weiter muss es flexibel auf sich verändernde Anbaudichten von GVP reagieren können und auch bei hoher Dynamik der Lebensräume im Ackerbaugebiet funktionieren.

In dieser Studie wurden zwei sich ergänzende Varianten eines Erhebungsdesigns weiterentwickelt, deren wichtigsten Eigenschaften in Tabelle 4 zusammengefasst sind. Die beiden Varianten sind ohne Verlust von Stichprobeflächen miteinander kombinierbar, womit die geforderte Flexibilität bezüglich wechselnder Anbaudichte und -muster von GVP gewährleistet ist.

Tab. 4 > Vergleich der beiden ausgearbeiteten Varianten für ein Erhebungsdesign

Eigenschaft	Variante «gepaarte km-Quadrate»	Variante «einfache km-Quadrate»
Skalen für Messungen	Parzelle und Quadratkilometer	Parzelle und Quadratkilometer
Anordnung der Stichprobeflächen	km-Quadrate immer paarweise, d. h. 2 benachbarte Flächen mit und ohne GVP	km-Quadrate einzeln, mit unterschiedlicher Dichte von GVP-Anbau
Grundprinzip bei Analyse	Simultanvergleich und Zeitreihe	Zeitreihe
Erhebungsrhythmus Gesamtstichprobe	Gestaffelt über 5 Jahre	Gestaffelt über 5 Jahre
Dauer bis zu ersten Aussagen	5 Jahre	10 Jahre
Umsetzbarkeit	anspruchsvoll	wenig anspruchsvoll

Beispielhaft wurden für die in Tabelle 2 fett gedruckten Indikatoren (wobei *Solanum nigrum* in der Ackerbegleitflora integriert ist) Erhebungsmethoden inklusive der zu erhebenden Stichprobengrößen bestimmt. Dazu wurden in einem ersten Schritt eine oder mehrere Messgrößen definiert (Tab. 5) und eine ökologisch relevante Veränderung ihres Ausgangszustandes innert 10 Jahren als Schwellenwert festgelegt (10 % für Veränderungen des Artenreichtums, 30 % für Veränderungen der Abundanz). In einem zweiten Schritt wurden mittels bestehender Datensätze aus der Schweiz und dem Ausland Schätzwerte für die erwartete Streuung der Messwerte in der Stichprobe bestimmt. Auf der Basis dieser Streuungen ermittelte eine Computersimulation fiktive Felddaten und berechnete die erforderliche Anzahl an Messflächen für den statistischen Nachweis von Veränderungen. Aus dem Stichprobenumfang (N) liessen sich danach die Kosten für die Erhebungen pro Indikator errechnen (Tab. 5).

Tab. 5 > Zusammenfassung der Machbarkeitsstudien für drei Beispiel-Indikatoren für ein GVP-Monitoring

	Ackerbegleitflora	Rüssel- & Blattkäfer	Laufkäfer
Messgrösse 1	Artenreichtum: Anzahl Arten pro Acker	Artenreichtum: Anzahl Arten pro Acker	Artenreichtum: Anzahl Arten pro Acker
Messgrösse 2	Fitness: Mittlere Biomasse pro Ind. und Acker	Abundanz: Summe aller Individuen pro Acker	Abundanz: Summe aller Individuen pro Acker
Methoden	50 m-Transekt am Ackerrand, vollständige Artenliste. Ernten von 5 blühenden Pflanzen pro Transekt	Kescherfang, zwei 40 m-Transekte am Ackerrand, Bestimmen und Auszählen im Labor	5 Bodenfallen pro Acker, >10 m im Feldinnern gelegen, Bestimmen und Auszählen im Labor
Anzahl beprobter Äcker, <i>N</i>	400 (Artenreichtum) 100–400* (Fitness)	1000 (Artenreichtum) 400 (Abundanz)	200 (Artenreichtum) 120 (Abundanz)
<i>N</i> für Schätzung der Kosten	400	400	200
CHF / Acker	500.–	1 200.–	5 700.–
CHF / Jahr (ca.), inkl. Koordination	50 000.–	110 000.–	250 000.–

* abhängig von der untersuchten Pflanzenart.

N ist die Gesamtzahl notwendiger Probe-Äcker für den schlüssigen Vergleich zwischen GVP-Anbau und herkömmlichem Anbau (Statistische Macht von 80 %, Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %).

Die *N* Äcker werden gestaffelt innerhalb von 5 Jahren erhoben. Alle Kosten sind reine Erhebungskosten für die Routinephase (exklusive Mehrwertsteuer).

Für die Einführung eines GVO-Monitorings empfehlen wir ein Vorgehen, das sich in drei Phasen gliedert:

Empfehlung: Aufbau des Monitorings in drei Phasen

- 1. Startphase** (in der Schweiz sind einzelne Parzellen mit GVP angebaut):
Die vorgeschlagenen Designvarianten sind in dieser Situation noch nicht anwendbar. Es erfolgen intensivierete Erhebungen pro GVP-Parzelle mit einem reduzierten Set an Indikatoren. Für eine ausreichende Aussageschärfe braucht es in dieser Anbauphase rund 15 bis 20 GVP-Äcker.
- 2. Etablierungsphase** (GVP-Anbau ist verbreitet, aber lokal noch selten):
Die Designvariante «gepaarte km-Quadrate» wird angewendet. Sie produziert in relativ kurzer Zeit eine sehr gute Datengrundlage für vielfältige Vergleiche zwischen den Anbauformen mit und ohne GVP.
- 3. Routinephase** (GVP sind eine gängige und lokal häufige Anbauvariante):
Die Designvariante «gepaarte km-Quadrate» ist allmählich nicht mehr anwendbar und wird nahtlos in die Variante 2 «einfache km-Quadrate» überführt. Die Datenauswertung erfolgt im 5-Jahres Rhythmus auf der Basis von Zeitreihen.

1.2 Umweltmonitoring während des kommerziellen Anbaus von *Bt*-Mais

Ansätze um mögliche Auswirkungen auf Tagfalter und Nützlinge zu erfassen

Die schweizerische Gesetzgebung, wie auch diejenige der Europäischen Union (EU), verlangt, dass die potentiellen Risiken einer absichtlichen Freisetzung gentechnisch veränderter Pflanzen im Vorfeld und von Fall zu Fall untersucht werden. Die Zulassung einer speziellen gentechnisch veränderten Pflanze (GVP) ist abhängig von den Resultaten der Risikobewertung. Eine Anbaubewilligung wird nur dann erteilt, wenn die Risikobewertung zeigt, dass die Wahrscheinlichkeit für eine unerwünschte Umweltbelastung durch die GVP so gering ist, dass eine Freisetzung zu verantworten ist. Desweiteren muss der Gesuchsteller (in der Regel die Firma, welche das transgene Saatgut vermarktet), für jede GVP einen Überwachungsplan zum anbaubegleitenden Monitoring vorlegen. Dieser soll gewährleisten, dass allfällige negative Umweltveränderungen, die auf den Anbau der GVP zurückgeführt werden könnten, frühzeitig erkannt werden. Die einzigen transgenen Pflanzen, die zurzeit in der EU kommerziell angebaut werden, sind Maissorten die das bakterielle insektizide Protein Cry1b von *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) exprimieren. Diese Maissorten sind gegenüber Maiszünslerlarven resistent. Mit dem kommerziellen Anbau von insektenresistentem *Bt*-Mais stellt sich die Frage nach möglichen negativen Effekten auf Nichtzielorganismen. In Europa fehlt bislang ein Konsens zwischen den Gesetzgebern, den Forschern und der Agrarindustrie zu einem einheitlichen anbaubegleitenden Monitoringprotokoll.

Im vorliegenden Projekt des Schwerpunktes Früherkennung unerwarteter Effekte wird ein anbaubegleitendes Monitoring für zwei Gruppen von Organismen, Tagfalter und Nützlinge, untersucht. Die Hypothese, wonach *Bt*-Mais Nichtziel-Tagfalter beeinträchtigen könnte, wenn deren Larven sich von *Bt*-Mais Pollen ernähren, wurde schon lange aufgestellt und mehrfach untersucht und es sind viele Daten dazu publiziert. Eine weitere Fragestellung ist der mögliche Einfluss von *Bt*-Mais auf Nützlinge, welche als Räuberoder Parasitoide eine wichtige Kontrollfunktion auf die Herbivoren ausüben.

Ziel dieses Projektes war die Entwicklung von anbaubegleitenden Monitoring-Plänen für Cry1Ab exprimierende *Bt*-Maissorten, um mögliche negative Effekte auf Tagfalter und Nützlinge frühzeitig aufzudecken. Basierend auf den Vorgaben der Gesetzgebung in der EU wurde das anbaubegleitende Monitoring unterteilt in fallspezifische und allgemeine Überwachung. Während sich die fallspezifische Überwachung schwerpunktmässig mit denjenigen schädlichen Auswirkungen befasst, welche in der Risikobewertung ermittelt wurden, hat die allgemeine Überwachung die Aufgabe, unerwartete schädliche Auswirkungen zu ermitteln.

1.2.1 Monitoring möglicher Auswirkungen des kommerziellen Anbaus von *Bt*-Mais auf Tagfalter in der Schweiz

Es gibt zur Zeit kaum praktische Erfahrung mit der Implementierung von anbaubegleitenden Überwachungsprogrammen zum Nachweis von Effekten von *Bt*-Mais auf

Oliver Sanvido
Stéphanie Aviron
Jörg Romeis
Franz Bigler

Tagfalterpopulationen. In dieser Studie wurde ein hierarchischer Ansatz angewandt, um die bestehende Variabilität der Biodiversität zu erfassen. Der Ansatz berücksichtigt sowohl die Ebene des Feldes, als auch der Landschaft und der Region. Aus einem umfangreichen bestehenden Datensatz über Tagfalter in der Schweiz wurde die Variabilität der Tagfalterpopulationen aufgrund des Lebensraumes, der landwirtschaftlichen Praxis, des Geländes, der regionalen Lage sowie zeitlicher und räumlicher Fluktuationen quantitativ ermittelt.

Die Analyse ergab, dass 15 der 24 getesteten Parameter, welche das landschaftliche und landwirtschaftliche Umfeld beschreiben, einen signifikanten Einfluss sowohl auf die Diversität der Tagfalter als auch auf die Individuenzahl der Tagfalterpopulationen haben. Somit gibt es zahlreiche Faktoren, welche die Tagfalterpopulationen auf verschiedenen zeitlichen und räumlichen Ebenen beeinflussen. Um der existierenden Variabilität Rechnung zu tragen, wäre daher ein geschichtetes Stichprobenverfahren unter Berücksichtigung von Lebensraum, Landschaft und landwirtschaftlichem Umfeld beim anbaubegleitenden Monitoring angebracht. Um gegebenenfalls einen kausalen Zusammenhang zwischen *Bt*-Mais und Tagfalterpopulationen etablieren zu können, ist die alleinige Erhebung von Diversität und Individuenzahl der Tagfalter jedoch unzureichend. Es ist entscheidend, zusätzliche erklärende Variablen (z. B. Anbausysteme, nicht-landwirtschaftlich genutzte Lebensräume, Landschaftsstruktur landwirtschaftliche Kulturen und Bewirtschaftung) zu erheben. Allerdings kann das anbaubegleitende Monitoring auch dann im besten Falle nur grössere Populationsveränderungen bei häufigen Tagfalterarten feststellen. Das Erkennen von kleinen Effekten wäre mit einem erheblichen Aufwand für die Probenahme verbunden. Die Studie zeigt, dass bei einer Erhebung von Tagfaltern an hundert Acker- bzw. Ackerrand-Paaren (Äcker, die jeweils mit und ohne *Bt*-Mais bepflanzt wären), lediglich eine Abnahme von mehr als 30 % des Artenreichtums oder der Individuenzahl der häufigsten und meistverbreiteten Tagfalterarten festgestellt werden könnte. Besonders seltene Arten (z. B. Spezialisten, die im Larvenstadium äusserst anspruchsvolle Nahrungsbedürfnisse haben und/oder als Adulte besondere Lebensräume benötigen) sind nicht in genügender Anzahl vorhanden, um zuverlässige Daten zu generieren. Seltene Arten, welche unter dem Gesichtspunkt des Naturschutzes besonders wertvoll sind, können daher kaum durch eine fallspezifische Überwachung anbaubegleitend erfasst werden. Nach Auffassung der Autoren kann die Frage, ob der kommerzielle Anbau von *Bt*-Mais einen Einfluss auf Tagfalter haben könnte, durch eine fallspezifische Überwachung kaum schlüssig geklärt werden. Deshalb wäre ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Anbau von *Bt*-Mais und Veränderungen der Tagfalter-Biodiversität aufgrund der inhärenten Variabilität bei Tagfalterpopulationen und der vielen beeinflussenden Umweltfaktoren schwierig nachzuweisen. Die Abklärung der Wirkung des Cry1Ab Proteins auf die verschiedenen Entwicklungsstadien ausgewählter Tagfalterarten während der Risikobewertung wäre ihrer Meinung nach sinnvoller und wissenschaftlich solider. Dadurch könnten die verbleibenden Unsicherheiten über mögliche Effekte des *Bt*-Mais Anbaus verringert werden. Hypothesen sollten unter denjenigen Bedingungen getestet werden, bei denen der mutmassliche Effekt am ehesten nachgewiesen werden kann. Statt mögliche Auswirkungen auf Tagfalterarten im Feld zu überwachen, könnten Effekte bereits im Rahmen der Risikobewertung vor Erteilung der Anbauerlaubnis effizienter ermittelt werden. Die Risikobewertung sollte eine Abschätzung der Wahrscheinlichkeit

der Aufnahme des Toxins durch Tagfalter sowie Untersuchungen der Toxizität auf einzelne (insbesondere seltene) Tagfalter-Arten im Labor und falls nötig im Gewächshaus beinhalten. In Ausnahmefällen kann in Feldversuchen untersucht werden, inwiefern Larven einzelner Arten *Bt*-Mais Pollen unter Feldbedingungen ausgesetzt sind, speziell wenn es gilt seltene, «wertvolle» Arten zu untersuchen, für die noch ungenügend Daten vorhanden sind.

Zusammenfassend haben die Analysen gezeigt, dass mit Hilfe eines Umweltmonitorings nur grosse (> 30 %) Populationsveränderungen bei häufigen Tagfalterarten gemessen werden können. Dies unter der Voraussetzung, dass eine Vielzahl von Landschafts- und Bewirtschaftungsparametern der Region miterfasst werden. Seltene, für den Naturschutz wertvolle Tagfalterarten, kommen in landwirtschaftlich genutzten Gebieten in der Regel in so geringer Zahl vor, dass eine wissenschaftliche Analyse der Daten kaum möglich ist.

1.2.2 Ansätze für das anbaubegleitende Monitoring möglicher Auswirkungen von *Bt*-Mais auf Nützlinge

Der zweite Teil des Projektes hatte zum Ziel, die Notwendigkeit eines anbaubegleitenden Monitorings möglicher Effekte von *Bt*-Mais auf Nützlinge zu beurteilen und ein geeignetes Monitoring-Protokoll zu entwickeln. Die Erkenntnis, dass Risikobewertung und anbaubegleitendes Monitoring zwei verschiedene Etappen der Entwicklung und Vermarktung einer GV Pflanze darstellen, muss hier besonders betont werden. Nach Auffassung der Autoren sollte eine fallspezifische Überwachung nur dann durchgeführt werden, wenn nach der Risikobewertung noch wissenschaftliche Unsicherheiten bestehen, die durch eine klar formulierte Risikohypothese untermauert wird. Die Autoren gehen davon aus, dass die fallspezifische Überwachung nicht dazu dienen kann, das Ausbleiben von unerwünschten Auswirkungen des kommerziellen Anbaus zu bestätigen. Vielmehr sind sie der Ansicht, dass die fallspezifische Überwachung ein Mittel des Risikomanagements ist, welches dazu dient, verbleibende Unsicherheiten, welche während der Risikobewertung nicht untersucht werden konnten, abzudecken.

Die heute zur Verfügung stehenden wissenschaftlichen Daten und Resultate der Risikobewertung zeigen, dass der Cry1Ab-exprimierende *Bt*-Mais ein vernachlässigbares Risiko für die natürliche Schädlingsbekämpfung durch Nützlinge darstellt. Da die Cry1Ab Proteine für Nützlinge nicht toxisch sind, kann keine begründete Hypothese einer potentiellen Wirkung von *Bt*-Mais auf die Artengruppe der Nützlinge aufgestellt werden. Die Autoren kommen zum Schluss, dass sich eine fallspezifische Überwachung von *Bt*-Mais auf Nützlinge daher nicht aufdrängt.

Als Alternative hierzu wird ein Ansatz vorgeschlagen, der die Funktion der natürlichen Schädlingsregulierung indirekt über eine allgemeine Überwachung der Populationsdichten von Herbivoren feststellen soll. Diese könnten als Frühwarnsystem für eine Beeinträchtigung der natürlichen Schädlingsbekämpfung durch Nützlinge dienen. Daten über Massenvermehrungen von Herbivoren könnten zum Beispiel durch die *Bt*-Mais anbauenden Landwirte und durch die Pflanzenschutzdienste mittels spezifischen

Die Beobachtung oekologischer Funktionen kann aussagekräftiger sein als das Monitoring einzelner Vertreter (Spezies)

Fragebögen gesammelt werden. Dieses Vorgehen ist bereits Praxis in den *Bt*-Mais anbauenden Staaten der EU. Würden unübliche Massenvermehrungen von Mais-Herbivoren in *Bt*-Mais Feldern beobachtet, müssten spezifische Untersuchungen kausaler Zusammenhänge durchgeführt werden. Der Vorteil des hier vorgeschlagenen Vorgehens ist die Möglichkeit, eine Vielzahl unterschiedlicher Gruppen von Nützlingen gleichzeitig zu erfassen. Dies ist eine wissenschaftlich stichhaltige Strategie, welche, basierend auf den theoretischen Prinzipien der funktionellen Ökologie, die biologischen Funktionen betrachtet und sich nicht auf die Analyse der Artenvielfalt und Individuenzahl beschränkt.

1.2.3 Herausforderungen und mögliche Lösungen für behördliche Entscheide im anbaubegleitenden Monitoring von gentechnisch veränderten Pflanzen

Werden im Rahmen eines anbaubegleitenden Monitorings Veränderungen in der Umwelt festgestellt, muss entschieden werden, ob diese Veränderungen einen Schaden darstellen. Nur dann können Abhilfemaßnahmen eingeleitet werden, oder Forderungen nach Entschädigung im Sinne der Umwelthaftung geltend gemacht werden. Bislang wurden keine anwendbaren Kriterien zur Bewertung von «Umweltschäden» gefunden.

Um dieses Problem zu umgehen, schlagen die Autoren vor, geeignete Indikatoren auszuwählen, mit denen Umweltveränderungen aufgezeigt werden können. Dies ist jedoch von Natur aus schwierig, da die meisten biologischen Indikatoren einer hohen Variabilität unterliegen. Hinzu kommt, dass manche Auswirkungen erst nach sehr langen Zeiträumen sichtbar werden und eine Vielzahl von Umweltfaktoren es verunmöglicht, einen Effekt eindeutig auf den Anbau einer spezifischen GVP-Sorte zurückzuführen. Grundsätzlich sollten Umwelteinflüsse von GVP mit den bekannten Auswirkungen der gegenwärtigen landwirtschaftlichen Praxis verglichen werden, damit Entscheidungen in einem vernünftigen Zeitrahmen möglich sind.

1.2.4 Publikationen

Aviron S., Sanvido O., Herzog F., Baudry J., Romeis J., Bigler F. 2006: Monitoring effects of GM crops on butterflies: the use of multiscale approaches for general surveillance. *Journal for Consumer Protection and Food Safety*, 1: (Supplement 1) 85–88.

Aviron S., Sanvido O., Romeis J., Herzog F., Bigler F. 2009: Case-specific monitoring of butterflies to determine potential effects of transgenic *Bt*-maize in Switzerland. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 131: 137–144.

Sanvido O., Aviron S., Romeis J., Bigler F. 2007: Challenges and perspectives in decision-making during post-market environmental monitoring of genetically modified crops. *Journal for Consumer Protection and Food Safety*, 2: (Supplement 1) 37–40.

Sanvido O., Romeis J., Bigler F. 2008: Monitoring or Surveillance? Balancing between theoretical frameworks and practical experiences. *Journal for Consumer Protection and Food Safety*, 3: (Supplement 2) 4–7.

Sanvido O., Romeis J., Bigler F. 2009: An approach for post-market monitoring of potential environmental effects of *Bt*-maize expressing *Cry1ab* on natural enemies. *Journal of Applied Entomology*, 133: 236–248.

1.2.5 Würdigung

Würdigung des BAFU

Die Gesetzgebung in der Schweiz definiert fallspezifische Überwachung und allgemeine Beobachtung nicht so umfassend wie die Gesetzgebung der Europäischen Union und gibt auch keine Vorgaben, wie diese beiden Arten des Monitorings zu trennen sind. Dies lässt bei der Konzeption eines Monitorings von GVO einen gewissen Spielraum.

Monitoring soll als ein Frühwarnsystem dienen. Die Entscheidung, ob einzelne Parameter Teil eines Monitorings werden sollen oder nicht, muss für jeden Parameter fallspezifisch getroffen werden. Die Trennung zwischen fallspezifischer Überwachung und allgemeiner Beobachtung ist nicht scharf, so dass ebenfalls fallspezifisch für einzelne Parameter entschieden werden muss, in welchem dieser zwei Überwachungsprogramme diese erfasst werden sollen.

Grundsätzlich sind Risikoermittlungen und -bewertungen im Vorfeld einer Zulassung Begrenzungen unterworfen. So sind z. B. langfristige und komplexe Auswirkungen kaum abzuschätzen oder kumulative Effekte, ausgelöst durch ein Zusammenwirken mehrerer GVO, werden in der Risikobewertung einzelner GVOs nicht berücksichtigt. Dieser Umstand ist bei der Konzeption eines GVO Monitorings, insbesondere der fallspezifischen Überwachung, zu berücksichtigen. Er kann dazu führen, dass auch Parameter, deren Risikoermittlung kein oder ein vernachlässigbares Risiko ergeben hat, in das Monitoring aufgenommen werden sollte.

Auch die allgemeine Beobachtung muss sich an den Eigenschaften des GVOs, seiner gentechnisch veränderten Eigenschaft und an der Umwelt, in die er freigesetzt werden soll, orientieren. Schwerpunkt sollte auf diejenigen negativen Auswirkungen gelegt werden, welche über Wirkungsketten hergeleitet werden können und deshalb denkbar sind, welche aber nicht in der Risikoermittlung berücksichtigt werden, z. B. langfristige und komplexe Effekte.

Ein Monitoring von GVO muss dynamisch sein und sich an neue Gegebenheiten, z. B. neue Erkenntnisse anpassen können.

Das erste Projekt konzentriert sich auf die allgemeine Beobachtung und zeigt eine Möglichkeit auf, wie diese umgesetzt werden kann. Es orientiert sich an den gesetzlich vorgegebenen Schutzziele und ermittelt anhand von Ursache-Wirkungs-Ketten spezifisch für einzelne GVO zu messende Indikatoren. Indem mit dieser Methode Umweltwirkungen identifiziert werden können, welche mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auftreten werden, leistet das Projekt damit einen wertvollen Beitrag zu einer effizienten Umsetzung der allgemeinen Beobachtung. Das zweite Projekt stellt einen Ansatz für ein fallspezifisches Monitoring vor, wobei die gesetzlichen Vorgaben der EU übernommen werden. Darüber hinaus lehnt sich das Projekt auch bei der Umsetzung an die Entwicklungen der EU an. Basierend darauf zeigt das Projekt die Grenzen und Schwierigkeiten eines fallspezifischen Monitorings auf.

2 > Analyse ethischer Fragen zur Risikobewertung im Bereich der Biotechnologie

2.1 Ethische Risikobewertung

Andreas Bachmann

Klaus Peter Rippe

Ausarbeitung von Kriterien und Instrumenten für eine ethische Risikobewertung im Zusammenhang mit dem Einsatz, insbesondere der Freisetzung von GVO

Moral dient einem Zweck:

Sie ist ein Mittel, menschliches Zusammenleben zu ermöglichen.

2.1.1 Risikoethik

Ein wichtiges Ziel der Ethik ist die rationale Begründung moralischer Normen und Prinzipien. Das heisst, dass sich diese in einem Diskurs auch ständig verändern können. Für die Argumentation gelten aber insbesondere die Kriterien Konsistenz (Widerspruchsfreiheit) und Kohärenz (Stimmigkeit). Andreas Bachmann und Klaus Peter Rippe sind der Meinung, dass die auf subjektive Überzeugungen beruhende Akzeptanz nicht das einzige Kriterium der Risikoethik sein kann. Sie zeigen, dass ethische Objektivität und damit eine wissenschaftliche Risikoethik möglich ist. Ziel ist es, von der empirischen Akzeptanz unabhängige Kriterien für die Akzeptabilität von Risiken zu entwickeln, um konkrete Fragenstellungen, beispielsweise den Einsatz von GVO, beantworten zu können.

2.1.2 Vorbedingungen klären als Basis für Objektivität

Als Vorbedingungen für die ethische Risikobewertung wurden daher die zentralen Begriffe Risikoethik, Risiko, Wahrscheinlichkeit, Schaden und Schadensausmass propädeutisch geklärt. Darauf aufbauend wurden vier Risikotypen eingeführt:

Risikotypen

- > Vollständig kalkulierbare Risiken. Hier sind sowohl das Ausmass des Schadens, sowie die Wahrscheinlichkeit des Eintretens bekannt.
- > Das Schadensausmass ist objektiv bekannt aber die Wahrscheinlichkeit muss subjektiv abgeschätzt werden. Hier besteht eine Unsicherheit in Bezug auf die Wahrscheinlichkeit.

- > Bei bekannter Wahrscheinlichkeit muss das Schadensausmass subjektiv abgeschätzt werden. In diesem Falle besteht eine Unsicherheit in Bezug auf das Schadensausmass.
- > Sowohl die Wahrscheinlichkeit als auch das Schadensausmass müssen subjektiv abgeschätzt werden. Dies ist eine Situation der Ungewissheit.

Situationen mit Risiken des Typs 1 sind eher selten. Häufig hingegen die Fälle des Risikotyps 4. Manche der durch den Einsatz von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) bedingten Risiken fallen in die Klasse 4.

2.1.3 Klassische Kriterien in der Risikoethik-Diskussion

«Welche Risikoexpositionen sind ethisch erlaubt, welche verboten?» Um diese Frage anzugehen, wurden zunächst das Bayes-Kriterium und das Maximin-Kriterium vorgestellt.

- > Das Maximin-Kriterium besagt: Maximiere den minimalen Nutzen bzw. Minimiere (vermeide) den maximalen Schaden. Anwendung findet es insbesondere mit Blick auf mögliche Katastrophenfälle.
- > Das Bayes-Kriterium besagt: Maximiere den (subjektiven) Erwartungswert der Folgen deines Tuns. Der Erwartungswert ist das Produkt aus Eintritts-Wahrscheinlichkeit und Schadensausmass (im Fall von Risiken).

Es wurde dargestellt, wie es bei einer strikten Anwendung des einen oder anderen dieser Kriterien zu «zutiefst kontraintuitiven», utilitaristischen Handlungen, oder zur Handlungsblockade führen würde. Beide (Bayes und Maximin) wurden daher als *allgemeine* Kriterien für die Beurteilung von Risikoexpositionen nach detaillierter Kritik eindeutig verworfen.

Ein weiteres Kriterium, die Zustimmung, wonach einer einem Risiko ausgesetzt werden darf, sofern er zustimmt, erweist sich als nicht zureichend. Daher wurde ein eigenes, risikoethisches Kriterium entwickelt:

2.1.4 Schwellenwert-Konzeption und Sorgfaltspflichten-Ansatz

Formell ist ein Schaden zu verstehen als eine um ihrer selbst willen negativ zu beurteilende Veränderung. Inhaltlich ist der Schaden an der Möglichkeit gebunden, für ein Wesen Schmerzen zu empfinden, bzw. unangenehme Erfahrungen zu machen. Auf diesem Schadenbegriff beruhend lässt sich ein Nicht-Schadensprinzip formulieren: jedes empfindungsfähige Wesen hat einen moralischen Anspruch nicht geschädigt zu werden, auch wenn damit anderen Wesen oder der Gesellschaft ein Nutzen entstehen würde. Dieses Prinzip entsteht durch die oben erwähnte Kritik an die klassischen Kriterien der Risikoethik. Demgegenüber steht die Forderung nach Sorgfaltsmassnahmen, die getroffen werden müssen, um den Schadenseintritt aller Voraussicht nach zu vermeiden.

Sorgfaltspflicht

Es wird vorgeschlagen, quantitative Risikogrenzwerte mit Hilfe dieser Schwellenwertkonzeption festzulegen. Andere können nur Risiken ausgesetzt werden, falls diese Risiken unterhalb dieser Grenzwerte liegen, so dass das Eintreten des Schadens sehr unwahrscheinlich wird. Risikoethisch interpretiert, mündet also eine solche nicht-konsequenzialistische Betrachtungsweise in Sorgfaltspflichten, die sich am Erwartungswert (d.h. dem Produkt aus Eintrittswahrscheinlichkeit und Schadensausmass) einer Handlung orientieren. Daraus lassen sich – aufgrund einer Schadenstheorie und unabhängig von Chancenüberlegungen – konkrete Risikogrenzwerte und eine Orientierung für Forschende und Entscheidungsträger ableiten.

Die Sorgfaltspflichten bestehen aus zwei Aspekten. Zum einen verlangen sie vom Handelnden eine antizipative Einstellung: Er ist gehalten, sich a) die möglichen Folgen seiner Handlungen insbesondere ihr Schadenspotenzial, vor Augen zu führen. Zum anderen wird b) von ihm gefordert, auf der Grundlage dieser Folgenüberlegungen die erforderlichen Vorsichtsmassnahmen zu ergreifen, um die Risiken zu minimieren. Das quantitative Schwellenwert-Konzept erlaubt dann Entscheide. Minimierung ist dann so zu verstehen, dass hierdurch ein Schwellenwert – eine «ethische Risikoschwelle» – bezeichnet wird, unterhalb dessen eine Risikoexposition zulässig, oberhalb dessen sie dagegen unzulässig ist.

Konkret bedeutet dieser nicht-utilitaristische Ansatz unter anderem, dass Sorgfaltsmassnahmen zu bestimmen sind, die ermöglichen, den Erwartungswert von Risiken unter den Schwellenwert zu senken. Würden solche Massnahmen nicht reichen, sollte die Risikoexposition verboten werden. Wäre ausserdem das Wissen ungenügend, um den Erwartungswert von Risiken zu bestimmen, sollte die Risikoexposition verboten werden, solange dieses Wissen nicht zur Verfügung steht.

Übereinstimmung mit dem rechtlichen Ansatz

Der hier vorgestellte risikoethische Ansatz stimmt in vielen Punkten mit dem im Schweizerischen Gentechnikgesetz gewählten rechtlichen Ansatz, im Bezug auf die Freisetzung von GVO überein, auch wenn er eine andere Werttheorie und eine andere umweltethische Position vertritt. Auch im Recht steht die Minimierung der Risiken im Vordergrund. Hingegen sind Nutzen- bzw. Chancenüberlegungen von untergeordneter Bedeutung. Insofern vertritt das Recht zumindest im Bereich der ausserhumanen Gentechnologie einen nicht-utilitaristischen Ansatz.

Aus der Perspektive des hier vertretenen Ansatzes besteht ein Mangel des Gentechnikgesetzes bzw. der Freisetzungsverordnung darin, dass die Risiko-grenzwerte für Freisetzungsversuche un- bzw. unterbestimmt sind. So ist nicht klar, was gemeint ist, wenn in Art. 8 FrSV gesagt wird, Freisetzungsversuche seien zulässig, wenn bestimmte Konsequenzen wie etwa die Beeinträchtigung geschützter Populationen oder das unbeabsichtigte Aussterben irgendeiner Art von Organismen «nicht zu erwarten» sind. Hier müsste man einen konkreteren Schwellenwert definieren, der auf einer klaren sentimentistischen Schadenskala und den entsprechenden Wahrscheinlichkeiten beruht.

2.2 Bedeutung des Schadensbegriffs für die Risikobewertung mit Fallbeispielen

Valentin Küng

2.2.1 Fallbeispiele als Basis zum Erarbeiten von Kriterien und Instrumenten für eine ethische Risikobewertung von GVO

In der Arbeit von Küng – Biotech + Umwelt, Bern wurde untersucht, in wie weit der Schadensbegriffs die Risikobewertung von GVO mitdefiniert. Konkrete Fallbeispiele wurden formuliert und untersucht. Dabei wurde nicht die Eintretenswahrscheinlichkeit im Detail betrachtet, sondern das Spektrum der Auswirkungen möglichst breit dargelegt.

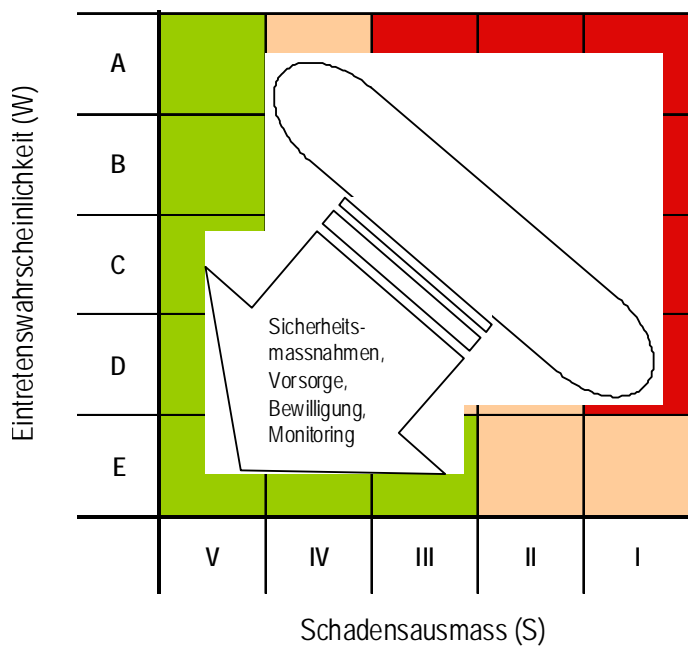
Neben der naturwissenschaftlichen gehen auch ethische, gesellschaftliche und politische Überlegungen in die Analyse des Risikos mit ein. Solche Faktoren bestimmen mit, welche Auswirkungen überhaupt als Risiko angesehen werden und welche Höhe des Risikos für wen akzeptabel ist.

Der Risikobegriff

In einer Risikomatrix (Abb. 2) können Ausmass des Schadens und Eintrittswahrscheinlichkeit graphisch dargestellt werden. Ein solches Instrument gibt aber keine Auskunft darüber, ob bestimmte Risiken, aus ethischer Sicht, gar nicht eingegangen werden dürfen. Auch gibt es eine gesellschaftliche Aversion gegen – zwar sehr unwahrscheinliche – aber sehr schadensträchtige Ereignisse. Solche Risiken werden als untragbar wahrgenommen, weil beispielsweise die Gesellschaft bei einem Schaden finanziell überfordert sein könnte.

Abb. 2 > Risikomatrix

Die Eintrittswahrscheinlichkeit eines Schadens wird in Abhängigkeit des Schadensausmasses dargestellt. Risiken lassen sich in beiden Richtungen, bei der Eintretenswahrscheinlichkeit und bei dem maximalen Schadensausmass, reduzieren. Die Pfeilrichtung illustriert die grundlegenden Ziele des Bewilligungs- und Inspektionsprozesses in einer Risikomatrix.



Legende:

- Nicht relevantes bis kleines Risiko, tolerierbar
- Mittleres Risiko, nur nach Abwägung von Nutzen gegen Schaden tolerierbar
- Grosses bis katastrophales Risiko, nicht tolerierbar

Definition der Wahrscheinlichkeiten W (effektiver Schadenseintritt)

A	häufig	1 mal pro Monat bis 1 mal pro Jahr
B	gelegentlich	1 mal pro Jahr bis 1 mal pro 10 Jahre
C	selten	1 mal pro 10 Jahre bis 1 mal pro 100 Jahre
D	unwahrscheinlich	1 mal pro 100 Jahre bis 1 mal pro 1000 Jahre
E	praktisch unmöglich	1 mal pro 1000 Jahre bis 1 mal pro 10 000 Jahre

Kategorie	Schadensausmass	Definition der Folgen
I	sehr gross	katastrophal
II	gross	schwer
III	mittel	mittel
IV	klein	leicht
V	gering	irrelevant

Eine spezifische Einwirkung auf Mensch, Tier und Umwelt kann, je nach Standpunkt und Werthaltung, einmal positiv und einmal negativ betrachtet werden. Ob etwas nützt oder schadet, hängt vom Bewertungshintergrund ab. Zusammen mit der Eintretenswahrscheinlichkeit definiert die Bewertung des Schadens die Höhe des biologischen Risikos. Es braucht also Fachwissen um bewerten und entscheiden zu können, was ein ökologischer Schaden ist. Die ethische Risikobewertung dient dazu, einen Schaden als solchen zu bewerten und zudem den ethischen Umgang mit Risiken zu begründen.

Positive und Negative
Auswirkungen

Hinter der Risikobewertung steckt eine zweifache Werteinschätzung. Erstens die Feststellung dessen was schützenswert ist. Zweitens die Festlegung des wünschenswerten Zustands dieser Güter. Ansonsten kann ein Schaden ja nicht festgestellt werden. Wie etwas sein *sollte*, kann die Naturwissenschaft nicht allein beantworten. Es fließen bestimmte (z. B. politische) Wertvorstellungen ein und bestimmen den Diskurs. Da Schadensbilder meist komplex sind (ein Schaden kann z. B. einen anderen nach sich ziehen oder bedingen), sollte die Risikobewertung transparent gemacht werden. Dadurch kann nachvollzogen werden, was als Schaden aufgefasst wurde, und was nicht betrachtet wurde, oder methodisch nicht erfasst werden konnte.

Unerwünschter Effekt versus
wünschenswerter Zustand

In der Schweiz ist der Umgang mit Organismen auf Verfassungs-, Gesetzes- und Verordnungsebene geregelt. Ziel ist der Schutz von Mensch und Umwelt.

Umfassende Betrachtung von
Schutzgütern

Als Schaden werden durch GVO verursachte schädliche und lästige Einwirkungen auf Mensch und Umwelt bestimmt. Die Konkretisierung der wünschenswerten Zustände ist gering und es besteht ein Ermessensspielraum für die Behörden in deren Festlegung. In einer Studie des BUWAL und einer Arbeitsgruppe ERFA BIO (BUWAL 2005) wurden Schutzgüter definiert, denen Indikatoren zur differenzierten Erfassung einer Gefährdung zugeordnet wurden. Eine ethische Risikobewertung sollte, so Valentin Küng, dieselben Schutzgüter und Indikatoren verwenden.

In vier Verordnungen (ESV, FrSV, StfV, SAMV) wird die Reduktion des Risikos angestrebt. Es wird darin beispielsweise definiert, wie mit Organismen umzugehen ist, ob ein Entweichen in die Umwelt zu minimieren oder sogar zu verhindern ist. Verschiedene staatliche Massnahmen wie etwa Bewilligungsverfahren oder Monitorings dienen dazu, das Risiko zu reduzieren, indem die Eintretenshäufigkeit und/oder die Schadensgrösse reduziert werden. Den Bundesbehörden, beratenden Kommissionen und kantonalen Behörden kommt eine entscheidende Rolle in der Beantwortung folgender Punkte zu:

Risikoreduktion aufgrund
bestehenden Rechts

- > Definition, was unerwünschte Eigenschaften sind
- > Naturwissenschaftliche Beurteilung, ob eine dauerhafte Verbreitung zu erwarten ist.

Expertenstreit und politisches Seilziehen entsteht bei der schwer quantifizierbaren Frage, ob mögliche Schäden *aller* Voraussicht nach abgeklärt wurden und ob *alle* erforderlichen Sorgfaltsmassnahmen getroffen wurden.

2.2.2 Experimentelle Freisetzung und Anbau von Nutzpflanzen

Fallbeispiele und Szenarien wurden definiert, um die möglichen Risiken einer Analyse zugänglich zu machen.

Fallbeispiele

1. Transgener Raps kann mit verwandten Arten auskreuzen. Das führt gelegentlich zur zeitlich begrenzten Verwilderung von Pflanzen mit geringen Folgen für die Umwelt (aufgrund der reduzierten Fitness der transgenen Pflanzen).
2. In diesem Szenario wurde der aktuell intensive Einsatz des Herbizids Glyphosat als Ausgangsbasis genommen. Dieser führt zunehmend zu glyphosatresistenten Unkräutern. Als Folge der Monopolsituation (Saatgut und Glyphosat) und der starken Abhängigkeit der Landwirtschaft von einem einzigen Herbizid gibt es bei einer (postulierten) massiven Zunahme von resistenten Unkräutern Produktionsprobleme, die zu einer Störung bei der Futtermittel- und Nahrungsmittelversorgung führen.
3. Hier ist der reale Fall einer unbeabsichtigten Verbreitung eines transgenen, herbizidresistenten Grases der Ausgangspunkt. Das Szenario postuliert, wie sich die zunehmende Verbreitung des Grases und die Auskreuzung des Resistenzgens in verwandte Gräser auf die Nahrungsmittelversorgung auswirken. Die Folgen reichen von (vorerst) unbestimmbar bis zu massiven Folgen.

Unbeabsichtigte Verbreitung

Neue Restistenzen

Ökologischer Schaden

In diesen Fallbeispielen wurde deutlich, dass für die Risikobewertung von gentechnisch veränderten Organismen eine Klassierung von Umweltauswirkungen in verschiedene Schadens- und damit Risikokategorien nötig ist und dies ein klares Verständnis, was ein ökologischer Schaden ist, voraussetzt.

2.2.3 Würdigung

Die Gesetzgebung sieht vor, dass bei Freisetzungen Risikobewertungen durchgeführt werden müssen. Dabei stellt sich die Frage, ob ethische Anliegen berücksichtigt werden. Diese zwei Projekte der Risikoethik zielen auf eine Standortbestimmung der Diskussion in diesem Bereich und auf die Formulierung ethischer Kriterien für die Risikobewertung.

Würdigung des BAFU

Das erste Projekt zeigt, dass die klassischen Kriterien der ethischen Risikobewertung zum Teil unbefriedigend und im Bezug auf Biosicherheitsfragen der ausserhumanen Gentechnologie ungeeignet sind. Die Autoren vertreten deshalb einen sentientistischen Schadenbegriff, der zu einer nicht-utilitaristischen Schwellenwertkonzeption führt. Demzufolge und unabhängig von Chancenüberlegungen sind Sorgfaltspflichten zu ergreifen, wenn das Risiko über dem definierten Schwellenwert liegt. Das zweite Projekt zeigt, dass der Begriff des Schadens mehrdeutig ist und nur zum Teil im Recht konkretisiert wird. Die Fallbeispiele bestätigen, dass aktuelles naturwissenschaftliches Wissen im Bereich der Freisetzung von Organismen für eine Schwellenwertkonzeption der Risikoethik zum Teil lückenhaft ist, damit eine mögliche Risikoexposition ethisch erlaubt werden könnte.

Das aktuelle Recht im Bereich Freisetzung stimmt mit den allgemeinen ethischen Überlegungen überein. Jedoch bleibt weiteres Forschungsbedarf, um die gesetzlichen Schwellenwerte von Risiken genauer bestimmen zu können.

3 > Risiken für das Ökosystem des Bodens

3.1 Belastungen des Ökosystems Boden durch natürliche sowie gentechnisch veränderte Organismen – Effekte, Methoden und Schadensdefinition als Beitrag zur Risikobeurteilung

In der Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBo 1998) werden gentechnisch veränderte Organismen (GVO) zusammen mit pathogenen und exotischen Organismen als «biologische Bodenbelastung» zusammengefasst. Der Umgang mit diesen Organismen wird durch die Freisetzungsverordnung und das Gentechnikgesetz geregelt. Prinzipiell gilt für alle freigesetzten lebenden Organismen, dass sie sich vermehren, verbreiten und evolutiv verändern können, so dass sich zusätzliche Anforderungen an die Bewilligung einer Freisetzung von Organismen ergeben, unabhängig davon, ob sie gentechnisch verändert sind oder nicht. Das vorliegende Projekt der Forschungsanstalt Agroscope Reckenholz-Tänikon ART und des Forschungsinstituts für biologischen Landbau (FiBL) hatte zum Ziel, einen Beitrag zur Risikobeurteilung biologischer Bodenbelastungen auf das Ökosystem Boden zu erarbeiten. Es gliederte sich in vier Module. **Modul 1** beinhaltet die theoretischen Grundlagen des Forschungsprojektes. **Modul 2** und **Modul 3** befassten sich mit der praktischen Anwendung dieser Grundlagen am Beispiel eines Modellversuches mit dem Organismus *Pseudomonas fluorescens* Stamm CHA0 und einem Feldversuch mit dem Präparat «Effektive Mikroorganismen» (EM). **Modul 4** stellt die Synthese der Ergebnisse aus den Modulen 1 bis 3 dar.

Susanne Scheid
Andreas Fließbach
Jochen Mayer
Karin Nowack
Bernadette Oehen
Franco Widmer
Paul Mäder
Hans-Rudolf Oberholzer

3.1.1 Modul 1 – Theoretische Grundlagen (ART und FiBL)

Grundlage der Arbeiten im ersten Teil des Moduls 1 war die Auswertung internationaler Konzepte zur Bestimmung der Bodenqualität und zur Erfassung von Auswirkungen biologischer Belastungen im Hinblick auf bodenphysikalische, -chemische und -biologische Indikatoren. Zudem wurde eine Literaturübersicht zu gentechnisch veränderten Pflanzen, zu gentechnisch veränderten bzw. nicht gentechnisch veränderten Organismen, die dem Boden kontrolliert zugegeben werden sowie zu invasiven, exotischen Organismen durchgeführt. Als Ergebnis wurden die weltweit empfohlenen Indikatoren zur Bestimmung der Bodenqualität sowie die aktuell diskutierten Effekte biologischer Belastungen und Indikatoren zu deren Erfassung zusammengestellt. Des Weiteren wurden Ansätze, wie ein Schaden für die Umwelt bzw. den Boden definiert wird, zusammengetragen.

Konzepte zur Bestimmung der Bodenqualität

Im zweiten Teil wurden die möglichen Effekte biologischer Belastungen auf das Ökosystem Boden definiert und Methoden zu deren Erfassung erarbeitet und beurteilt.

Mögliche Effekte biologischer Belastung

Als Effekt gilt die Veränderung einer Eigenschaft oder Funktion des Bodens. Es wurden 17 mögliche Effekte erarbeitet, die den Bereichen Bodenphysik, Bodenchemie, Bodenbiologie und Bodenfunktionen zugeordnet werden können. Zur Erfassung der Effekte stehen derzeit 90 Methoden zur Verfügung. Die Methodenliste lässt sich jedoch jederzeit ergänzen. Nach der Zuordnung jeder Methode zu einem Effekt wurde deren Eignung zur Erfassung des betreffenden Effektes basierend auf einer dreistufigen Skala beurteilt – geeignet, bedingt geeignet, ungeeignet. Zusätzlich wurde jede Methode anhand 16 weiterer Kriterien bewertet, die zunächst in ihren Aussagen definiert wurden. Wichtige Beurteilungskriterien waren Standardisierung, Reproduzierbarkeit und Sensitivität, aber auch, ob eine Methode kostengünstig ist. Im Hinblick auf biosicherheitsrelevante Aspekte wurde beurteilt, ob Effekte, die mit einer Methode gemessen werden, bewertbar sind, und ob aus den Ergebnissen auf einen Schaden für das Boden-ökosystem geschlossen werden kann. Des Weiteren wurde eine Schadensdefinition erarbeitet, die es erlaubt, Veränderungen von Bodeneigenschaften und -funktionen als Schaden für den Boden beurteilen zu können.

Um die erarbeiteten Effekte und deren Methoden zur Erfassung in der Risikobeurteilung von biologischen Bodenbelastungen anwenden zu können, wurde ein schrittweises Vorgehen für eine effektbezogene Methodenauswahl entwickelt. Im ersten Schritt werden die aufgrund von Expertenmeinungen zu erwartenden Effekte dieser Organismen identifiziert und den 17 Effekten zugeordnet. Im Anschluss daran können geeignete Methoden zur deren Erfassung ausgewählt werden, deren Vor- und Nachteile anhand der Beurteilungskriterien aufgezeigt werden.

3.1.2 Modul 2 –

Modellversuch mit dem Organismus *Pseudomonas fluorescens* Stamm CHA0 (FiBL)

Pseudomonas fluorescens wird in der Landwirtschaft mit dem Ziel eingesetzt, das Pflanzenwachstum zu fördern und die Pflanzen vor bodenbürtigen Krankheiten zu schützen. Diesen erwünschten Wirkungen stehen mögliche Effekte auf Nichtzielorganismen gegenüber, die vor einer Massenfreilassung derartiger Organismen überprüft werden müssen. Die erwünschten und unerwünschten Wirkungen eines freigelassenen Organismus hängen davon ab, wo dieser angewendet wird. Theoretische ökologische Konzepte gehen davon aus, dass Gemeinschaften mit einer hohen Diversität weniger anfällig für Veränderungen durch einwandernde Arten sind. Ausgehend von dieser Theorie wurde ein Modellversuch im Gewächshaus mit Ackerböden von Lössstandorten durchgeführt, deren mikrobielle Biomasse und Aktivität sich durch die Bodenbewirtschaftung unterschiedlich entwickelt haben. Zum Saatzeitpunkt von Sommerweizen in Töpfe wurde *P. fluorescens* Stamm CHA0 mit einer natürlich vorkommenden Resistenz gegenüber Rifampicin (*rif^r*) inokuliert, dessen Etablierung in den Versuchsböden untersucht wurde. Der eingesetzte *P. fluorescens* Stamm CHA0 wird in der Schweiz nicht kommerziell genutzt, weist aber ähnliche Eigenschaften auf wie *P. fluorescens* im zugelassenen Präparat «Biofitac PF1». Seine krankheitsunterdrückenden Eigenschaften beruhen unter anderen auf der Produktion der antimikrobiell wirksamen Substanz 2,4-Diacetylphloroglucinol.

Die mikrobielle Biomasse (C_{mic} , N_{mic}), die Basalatmung, der metabolische Quotient qCO_2 , die Dehydrogenaseaktivität (DHA), bakterielle Keimzahlen, die Mykorrhiza-Wurzelkolonisierung und das bakterielle Substratnutzungsmuster wurden am 18. und 60. Tag nach Aussaat und Anwendung von *P. fluorescens* Stamm CHA0 untersucht. Zu Versuchsbeginn zeigten die bodenbiologischen Parameter grosse Unterschiede, die von den verwendeten Böden herrührten. Im Verlauf des Experiments waren durch die wachsenden Pflanzen und ihre Wurzeln hervorgerufene Veränderungen der bodenbiologischen Parameter messbar. Der Effekt des Inokulums war hingegen klein und bei den meisten Parametern nur vorübergehend. Im Boden mit der geringsten mikrobiellen Biomasse zu Beginn des Versuches war jedoch eine über 60 Tage anhaltende Veränderung messbar. Die bakteriellen Substratnutzungsmuster, welche Veränderungen in der mikrobiellen Gemeinschaft anzeigen, veränderten sich in erster Linie als Folge des Pflanzenwachstums, während die unterschiedlichen Böden und der Beprobungszeitpunkt vernachlässigbar waren. Die Sensitivität der verwendeten Methoden nahm in Abhängigkeit von den Versuchsböden in der Reihenfolge N_{mic} , DHA, C_{mic} und qCO_2 ab. Neben der selektiven Keimzahlbestimmung von *P. fluorescens* Stamm CHA0, der nur in behandelten Böden gefunden wurde, waren die Methoden DHA, C_{mic} und das C_{mic}/N_{mic} -Verhältnis zur Ermittlung des Inokulumeffekts geeignet. Der zeitliche oder durch die wachsende Pflanze hervorgerufene Effekt wurde am sensitivsten durch N_{mic} , DHA, C_{mic} und qCO_2 angezeigt. Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass eine reichhaltige Mikroflora Einflüsse einwandernder Spezies nach einer Massenfreilassung abpuffern kann. Mit anderen Worten: das bakterielle Inokulum war in relativ armen Böden effektiver als in Böden, die belebter waren.

3.1.3 Modul 3 – Feldversuch mit dem Präparat «Effektive Mikroorganismen» (ART)

In einem vierjährigen, biologisch bewirtschafteten Feldversuch (2003–2006) wurde die Wirkung des Präparates «Effektive Mikroorganismen» (EM) untersucht. Der Versuch wurde an der Forschungsanstalt Agroscope Reckenholz-Tänikon ART am Standort Reckenholz durchgeführt. Die Versuchsverfahren umfassten a) die direkte Spritzung des Spritzpräparates EMA sowie b) die Ausbringung von EMA in Kombination mit EM Düngerpräparat Bokashi (fermentierte Weizenkleie) und c) EMA in Kombination mit Bokashi und Rottemist. EM besteht nach Herstellerangaben aus etwa 80 verschiedenen Mikroorganismenarten (z. B. Lactosebildner, photosynthetisch aktive Bakterien). Das EM-Präparat ist in der Schweiz als Zusatz für Dünger, Bodenverbesserer, Kompostierungsmittel und zur Verbesserung biologischer Vorgänge im Boden durch das BLW zugelassen.

Um die Wirkung der Mikroorganismen im EM-Präparat von der ihres organischen Trägermaterials differenzieren zu können, wurden als Kontrolle ein Verfahren ohne EM-Applikation sowie die drei Versuchsverfahren mit autoklavierten EM-Präparaten im Versuch mitgeführt.

Es wurden die jährlichen Erträge sowie die bodenbiologischen Parameter mikrobielle Biomasse (SIR, CFE), Basalatmung, Dehydrogenaseaktivität, Substratnutzungsmuster und DNA-Profil im Frühjahr und Herbst 2005 und im Frühjahr 2006 untersucht. In

Inkubationsversuchen im Labor wurden der Zelluloseabbau, das N-Mineralisationspotenzial sowie die N-Mineralisationsleistung bestimmt. Wurde nur das EMA Spritzpräparat eingesetzt, liessen sich für alle untersuchten bodenbiologischen Parameter und den Ertrag keine signifikanten Unterschiede zwischen dem EM-Verfahren und der unbehandelten Kontrolle nachweisen. Auswirkungen auf den Ertrag und die bodenbiologischen Parameter wurden für Bokashi und Rottemist gefunden. Die Effekte konnten jedoch nicht für alle untersuchten Parameter und Beprobungszeitpunkte beobachtet werden. Die gemessenen Unterschiede waren lediglich auf das zugegebene organische Material (Bokashi) und den damit verbundenen Nährstoffinput für den Boden zurückzuführen. Der Beprobungszeitpunkt wirkte sich auf den Gehalt an mikrobieller Biomasse, die Basalatmung und das Substratnutzungsmuster aus.

Aus den Ergebnissen des Versuches kann geschlussfolgert werden, dass die Zugabe von «Effektiven Mikroorganismen» die Pflanzenerträge nicht steigerte und mittelfristig (vier Jahre) keinen Einfluss auf die Bodenqualität im Ackerbau unter den klimatischen Bedingungen in Zentraleuropa hatte.

3.1.4 Modul 4 – Synthese der Module 1–3 (ART und FiBL)

Das in diesem Projekt erarbeitete schrittweise Vorgehen zur effektbezogenen Methodenauswahl ermöglicht eine systematische und an sachlichen Kriterien orientierte Wahl von Methoden zur Erfassung von Effekten biologischer Bodenbelastungen auf das Ökosystem Boden und konnte gut in die Praxis umgesetzt werden. Bei der Erarbeitung möglicher Effekte von *P. fluorescens* Stamm CHA0 und dem Präparat «Effektive Mikroorganismen» (EM) zeigte sich, dass je detaillierter die Kenntnisse über den zu prüfenden Organismus bzw. die Organismengemeinschaft sind, desto präziser können die möglichen Effekte auf das Ökosystem Boden herausgearbeitet werden.

Basierend auf den Versuchsergebnissen wurde die Sensitivität der eingesetzten Methoden zur Erfassung von Veränderungen diskutiert. Der Einsatz bestimmter Methoden im Modell- und Feldversuch erlaubte einen relativen Vergleich ihrer Sensitivität in verschiedenen Modellsystemen. Die Ergebnisse zeigten, dass im Modellversuch die Methoden sensitiv waren, Veränderungen aufgrund der Inokulation der Böden mit *P. fluorescens* Stamm CHA0 zu erfassen. Für den Feldversuch mit «Effektiven Mikroorganismen» zeigten sich keine Effekte durch die Applikation, wobei die Methoden grundsätzlich sensitiv waren, um Veränderungen aufgrund der Zugabe von organischem Material mit der EM-Applikation zu erfassen. Veränderungen, hervorgerufen durch die EM-Applikation, die in der gleichen Grössenordnung liegen verglichen mit der Zugabe von organischem Material, können demnach mit den Methoden erfasst werden. Für die sowohl im Modell- als auch im Feldversuch eingesetzten Methoden zeigte sich, dass die Sensitivität, Effekte erfassen zu können, unterschiedlich sein kann, was bedeutet, dass bei der Methodenauswahl zudem die Art des Versuches zu berücksichtigen ist.

Die gemessenen Veränderungen wurden basierend auf den Kriterien der Schadensdefinition auf das Vorliegen eines Schadens hin beurteilt. Ein Vergleich der inokulierten

Standardisierte Methoden

Verfahren mit den Kontrollen liessen in beiden Versuchen nur geringe bzw. keine Einflüsse von *P. fluorescens* Stamm CHA0 und den «Effektiven Mikroorganismen» auf die untersuchten biologischen Parameter erkennen, so dass die Veränderungen nicht als Schäden zu beurteilen waren.

Die Zusammenstellung der Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden lässt erkennen, dass insbesondere die molekularbiologischen Methoden noch nicht standardisiert sind. Für die meisten Methoden stehen keine Interpretationsgrundlagen zur Beurteilung von Veränderungen zur Verfügung. Die Ausnahme stellt die Methode «Substratinduzierte Respiration» (SIR) zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse dar. Auf der Grundlage des bestehenden Referenzwertmodells können Veränderungen interpretiert werden. Der Entwicklungsbedarf der bodenphysikalischen, -chemischen und -biologischen Methoden zur Erfassung möglicher Effekte natürlicher und gentechnisch veränderter Organismen lässt sich daher in folgende zwei Bereiche gliedern:

Nicht standardisierte Methoden

- > *Standardisierte Methoden*, die allgemein zur Beurteilung der Bodenqualität und in der Langzeitbeobachtung eingesetzt werden: Für diese sind die notwendigen methodischen Grundlagen vorhanden, so dass ein Einsatz in der Praxis möglich ist. Für diese Methoden gilt es, Interpretationsgrundlagen zu erarbeiten.
- > *Nicht standardisierte Methoden*: Dies betrifft vorwiegend die molekularbiologischen Methoden, für die ein standardisiertes Vorgehen zu erarbeiten wäre, um diese in Routineerhebungen integrieren und Interpretationsgrundlagen erarbeiten zu können.

Die Beurteilung, ab wann eine Veränderung einen Schaden für die Bodenqualität darstellt, ist für die Risikoforschung von zentraler Bedeutung. Neben der weiteren methodischen Entwicklung und der Erfassung «normaler Schwankungen» vor allem für bodenbiologische Parameter im Rahmen einer Langzeitbeobachtung der Bodenqualität ist es notwendig, die vorhandenen Wissenslücken im Bereich der Dateninterpretation zu schliessen.

3.1.5 Publikationen

Fließbach A., Winkler M., Lutz M., Oberholzer H.-R., Mäder P. 2009: Soil amendment with *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Lasting effects on soil biological properties in soils low in microbial biomass and activity. *Microbial Ecology* 57(4): 611–623.

Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fließbach A., Oberholzer H.-R. 2007: Wirkungen von «Effektiven Mikroorganismen EM» auf pflanzliche und bodenmikrobiologische Parameter im Feldversuch – Effects of «Effective Microorganisms EM» on plant and microbiological parameters in a field experiment. Vortrag 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau: Zwischen Tradition und Globalisierung. Universität Hohenheim, DE-Stuttgart, Mar. 20–23, 2007.

Beitrag archiviert unter http://orgprints.org/9691/01/9691_Mayer_Vortrag.pdf

Mayer J., Scheid S., Oberholzer H.-R. 2008: How effective are «Effective Microorganisms»? Results from an organic farming field experiment. 16th IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, June 16–20, 2008.

Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fließbach A., Oberholzer H.-R.: Effects of «Effective Microorganisms (EM)» on crop yields and soil microbial parameters in a field experiment in temperate climate.

3.2 **Abbaubarkeit von *Bt*-Mais im Boden und Auswirkungen auf Regenwürmer und andere Bodenmakroorganismen**

Wolfgang Nentwig, Linda Hönemann, Corinne Zurbrügg, Simon Knecht

Mehrere transgene Maissorten wurden über eine gesamte Vegetationsperiode in einem Feldversuch untersucht. Ziel war es potentielle Risiken durch den Abbau transgener *Bt*-Maisstreu abzuschätzen.

Die vorgelegte Arbeit basiert hauptsächlich auf Resultaten, die durch die Dissertationen von Linda Hönemann und Corinne Zurbrügg sowie der Diplomarbeit von Simon Knecht erarbeitet wurden. Unter der Leitung von Wolfgang Nentwig, wurde von 2005 bis Ende 2007 untersucht, wie transgener *Bt*-Mais im Boden abgebaut wird und wie Nicht-Ziel Bodenorganismen darauf reagieren.

3.2.1 **Hintergrund und Notwendigkeit der Untersuchung**

Bei der Ernte von Mais bleiben pro Hektar ca. 2 bis 6 Tonnen trockenes Pflanzenmaterial zurück. Dieses wird in der Praxis vor der nächsten Aussaat in die oberen Bodenschichten eingearbeitet. Wurde *Bt*-Mais angebaut, enthalten die Pflanzenreste noch *Bt*-Toxin. Dieses kann selbst nach 200 Tagen Exposition noch im Boden nachgewiesen werden. Obwohl die *Bt*-Toxine sehr spezifisch wirken, kann man *a priori* nicht vollständig ausschliessen, dass Nicht-Zielorganismen davon betroffen sind. Ist dies der Fall, könnte das Ökosystem Boden Schaden nehmen. Würden Destruenten, die eine wichtige Rolle im Recycling von Nährstoffen spielen, geschädigt, könnte die Aufrechterhaltung der Bodenfruchtbarkeit gefährdet sein.

Bisher existierten vor allem Laboruntersuchungen mit einzelnen Arten über kurze Zeiträume, sowie erst eine «litter baG» Studie, die über mehrere Monate dauerte.

Die hier vorgestellte Freilandstudie stellt mit insgesamt 9 untersuchten Maissorten (3 *Bt*-Sorten, die korrespondierenden Isolinien und 3 konventionelle Sorten) eine wesentlich umfassendere Studie dar.

3.2.2 **Freilandversuche: Maisstreuabbau und Bodentiergemeinschaft**

Der zentrale Freilandversuch war eine «litter baG» Analyse, die zwischen Oktober 2005 und Juli 2006 durchgeführt wurde. Untersucht wurde besonders der Abbau verschiedener *Bt*-Toxine, sowie für den Abbau wichtige Pflanzeninhaltsstoffe (z. B. C/N Verhältnis, Cellulose, Hemicellulose, Lignin). Ebenfalls untersucht wurden die am Abbau beteiligten Gemeinschaften an Bodenorganismen.

Versuchsaufbau Maisstreuabbau

In Klimakammern wurden Maispflanzen herangezogen. Blätter, die an den Pflanzen getrocknet waren, wurden entfernt und bis zum Freilandversuch eingefroren. Dieses Pflanzenmaterial wurde dann in «litter bags» (Polyethylenetze mit 4 mm Maschenweite; siehe Abb. 3) gefüllt und auf 10 Feldern ausgebracht. Monatlich wurden für alle

9 Maissorten litter bags von den 10 Feldern zurückgeholt. Ein kleiner Teil des enthaltenen Blattmaterials wurde für Laboranalysen entnommen. Aus dem verbleibenden Material erfolgte zur Untersuchung der Organismengemeinschaft eine Extraktion der Tiere mittels Macfadyen Methode.

Abb. 3 > Litter bag gefüllt mit trockenen Maisblättern

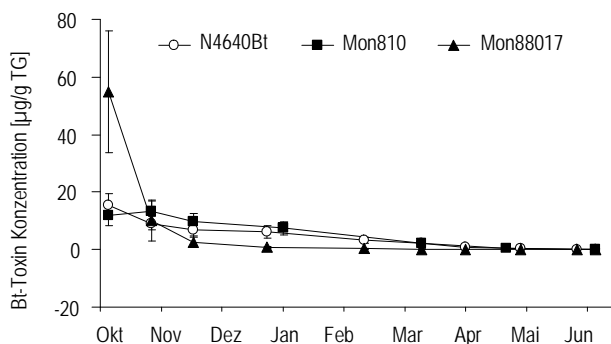


Das Cry3Bb1-Toxin wird in der Sorte Mon88017 in höherer Konzentration exprimiert, als das Cry1Ab-Toxin in den Sorten Mon810 und N4640Bt. Allerdings wird es auch viel schneller abgebaut (siehe Abb. 4). Das Cry1Ab-Toxin wurde zudem während der kalten Wintermonate kaum abgebaut. Bodenorganismen sind somit dem Cry3Bb1-Toxin kurzfristiger ausgesetzt als dem Cry1Ab-Toxin. Unterschiede im Biomasseabbau waren durch Unterschiede im C/N Verhältnis erklärbar. Lignin-, Cellulose- und Hemicellulosegehalt schienen eine weniger wichtige Rolle zu spielen. Transgene Maissorten und ihre Isolines unterschieden sich nur im C/N Verhältnis, diese lagen jedoch im Bereich der erwarteten Varianz zwischen konventionellen Sorten.

Resultat Maisstreuabbau

Abb. 4 > Bt-Toxin Konzentration (MW \pm SA) in seneszenten Blättern von N4640Bt, Mon810 (Cry1Ab) und Mon88017 (Cry3Bb1) während neun Monaten

N = 10 pro Maissor



Mittels der Macfayden Methode wurde in monatlichen Proben die Meso- und Makrofauna aus den «litter bags» extrahiert und unter dem Binokular bestimmt und ausgezählt. Insgesamt wurden 41 342 Tiere aus 21 Gruppen bestimmt.

Versuchsordnung
Bodentiergemeinschaft

Statistisch signifikante Unterschiede in der faunistischen Besiedlung transgener und nicht-transgener Blattstreu konnten *nicht* gefunden werden. Weniger als 1 % der Varianz in den Abundanzen konnte durch den Faktor «transgenes» oder «nicht-transgenes» Blattmaterial erklärt werden. Hingegen beeinflussten der Standort und die Saisonalität die Zusammensetzung der Gemeinschaft der Bodenorganismen, wie allgemein bekannt ist. Ebenso hatten die Faktoren Untersuchungsfeld und Probemonat einen signifikanten Einfluss auf die Abundanzen.

Resultate Bodentiergemeinschaft

Während der 9 Monate der Feldstudie konnte *kein* signifikanter Einfluss seneszenten *Bt*-Maisblattmaterials auf die Zusammensetzung der Bodenorganismen festgestellt werden. 99 % des *Bt*-Toxins wurde innerhalb dieser Zeit abgebaut. Der aufgrund unterschiedlicher Anteile von Pflanzeninhaltsstoffen erwartete Sorteneffekt hat sich nicht bestätigt.

Schlussfolgerungen
Freilandversuche

3.2.3 Laborversuche: Reaktion von Schnecken, Dipterenlarven und Anneliden auf *Bt*-Maisblätter

Um die Freilandversuche zu ergänzen, wurden Laborversuche durchgeführt. Bei ausgewählten Arten der Agrarlandschaft, die direkt oder indirekt am Abbau von Blattstreu beteiligt sind, wurde die quantitative Aufnahme von transgenem Blattmaterial, der Abbau des *Bt*-Toxins im Magendarmtrakt sowie die Auswirkung der Aufnahme von *Bt*-Toxin auf die Reproduktion untersucht.

Spanischen Wegschnecken (*Arion vulgaris*) und Genetzten Ackerschnecken (*Deroce-
ras reticulatum*) wurden in Plastikbehältern drei Tage mit *Bt*-Maisblättern gefüttert. Beide Cry-Toxine konnten nach drei Tagen in den Schneckendärmen nachgewiesen werden. *Bt*-Toxin wurde auch im ausgeschiedenen Kot gemessen. Nach Stopp der *Bt*-Maisfütterung, fiel die Konzentration innerhalb von drei Tagen besonders für das Cry3Bb1-Toxin stark ab. Das Gewicht der Maiszünslerlarven, welche mit Cry1Ab-haltigem Kot gefüttert wurden, war signifikant geringer als das Gewicht in der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis deutet auf einen sublethalen Effekt hin. Daraus hervorgehende mögliche Konsequenzen müssen aber noch weiter abgeklärt werden.

Enchyträen (Würmer, die die oberen 5–10 cm des Bodens besiedeln) wurden mit gemahlener *Bt*-Blattstreu gefüttert. Die Mortalität und Reproduktion der Tiere zeigte Unterschiede, diese können aber nicht mit den *Bt*-Toxinen in Verbindung gebracht werden. Eher sind die ermittelten Unterschiede auf einen Sorteneffekt zurückzuführen. Der Frass transgener Maispflanzen ist für Enchyträen somit risikolos.

Saprophage Dipterenlarven sind wichtige Primärdestruenten im Bodensystem. Fliegen der Arten *Megaselia scalaris* und *Drosophila melanogaster* wurden mit Frassversuchen über 3–4 Generationen untersucht. Die Anzahl Nachwuchs pro Paar variiert bei beiden Arten vor allem zwischen den Generationen und nur in Einzelfällen pro Be-

handlung. Es ist kein negativer Trend erkennbar und weder der Mais noch das *Bt*-Toxin wirken sich negativ auf die Fertilität und Entwicklung der Fliegen aus. Die gemessenen Unterschiede sind am ehesten auf die unterschiedliche Nahrungsqualität aller Maislinien zurück zu führen.

3.2.4 Schlussfolgerung

Es konnten *keine Nebenwirkungen* von *Bt*-Mais auf die a) Zusammensetzung der Bodenfauna, b) trophische Reaktion einzelner Arten, sowie c) deren Reproduktion festgestellt werden. *Bt*-Sorten verhalten sich im untersuchten Bereich nicht anders als ihre Isolinien oder andere konventionelle Maissorten.

Die vorgestellten Experimente umfassen eine hohe Anzahl von Maissorten und decken einen langen Zeitraum ab. Ebenfalls wurde ein grosses Spektrum an Bodenorganismen untersucht. Schliesslich wurden über mehrere Generationen die Fertilität und Entwicklung von Fliegen beobachtet.

Für diese *Bt*-Maissorten kann daher *nicht* von einem erhöhten ökologischen Risiko für Bodenorganismen ausgegangen werden.

3.2.5 Publikationen

Hönemann L., Zurbrügg C., Nentwig W. 2008: Effects of *Bt*-corn deposition on the composition of the soil meso- and macrofauna. *Appl Soil Ecol*, 40: 203–209.

Hönemann L., Nentwig W. (im Druck): Does feeding on *Bt*-maize affect the slug *Arion vulgaris* (Mollusca: Arionidae)? *Biocontrol Science & Technology*

Hönemann L., Nentwig W. (im Druck): Are survival and reproduction of *Enchytraeus albidus* (Annelida: Enchytraeidae) at risk by feeding on *Bt*-maize litter? *European Journal of Soil Biology*

Zurbrügg C., Nentwig W. 2009: Ingestion and excretion of two transgenic *Bt* corn varieties by slugs. *Transgenic Research*, 18: 215–225.

Zurbrügg C., Hönemann L., Meissle M., Romeis J., Nentwig W. (im Druck): Decomposition dynamics and structural plant components of genetically modified *Bt* maize leaves do not differ from conventional hybrids. *Transgenic Research*.

3.2.6 Würdigung

Artikel 33 des Umweltschutzgesetzes (USG) bezweckt, die Bodenfruchtbarkeit langfristig zu erhalten. Dabei ist der Begriff Bodenfruchtbarkeit in Artikel 2 der Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBo) sehr breit definiert.

Würdigung des BAFU

In den zwei Projekten ging es darum, Vorgehensweisen zu entwickeln und zu prüfen, um Auswirkungen auf die Bodenfruchtbarkeit durch gentechnisch veränderte Orga-

nismen (GVO) sowie durch pathogene oder exotische Organismen («biologische Belastung») frühzeitig zu erfassen. Das erste Projekt hat ein Vorgehen zur effektbezogenen Methodenauswahl für die Risikobeurteilung dieser Organismen erarbeitet und definiert, wann eine Veränderung einen Schaden für den Boden darstellt. Das Vorgehen wurde schliesslich erfolgreich angewendet und getestet. Das zweite Projekt hat den Abbau von Pflanzenrückständen von verschiedenen transgenen Maissorten untersucht, die das insektizide *Bt*-Protein enthalten. Die Wirkungen des *Bt*-Toxins auf verschiedene Bodenorganismen wurden während bis zu vier Generationen verfolgt, um längerfristige Effekte ausschliessen zu können.

Beide Ansätze zeigen Möglichkeiten auf, um Auswirkungen von Organismen auf die Bodenfruchtbarkeit zu erfassen und gewisse mit deren Freisetzung verbundenen Risiken abzuschätzen. Das erste Projekt versucht dabei das Schadenrisiko möglichst breit zu erfassen. Der umfassenden Definition der Bodenfruchtbarkeit wird aber auch diese effektbezogene Definition eines Schadens noch nicht gerecht. Dies nicht zuletzt auch deshalb, weil viele Bodenlebewesen und ihre Funktionen noch nicht bekannt oder zu wenig untersucht sind.

4 > Risiken für Nichtzielorganismen

4.1 Auswirkungen schädlingsresistenter transgener Pflanzen auf Solitärbienen

Roger Konrad
Dirk Babendreier

4.1.1 Auswirkungen transgener Pflanzen auf Larven von solitären Bienen

Die Nahrung der Larven vieler Solitärbienen besteht fast ausschliesslich aus Pollen. Daher könnten sie im Falle des Anbaus einer schädlingsresistenten transgenen Kulturpflanze dem Produkt des Transgens (Eiweiss) in hoher Masse ausgesetzt sein. In der vorliegenden Studie wurden mögliche Effekte des Proteaseinhibitors Oryzacystatin 1 (OC-1) im Pollen eines transgenen Rapses auf die Larven der Solitärbiene *Osmia bicornis* (= *O. rufa*) untersucht. Des Weiteren wurden gereinigtes OC-1, das *Bt*-Toxin Cry1Ab sowie das Schneeglöckchen-Lektin *Galanthus nivalis* Agglutinin (GNA) auf mögliche Auswirkungen auf verschiedene Entwicklungsparameter dieses wichtigen Bestäubers evaluiert. Hierzu wurde jeweils eines dieser insektiziden Eiweisse in gewünschter Konzentration dem Pollenproviant der Bienenlarven zugefügt.

Hintergrund und Methoden

Diejenigen Larven, die mit Pollen gefüttert wurden, der 0,1 % GNA enthielt, unterschieden sich in zwei Entwicklungsparametern statistisch signifikant von der Kontrollgruppe: Nämlich in der Entwicklungsdauer und in der Umwandlung des vorhandenen Futters (Pollenproviant) in Körpergewicht der Larve. Keine der anderen Behandlungsgruppen (transgener OC-1 Pollen, OC-1 0,1 %, Cry1Ab 0,01 % und GNA 0,01 %) unterschied sich in diesen beiden Entwicklungsparametern signifikant von der Kontrolle. Im Gewichtsverlust während der mehrmonatigen Überwinterung sowie in der Lebensdauer nach dem Schlupf der adulten Bienen im Frühjahr wurden keinerlei signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe festgestellt. Ebenfalls in der Sterblichkeit unterschied sich keine der Behandlungen von der Kontrolle.

Resultate

Von den 174 getesteten Larven starben 5 (2,9 %) während der Larvenentwicklung und maximal zwei in einer Behandlung. Weder transgener, OC-1 exprimierender Pollen, noch eine der Behandlungen mit künstlich zugesetztem insektizidem Protein unterschieden sich signifikant von der Kontrolle in Bezug auf die Sterblichkeit während der Entwicklung. Von den 169 Individuen, welche die Larvenentwicklung erfolgreich durchliefen, starben 19 (10,1 %) während der Überwinterung, mit einem Maximum von 4 Tieren je Behandlung, was ebenfalls einer insgesamt tiefen und homogenen Sterblichkeit entsprach.

Die Verfütterung des Pollens von transgenem OC-1 Raps beeinflusst die allgemeine Entwicklung nicht. Ebenfalls zeigten hohe Dosen von OC-1 und Cry1Ab sowie kleine Dosen von GNA keinen signifikanten Effekt. Hingegen erhöhte eine hohe Dosis von GNA (0,1 %) in der Larvendät die Entwicklungszeit signifikant und reduzierte die Effizienz des Umsatzes der Pollennahrung in Körpergewicht der Larve.

Zusammenfassung
und Bedeutung

Die experimentellen Methoden, die in der vorgelegten Studie entwickelt und beschrieben wurden, sind nicht nur in standardisierten Studien zu den möglichen Effekten auf Nichtzielorganismen durch transgene Pflanzen einsetzbar, sondern könnten auch adaptiert werden für Tests mit systemischen Insektiziden, welche ebenfalls im Pollen von behandelten Pflanzen vorkommen können. Bei *in vitro* Toxizitätstest mit Honigbienenlarven tritt oft eine hohe Kontrollsterblichkeit auf, was vermutlich eine Folge des wiederholten Manipulierens, sprich Umplatzieren der Larven ist. In der vorliegenden Studie hingegen wurde eine tiefe Kontrollmortalität beobachtet, was wahrscheinlich auf die minimale Manipulation von Eiern und Larven, welches bei der Aufzucht von Solitärbiene notwendig ist, zurückgeführt werden kann. Ein weiterer Pluspunkt des experimentellen Designs, welches in dieser Studie entwickelt wurde, ist, dass das Sammeln und Verarbeiten des Pollenproviantes durch die Bienen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurde. Dies stellt eine bedeutende Verbesserung gegenüber früheren Studien zu den Auswirkungen von Pestiziden auf Solitärbiene-Larven dar.

Die Resultate der vorgelegten Studie zeigen, dass es sehr unwahrscheinlich ist, dass OC-1 oder Cry1Ab ein Risiko für Larven von *O. bicornis* darstellen. Für GNA, das zwar in hohen Dosen gefährlich für Bienen ist, konnte nachgewiesen werden, dass es keinerlei schädlichen Effekt bei den erwarteten Expressionsmengen hat. Es kann erwartet werden, dass diese Resultate, welche für eine einzelne Modell-Art (*O. bicornis*) erhoben wurden, für einen Grossteil der ungefähr 700 solitären Bienenarten Mitteleuropas relevant sind, da viele von ihnen polylektisch sind, auf landwirtschaftlich angebauten Futterpflanzen nach Nahrung suchen und sich während der Blüte solcher Pflanzen fortpflanzen.

4.1.2 Auswirkungen transgener Pflanzen auf adulte Solitärbiene

Diese Studie verfolgte zwei Ziele: a) Die Belastung von sowohl transgenen Rapspflanzen, welche den Proteaseinhibitor (PI) Oryzacystatin 1 (OC-1) exprimieren als auch gereinigten insektiziden Proteinen auf die Lebensdauer von Solitärbiene zu untersuchen und b) das Profil der Verdauungsenzyme (Proteasen) dieser Solitärbiene zu charakterisieren und mögliche Veränderungen in der Enzymaktivität aufgrund von PI-Aufnahmen zu untersuchen. Die folgenden insektiziden Proteine wurden im ersten Teil der Studie in reiner Form getestet: OC-1, ein Trypsin Proteaseinhibitor aus der Sojabohne (SBTI), das *Bt*-Toxin Cry1Ab sowie das Schneeglöckchen-Lektin *Galanthus nivalis* Agglutinin (GNA)

Gene welche für PI kodieren, kommen natürlicherweise in einer Vielzahl von Pflanzen, Tieren und Mikroben vor. In Pflanzen können PI einen gewissen Schutz gegen pflanzenfressende Insekten bieten, indem sie spezifisch an proteolytische Enzyme im Insektendarm binden und diese dadurch deaktivieren. Diese direkte Inhibition der Eiweissverdauung induziert oft eine Überproduktion von Proteasen im Insektendarm beim Versuch die Inhibition zu überwinden. Der resultierende Mangel an essentiellen Aminosäuren kann zu einem repressiven Effekt auf Wachstum, Fruchtbarkeit und sogar Überleben von pflanzenfressenden Insekten führen. Solche negativen Effekte auf Insekten wurden beobachtet wenn den Insekten transgene, PI exprimierende Pflanzen als Futter verabreicht wurde und wenn das normale Futter mit PI versetzt wurde.

Hintergrund und Methoden

Die Lebensdauer von Bienen, die auf transgenem OC-1 Raps sammelten, unterschied sich nicht von der Lebensdauer von Bienen, die sich von Kontrollpflanzen ernähren. Die mittlere Lebensdauer der Bienen betrug 45,9 Tage ($\pm 5,01$) auf der OC-1 Linie und 52,1 Tage ($\pm 7,10$) auf der Isolinie. Beide Werte waren deutlich grösser als die Lebensdauer wie sie für *Osmia* unter Feldbedingungen bekannt ist.

Resultate für Lebensdauer

Unter den Gruppen von Bienen, welche die Insektizide, in Zuckerwasser gelösten Proteine verabreicht bekamen, ergaben sich Unterschiede bezüglich der Lebensdauer. Die Bienen welche GNA (0,01 % oder 0,1 %) oder eine hohe Dosis an SBTI (0,1 %) mit ihrer Diät erhielten, hatten eine deutlich reduzierte Lebensdauer, aber ebenso lebten Bienen die eine geringe Dosis von SBTI (0,01 %) oder eine hohe Dosis von OC-1 (0,1 %) erhielten signifikant weniger lang als die Kontrolle. Einzig die Lebensdauer von Bienen welche Cry1Ab oder eine tiefe Dosis von OC-1 erhielten, unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe.

Die Anfälligkeit einer Insektenart für bestimmte Proteaseinhibitoren hängt ab a) von der Bandbreite an Proteasen, welche im Verdauungstrakt der Insekten vorhanden sind und b) von ihrer Fähigkeit sich an aufgenommene Inhibitoren anzupassen, indem die ursprünglich vorhandenen, sensitiven Proteasen überproduziert werden oder indem auf insensitive Proteasen umgestellt wird. Eiweiss-verdauende Enzyme werden gemäss ihrem Wirkungsmechanismus generell in vier Grossgruppen eingeteilt: Serin-, Cystein-, Aspartyl- und Metalloproteasen.

Resultate für digestive Enzyme

Das Proteaseprofil vom Darmextrakt von adulten *O. bicornis* wurde in Enzymstudien mit Hilfe von synthetischen, klassenspezifischen Substraten und diagnostischen Proteaseinhibitoren untersucht. Für Cystein- und Metalloproteasen wurde gefunden, dass sie eine untergeordnete Rolle in der Proteinverdauung von *O. bicornis* spielten (jeweils ungefähr 20 % der totalen Aktivität), während keine Aktivität von Aspartylproteasen entdeckt wurde. Um die physiologische Reaktion von *O. bicornis* auf die Aufnahme von zwei PI, welche verschiedene Klassen von Proteasen angreifen, und um schädliche Effekte dieses metabolischen Stressors auf die Bienenlebensdauer zu charakterisieren, analysierten wir die proteolytische Aktivität im Mitteldarm von Bienen, welche entweder SBTI oder OC-1 erhielten. Der Konsum von OC-1 führte zu einer 30 % Erhöhung der generellen Hydrolyse im Vergleich zur Aktivität im Darmextrakt von Bienen der Kontrollgruppe. Die Charakterisierung dieser erhöhten Aktivität zeigt eine moderate Verstärkung der Produktion von Aspartyl- und wahrscheinlich serinen und cysteinen Proteasen, was auf einen komplexen Kompensationsmechanismus hindeutet, welcher sowohl die Überproduktion der ursprünglichen Proteasen als auch die Aktivierung von neuen, insensitive Proteasen umfasst. Der Verzehr von SBTI führte zu einer Erhöhung von mindestens 60 %, welches eine starke und effektive Kompensation für SBTI inhibiertes Trypsin anzeigt, da offensichtlich hohe Mengen an ungebundener Protease erreicht wurden. Die Charakterisierung dieser kompensatorischen Antwort auf SBTI brachte Änderungen im Proteaseprofil zum Vorschein, welche ähnlich und sogar stärker als in OC-1 gefütterten Bienen sind. Dies ist wahrscheinlich darauf zurück zu führen, dass serine Proteasen gegenüber cysteinen Proteasen eine dominantere Rolle im natürlichen Proteaseprofil von *O. bicornis* spielen.

Die Resultate der vorgelegten Studie zeigen, dass es sehr unwahrscheinlich ist, dass das *Bt*-Toxin Cry1A oder der cysteine Proteaseinhibitor OC-1 beim erwarteten Grad an Expression ein Risiko für adulte Bienen von *O. bicornis* darstellt. Das Lektin GNA, der serine Proteaseinhibitor SBTI, als auch eine unrealistisch hohe Konzentration von OC-1 reduzieren signifikant die Lebensdauer der Bienen. Das Resultat für GNA stimmt mit der gut dokumentierten insektiziden Aktivität dieses Proteins für eine breite Palette von Insektenarten überein. Effekte auf die Lebensdauer der Bienen durch die zwei PI können aufgrund der *in vitro* Enzymstudien interpretiert werden, welche auf ein eher komplexes Verdauungssystem hinweisen. Neben den serinen Proteasen, welche für den Grossteil der Eiweissverdauung im Mitteldarm von *O. bicornis* verantwortlich sind, kommen auch cysteine Proteasen und wahrscheinlich Metalloproteasen vor. Während die wichtige Rolle von serinen Proteasen mit dem übereinstimmt, was für die Honigbiene *Apis mellifera* bekannt ist, unterscheiden sich diese Resultate zu der Präsenz von cysteiner Enzymaktivität im Mitteldarm von *O. bicornis* von den meisten anderen Studien über die Proteaseaktivität in Bienen, da diese nicht über eine solche Aktivität im Bienendarm berichteten. Wie dem auch sei, die serine Enzymaktivität ist höchstwahrscheinlich essentiell für eine effektive Verdauung der mit der Nahrung aufgenommenen Eiweisse in *O. bicornis*, wie durch die stärkere physiologische Antwort auf Aufnahme von SBTI, verglichen mit OC-1, und dem stärkeren Effekt von SBTI auf die Lebensdauer der Bienen deutlich wurde. Diese Befunde zeigen die Wichtigkeit, dass sowohl das natürliche Proteaseprofil, als auch die Fähigkeit zur Produktion von alternativen Proteasen von wichtigen Nichtzielorganismen, in einer Abklärung des Umwelt-risikos von transgenen Pflanzen, welche PI exprimieren, mit in Betracht gezogen werden.

Zusammenfassung und
Bedeutung

4.1.3 Honigtau als möglicher Weg für die Exposition gegenüber transgenen Produkten

In Gebieten welche durch intensive Landwirtschaft dominiert sind, kann Pollen und Nektar rar sein und der von Pflanzensaft-saugenden Insekten ausgeschiedene Honigtau stellt wahrscheinlich die primäre Zuckerquelle dar. Während die Honigttaufnahme von Honigbienen gut dokumentiert ist, gibt es nur anekdotische Berichte für Hummeln und praktisch keine Information für Solitärbiene. Da der Honigtau aber das transgene Produkt einer schädlingsresistenten Pflanze enthalten kann und somit einen möglichen Expositionsweg für solche potentiell schädlichen Substanzen darstellen kann, ist das Wissen über den Beitrag des Honigtaus für die Ernährung der Solitärbiene im Rahmen einer Risikobeurteilung von genetisch veränderten Pflanzen von Bedeutung.

Hintergrund und Methoden

Um zu testen ob sich *O. bicornis* von Honigtau ernährt, wurden Weibchen in Feldkäfigen ausgesetzt, welche gefüllt waren mit a) Blattlaus-infizierten Rapspflanzen (nur Honigtau, d. h. keine Wahlmöglichkeit) oder b) blühenden nicht-infizierten Rapspflanzen welche Nektar liefern (nur Nektar, d. h. keine Wahlmöglichkeit) oder c) sowohl infizierten ALS AUCH blühenden Pflanzen (Wahlmöglichkeit zwischen Nektar und Honigtau). Zwei Arten von Blattläusen (die Grüne Pfirsichblattlaus *Myzus persicae* und die Kohlblattlaus *Brevicoryne brassicae*) wurden getestet. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) wurde benutzt, um das Zuckerprofil des Kropfinhaltes der Bienen zu untersuchen. Die Honigttaufnahme wurde durch direkte Beobach-

tung des Verhaltens und durch die Präsenz von Honigtau-spezifischen «Zeigezuckern» (üblicherweise Erlöse und Melozitose) beurteilt. Diese Oligosaccharide werden typischerweise durch Pflanzensaft-saugende Insekten synthetisiert und in den Honigtau abgegeben.

Keiner der Zeigezucker wurde im Kropf von ungefütterten, frisch geschlüpften Bienen entdeckt und es gab keinen Hinweis darauf, dass *O. bicornis* fähig ist, Honigtau-spezifische Zucker selber zu synthetisieren. Erlöse wurde nicht nur in Honigtau von sowohl *M. persicae* als auch *B. brassicae* gefunden (mit höheren Mengen im ersten Fall [6,4–14,5 % vs. 0,5–3,5 % des Gesamtzuckers]), sondern wurde auch im Kropf von Kontrollbienen nachgewiesen, welche im Labor gezielt mit Honigtau gefüttert wurden. Erlöse wurde somit als ein geeigneter Indikator für den Nachweis von Honigtaukonsum bei *O. bicornis* identifiziert. Allerdings ist der Nachweis nur während einer relativ kurzen Zeit nach der Honigttaufnahme möglich, da der Zuckergehalt des Kropfes bereits 24 Stunden nach Aufnahme stark abgenommen hatte und 96 Stunden nach Aufnahme ein Niveau erreicht hatte, das nicht von demjenigen von ungefütterte Bienen zu unterscheiden war.

Bienen aus denjenigen Käfigen mit blühenden Rapspflanzen (d. h. nur Nektar oder die Wahlmöglichkeit) zeigten hohe Zuckerwerte im Kropf und ein Zuckerprofil das sehr stark dem Nektar von Raps glich (d. h. stark dominiert durch Glukose und Fruktose). Bienen die nur Honigtau von *Brevicoryne* zur Auswahl hatten, zeigten extreme tiefe Werte an Gesamtzucker (29 von 33 Bienen tiefer als 1 µg Gesamtzucker in der Ernte). Der Indikatorzucker Erlöse wurde in keiner dieser Bienen gefunden. Bienen, welche nur den Honigtau von *Myzus* zur Verfügung hatten, zeigten ebenfalls relative tiefe Gesamtzuckerwerte, obwohl ein klarer Hinweis auf Verwendung von Honigtau in diesen Bienen gefunden wurde, da in ungefähr 50 % der Bienen Erlöse nachgewiesen werden konnte. Die Analysen des Kropfinhaltes mittels HPLC stimmten mit den direkten Verhaltensbeobachtungen überein; das Sammeln von *Myzus*-Honigtau wurde gelegentlich beobachtet, während die Aufnahme von *Brevicoryne*-Honigtau nie beobachtet wurde.

Die Resultate dieser Studie zeigen, dass *O. bicornis* eindeutig Blütennektar gegenüber Honigtau bevorzugt und Nektar als Zuckerquelle nutzt, wenn Blüten vorhanden sind. Wenn diese Erkenntnisse auf eine Feldsituation übertragbar sind, würden sie darauf hinweisen, dass es in Perioden und Gebieten mit ausreichendem Nektarangebot hoch unwahrscheinlich ist, dass Honigtau als Zuckerquelle genutzt wird. Daher würde Honigtau auch einen sehr unwahrscheinlichen Weg der Exposition gegenüber transgenen Produkten darstellen. Nichtsdestotrotz kann unter bestimmten Bedingungen, wenn beispielsweise andere Zuckerquellen spärlich vorhanden sind, die Aufnahme von Honigtau nicht komplett ausgeschlossen werden. Wir haben hier eindeutig gezeigt, dass *O. bicornis* dazu fähig ist Honigtau von Blattläusen zu verwenden, abhängig von der Art des Honigtaus und dem Angebot an alternativen Zuckerquellen. Daher schließen die Autoren, dass die Exposition von Bienen gegenüber transgenen Produkten via Honigtau in einer Risikoanalyse von transgenen schädlingsresistenten Pflanzen beachtet werden sollte, insbesondere falls das Produkt des Transgens im Pflanzensaft vorhanden ist.

Resultate

Zusammenfassung und
Bedeutung

4.2 Die Wirkung erhöhter Resistenz gegen Krankheitserreger auf die Interaktion mit symbiotischen Pilzen im Reis

Sylvain Marcel
Uta Paszkowski

4.2.1 Einleitung

Durch Mikroorganismen erzeugte Krankheiten führen zu hohen Verlusten in Zuchtpflanzen. Um Ertragsverluste zu vermindern, sind neue Zuchtstrategien dringend nötig. Bei genetisch veränderten Pflanzen (GVP) steht die Resistenz gegenüber Krankheitserregern, welche die oberirdischen Teile der Pflanze betreffen im Vordergrund. Dabei werden die Interaktionen der Wurzel ausser Acht gelassen. Es gibt jedoch zahlreiche Pathogene, die sowohl die oberirdischen Organe als auch die Wurzeln befallen können.

Der Pilz, der für den Reisbrand verantwortlich ist (*Magnaporthe oryzae*), kann z. B. sowohl Blätter als auch Wurzeln befallen. In beiden Fällen führt die Infektion zur Krankheit. Die Strukturen, die der Pilz für die Infektion von Blättern oder Wurzeln benützt, unterscheiden sich auch deutlich. Auch sind jeweils andere Gene des Pilzes für die Infektion der verschiedenen Pflanzengewebe verantwortlich.

Die Wurzel geht mit anderen Organismen auch nützliche Interaktionen ein. Ein prominentes Beispiel hierfür ist die arbuskuläre Mykorrhiza-Symbiose (AM). Diese Symbiose ist ein integraler Bestandteil der meisten Oekosysteme. Mehr als 80% der Gefäßpflanzen, einschliesslich der meisten Anbaupflanzen, gehen diese Symbiose ein. Es ist ökologisch äusserst wichtig, die Effekte von transgenen Resistenzen gegenüber Pathogenen auf die Mykorrhiza-Symbiose hin zu prüfen.

Bei der AM Symbiose handelt es sich um eine der ältesten Symbiosen, die vor mehr als 400 Mio Jahren entstand. Daher kann man sie als Urform der Interaktion zwischen Pflanzen und Mikroorganismen betrachten. Es wurde beschrieben, dass zum Teil dieselben genetischen Elemente der Pflanze sowohl an der AM Symbiose, als auch an jüngeren Interaktionen beteiligt sind. So wird eines dieser Elemente, die Rezeptor-ähnliche Proteinkinase SYMRK von *Lotus japonicus*, für die Früherkennung der AM Pilze, der Rhizobien und der Nematoden benötigt. Ein weiteres Beispiel sind die pflanzlichen Strigolactone, welche von AM Pilzen und von parasitären Pflanzen als Signale erkannt werden.

Man kann daher nicht ausschliessen, dass eine erhöhte Resistenz gegenüber Pathogenen auch einen Einfluss auf die Empfänglichkeit für die AM Symbiose hat. Dieser Aspekt sollte daher sorgfältig untersucht werden.

Invasive Pilze werden graduell in obligate Biotrophe (darunter die arbuskulären Mykorrhiza Pilze), Hemibiotrophe und Nekrotrophe eingeteilt. Biotrophe Mikroorganismen ernähren sich von lebenden Wirtszellen, während Nekrotrophe diese zunächst abtöten und deren Inhalt als Nahrungsquelle verwenden. Je nach Art der Invasion werden unterschiedliche Signalketten in der Pflanze aktiviert. Dies zeigten die intensiven Studien der vergangenen Jahre mit Blattpathogenen der Ackerschmalwand (*Arabi-*

dopsis thaliana). Die Salicylsäure (salicylic acid, SA), welche als Signal die systemisch aktivierte Resistenz (SAR) und den programmierten Zelltod vermittelt, ist in der Interaktion mit Biotrophen impliziert. Jasmonsäure (jasmonic acid, JA) und Ethylen hingegen, vermitteln die Abwehr gegen Nekrotrophe. In Arabidopsis spielt das Gen *AtNPR1* eine zentrale Rolle bei der Regulierung der Signalkette, welche zur SAR führt. Gleichzeitig wird dabei die «JA-Signalkette» unterdrückt. Eine Überexpression von NPR1 führt in Arabidopsis zur Resistenz gegenüber zwei biotrophen Pathogenen (*Peronospora parasitica*, ein Pilz und *Pseudomonas syringae*, ein Bakterium). Auch im Reis (*Oryza sativa*) führt Überexpression von *OsNPR1* zur Resistenz der Blätter gegenüber bakteriellen und pilzlichen Pathogenen (*Xanthomonas oryzae* und *Magnaporthe oryzae*).

Weitere wichtige Regulatoren der Abwehrmechanismen, welche in diesem Forschungsprojekt verwendet wurden sind der Transkriptionsfaktor WRKY, der unter anderem NPR1 reguliert, sowie die GTPase OsRac. Überexpression jedes einzelnen dieser Elemente führt zu Resistenz gegenüber Pathogenen.

4.2.2 **Ansatz**

In einem ersten Ansatz, wurden transgene Reislinien mit erhöhter Pathogenresistenz daraufhin untersucht, welchen Effekt die Transgene auf Wurzelinteraktionen haben. Als Pilze wurden der hemibiotrophe Pathogen *Magnaporthe oryzae* und der biotrophe Mykorrhizapilz *Glomus intraradices* gewählt. Das Pathogen wurde ausgewählt, weil es a) einen vergleichbaren Infektionsmodus wie *Glomus* hat, was einen direkten Vergleich erlaubt und b) weil es sowohl Wurzeln wie Blätter befällt und sich somit für die Fragestellung eignet. Dazu wurde ein Pilz verwendet, der zusätzlich GFP (green fluorescent protein) exprimiert (Linie Guy11), was erlaubt seine Entwicklung unter dem Fluoreszenz-Mikroskop zu verfolgen.

Alle verwendeten transgenen Reislinien sind in ihrer Expression der zentralen Abwehr-Regulatoren welche zuvor vorgestellt wurden beeinflusst.

- > *OsNPR1*: Linie mit Überexpression des Regulators der SA-vermittelten Antworten
- > *OsWRKY71*: Überexpression des Transkriptionsfaktors und
- > *OsRac1*: Linie mit konstitutiver Expression aktiver GTPase

Diese Zusammenfassung beschränkt sich auf die Darstellung der Resultate mit *OsNPR1*.

Der zweite Ansatz befasst sich mit komplementären Aspekten der Abwehr, wie die Phytoalexin-Produktion oder die zelluläre Dynamik im Zusammenhang mit der biotrophen Interaktion. Dieser Ansatz beinhaltet die Generierung neuer transgener Linien. Detaillierte Reis Expressionsdaten stehen dabei zur Verfügung. Die Autoren identifizierten Reisgene, welche bei der Kolonisierung von je dem biotrophen *Glomus intraradices*, dem semibiotrophen *Magnaporthe oryzae* und dem nekrotrophen *Fusarium moniliforme* induziert waren. Für weitere Studien, konzentrierten sich die Autoren auf Gene, die bei allen drei Interaktionstypen differenziert exprimiert werden und auf

andere, die auf biotrophe und hemibiotrophe, nicht aber auf necrotrophe Interaktionen reagieren. RNA-Interferenz Linien für fünf Gene und Kombinationen davon wurden generiert, jedoch noch nicht abschliessend untersucht.

4.2.3 Resultate

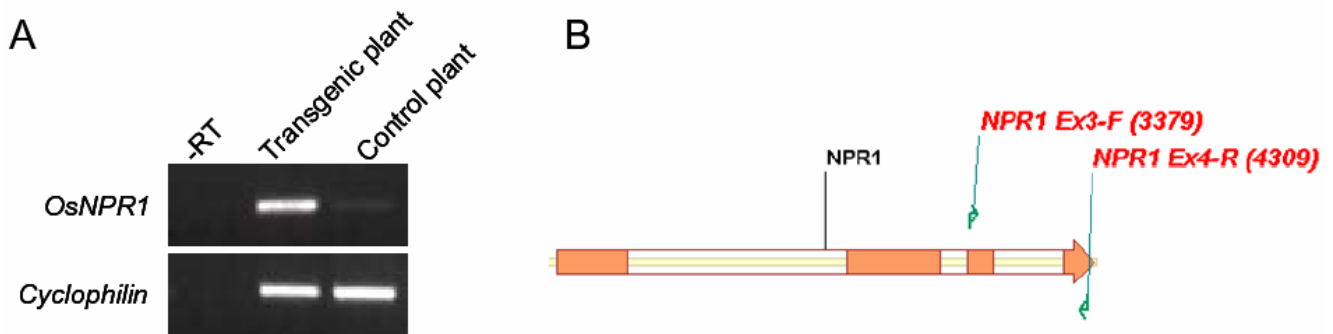
In der Reislinie *OsNPR1* wird *OsNPR1* auch in Wurzeln überexprimiert (Abb. 5)

Abb. 5 > Expressionsanalyse von *OsNPR1* in der *OsNPR1* Reislinie («transgenic plant») und in der Kontrolllinie (control plant) mit RT-PCR

Schematische Darstellung des *OsNPR1* Gens und Positionen der PCR Primer (grüne Pfeile)

Cyclophilin aus Reis wurde als Standard verwendet.

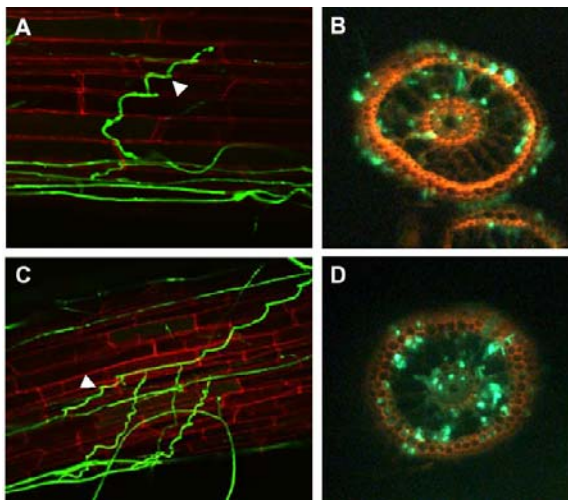
Orange Kästchen sind Exone und leere Kästchen Introne.



Um die Wirkung der Überexpression von *OsNPR1* auf die Anfälligkeit der Reiswurzel gegenüber *M. oryzae* und *G. Intraradices* zu testen, wurden Wurzeln der überexprimierenden Linie, sowie der Kontrolle mit Konidien von *M. oryzae* oder mit Sporen von *G. Intraradices* inokuliert. Vier Tage nach der Infektion war *M. oryzae* in die äusseren Zellschichten der Wurzeln der Wildtyppflanze und der Vektorkontrolle, erstaunlicherweise aber auch der *OsNPR1* überexprimierenden Pflanzen eingedrungen (Abb. 6). Typisch für biotrophes Wachstum war kein Zelltod zu erkennen. In allen Pflanzen wurden auch 2 bis 3 Wochen nach der Inokulation keine Krankheitssymptome beobachtet. Diese Resultate zeigen, dass obschon die Überexpression von *OsNPR1* zur erhöhten Resistenz in Blättern führt, die Wurzeln dieselbe Anfälligkeit wie der Wildtyp haben.

Abb. 6 > Mit *M. oryzae*- infizierte Reiswurzeln im Quer- und Längsschnitt

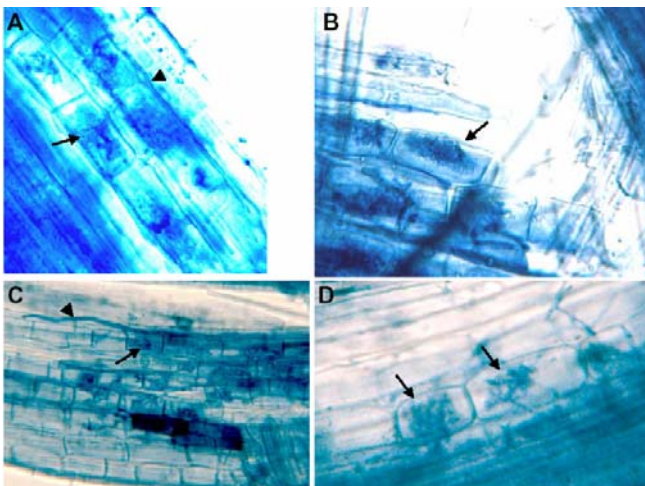
Die Wurzelzellen sind rot gefärbt. Pilzliche Strukturen sind hellgrün zu erkennen, da es sich um den GFP exprimierenden Stamm Guy11 handelt. Reis Kontrolllinien (A, B) und OsNPR1-überexprimierender Reis (C, D) Auf den Bildern ist die Entwicklung des Pilzes in Epidermiszellen nach sechs Tagen in der Kontrolle a) und in der transgenen Linie c) zu sehen. Auf den Bildern rechts (nach 12 Tagen) ist ersichtlich, dass der Pilz das Leitgewebe in beiden Pflanzentypen erreicht hat.



Mit *G. Intraradices* inokulierte Wurzeln wurden nach 6–10 Wochen gesammelt, präpariert und angefärbt. Die Pilzstrukturen wurden in den Wurzeln qualitativ und quantitativ ausgewertet. Im Wildtyp- sowie in *OsNPR1*-überexprimierenden Wurzeln wurden vergleichbare *G. Intraradices* Strukturen gefunden. Es gab keinen Hinweis auf Unterschiede (Abb. 7).

Abb. 7 > Mit Trypanblau gefärbte Reiswurzeln der Kontrolle (A, B) und der transgenen *OsNPR1* überexprimierenden Pflanzen (C, D)

Beide Pflanzen wurden von *G. Intraradices* kolonisiert. Pilzliche Strukturen sind dunkelblau zu erkennen: Hyphen im Inneren der Wurzeln (Pfeilspitzen) und Arbuskeln (Pfeile) haben sich in beiden Pflanzen gebildet.



4.2.4 Schlussbemerkung

Diese Arbeit hat gezeigt, dass eine transgene Reispflanze *OsNPR1* die gegenüber einem Pathogenen (*M. oryzae*) auf den Blättern resistent ist, in den Wurzeln anfällig für denselben Pilzpathogen bleibt. Somit ist Blattresistenz nicht unbedingt mit systemischer Resistenz der ganzen Pflanze gleichzusetzen. Gleichzeitig lässt sich die Pflanze durch Mykorrhiza kolonisieren. Die Kolonisierung der Wurzeln mit Mykorrhiza geschieht unabhängig von einer erhöhten Expression von *OsNPR1*.

Publikationen

Paszkowski U. 2006: Curr Opin Plant Biol 9: 364–70.

4.3 Einfluss der Transgenosis auf die Pflanzen-Insekten-Beziehungen im Apfel-System, insbesondere auf chemisch vermittelte Wechselwirkungen

Ute Vogler
Anja Rott
Cesare Gessler
Silvia Dorn

4.3.1 Gesunde, frische Nahrung und Sortenwahl

Die Gesellschaft verlangt die Versorgung mit frischen, gesunden Nahrungsmitteln. Um diese Erwartungen zu erfüllen, ist der Pflanzenschutz in den Vordergrund gerückt. Gegenwärtig benötigen Apfelbäume, selbst unter den ökologischsten Anbauformen, mehr als ein dutzend Behandlungen pro Jahr zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten. Darunter fällt zum Beispiel auch besonders die Bekämpfung der weltweit verbreiteten Schorfkrankheit. Der Wildapfel (*Malus floribunda* 821) besitzt die *Vf*-Resistenz, die zu einer erhöhten Widerstandskraft gegen diese Pilzkrankheit führt. Mittels Transgenosis konnte die *Vf*-Resistenz auf die anfällige Apfelsorte (*Malus x domestica*) «Gala» übertragen werden («Gala-trans*Vf*»). Ebenfalls verfügbar ist eine transgene Sorte «Gala-trans0», die das entsprechende transgene Konstrukt ohne Resistenzgen, jedoch mit Promoter und Selektionsgen besitzt. Die beiden zum Vergleich herbeigezogenen Kultursorten sind die schorfanfällige Sorte «Gala» und die klassisch gezüchtete schorffresistente Sorte «Florina» mit *Vf*-Resistenz.

Die Verwendung dieses Sets an transgenen und nicht transgenen Apfelsorten ermöglicht einen neuen Ansatz für die biologische Vergleichsprüfung von GVOs die über die klassische Vergleichsprüfung beispielsweise zwischen transgener *Bt*-Pflanze und nicht-transgener Pflanze ohne *Bt* weit hinausgeht.

Zusammenfassend wurden folgende Sorten in die Gewächshausversuche einbezogen, um zu gut abgestützten Aussagen zu gelangen:

Tab. 6 > Beschreibung der verwendeten Apfellinien

Bezeichnung	Gala	Gala-trans0	Gala-transVf	Florina
Eigenschaften	Kultursorte	Transgen	Transgen	Kultursorte
Genotyp	ohne Resistenzgen	mit CaMV 35S Promoter, Selektionsmarker <i>nptIII</i> , <u>ohne</u> Resistenzgen «Vektorkontrolle»	mit CaMV 35S Promoter, Selektionsmarker <i>nptIII</i> mit Resistenzgen <i>HcrVf2</i>	mit Resistenz <i>Vf</i>
Schorf	Anfällig	Anfällig	Resistent	Resistent

4.3.2 Die Forschungsfragen

Zum Einfluss transgener Apfelsorten auf Pflanzen-Insekten-Beziehungen, besonders auf chemisch vermittelte Wechselwirkungen, standen in diesem Projekt folgende Forschungsfragen im Vordergrund:

1. Wie beeinflusst die Apfelsorte die Entwicklungszeit des Apfelblattminierers (*Phylloponycter blancardella*)? Der Blattminierer entwickelt sich als Raupe im Inneren des Apfelblatts, was auf der Blattoberfläche als Mine erkenntlich ist. Er ist bei der schorffresistenten transgenen Apfelsorte ein Nicht-Zielorganismus. Die naheliegende Hypothese war damit «kein Unterschied zwischen der schorffresistenten transgenen Sorte «Gala-transVf» und der entsprechenden schorfanfälligen Kultursorte «Gala»».
2. Wie beeinflusst die Apfelsorte den Gehalt am langkettigen Terpen Squalen auf der Blattoberfläche bei Blattminierer-befallenen Pflanzen? Dieses sekundäre pflanzliche Stoffwechselprodukt spielt eine zentrale Rolle für einen natürlichen Gegenspieler des Blattminierers, die Schlupfwespe *Pholetesor* sp. Dieser Parasitoid ortet den schädlichen Blattminierer, der im Apfelblatt verborgen ist, mittels ganz bestimmter, kritischer Konzentrationen von Squalen auf der Blattoberfläche, wie für die Apfelsorte «Golden Delicious» nachgewiesen wurde. Da auch der Parasitoid bei schorffresistenten transgenen Apfelsorten ein Nicht-Zielorganismus ist, lautet die naheliegende Hypothese erneut «kein Unterschied zwischen der schorffresistenten Sorte «Gala-transVf» und der entsprechenden schorfanfälligen Kultursorte «Gala»».
3. Wie beeinflusst die Apfelsorte die Emission von Duftstoffen? Die von gesunden oder Blattminierer-infizierten Apfelsorten freigelassenen Duftstoffe können das Verhalten von Insekten in der Umgebung beeinflussen, und damit wesentlich auf den Gesundheitszustand der Pflanze einwirken. Veränderungen im Duftstoffgemisch können beispielsweise dazu führen, dass Schadinsekten plötzlich angezogen oder Nutzinsekten weggelenkt werden, da diese Nicht-Zielorganismen die chemische Nachricht im Duftstoffgemisch entziffern können. Die naheliegende Hypothese lautet wiederum «kein Unterschied zwischen der schorffresistenten transgenen Sorte «Gala-transVf» und der entsprechenden schorfanfälligen Sorte «Gala»».

4.3.3 Vergleichende Befunde bei den verschiedenen Apfelsorten

Die Befunde der biologischen Experimente lassen sich wie folgt zusammenfassen: Der Genotyp beeinflusst die Unterschiede in der Entwicklungsdauer, die aufgrund des phänotypischen Zustands der Pflanze einer natürlichen Variabilität unterworfen ist.

Entwicklungszeit des Apfelblattminierers und Anzahl geschlüpfter Falter

- > Der Blattminierer entwickelte sich im vorliegenden Versuch schneller auf der schorfresistenten transgenen Apfelsorte «Gala-transVf» als auf der entsprechenden Kultursorte «Gala». Eine schnelle Entwicklung des Minierers ist ungünstig aus Sicht der Pflanzengesundheit. Einerseits besteht die Gefahr, dass mehr Generationen des Schadinsekts pro Jahr ihren Zyklus vollenden können und der Schaden damit ansteigt; starker Miniererbefall kann zu vorzeitigem Blattfall und Ertragseinbussen bis ins Folgejahr hinein führen. Andererseits wird das Zeitfenster für den Angriff durch natürliche Feinde wie den Raupenparasitoiden *Pholetesor circumscriptus* enger, was die Gefahr einer verringerten Parasitierung und damit eines grösseren Schadens in sich birgt. Beschränkte man sich auf diesen Vergleich (Sorten «Gala» und «Gala-transVf»), würde man leicht auf negative Effekte der transgenen Pflanzen schliessen.
- > Die klassisch gezüchtete Apfelsorte «Florina» mit dem gleichen Resistenzgen wie die transgene Sorte «Gala-transVf» wurde zusätzlich in das Experiment zum Vergleich einbezogen. Die Apfelsorte «Florina» spielt im Biolandbau eine wichtige Rolle. Bezogen auf diese Apfelsorte ist die Entwicklungsdauer des Minierers auf der transgenen Pflanze «Gala-transVf» nicht mehr verschieden. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass die durch das Resistenzgen *HcrVf2* vermittelte Resistenz der Apfelpflanze an sich, und nicht die Tatsache einer transgenen Herkunft, für die gemessenen Unterschiede verantwortlich sind. Ein unerwünschter Effekt der transgenen Pflanze «Gala-transVf» wurde damit nicht festgestellt.
- > Vielfach wird auch die Frage aufgeworfen, wie weit das transgene Konstrukt «Gala-trans0» mit Marker und Promoter, das heisst ohne das Resistenzgen, die Pflanze mit ihren Eigenschaften verändern könnte. Dieser Genotyp wurde deshalb ebenfalls zum Vergleich ins Experiment einbezogen. Bemerkenswerterweise unterscheidet sich die Entwicklungsdauer des Minierers auf dieser Sorte weder von jener auf der entsprechenden nicht-transgenen Kultursorte «Gala» noch von jener der schorfresistenten transgenen Sorte «Gala-transVf». Ein unerwünschter Effekt der transgenen Sorte «Gala-trans0» wurde damit nicht festgestellt.
- > Die Anzahl der geschlüpften Blattminierer-Falter war innerhalb der Sorten der «Gala»-Linie nicht unterschiedlich. Dagegen war die Anzahl der geschlüpften Falter bei der Kultursorte «Florina» tiefer als bei der Kultursorte «Gala», was erneut auf die Sensibilität des gewählten Systems hinweist.

Die Befunde aus den chemischen Analysen für die verschiedenen Apfelsorten lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Gehalt am Terpen Squalen auf der Blattoberfläche

- > Aufgrund der veröffentlichten Untersuchungen mit Sämlingen der Kultursorte «Golden Delicious» wurde erwartet, dass Extrakte von Blattminierer-befallenen Blättern einen höheren Squalen-Gehalt aufweisen als jene von gesunden Blättern der gleichen Sorte. Dies traf jedoch für «Gala-transVf» nicht zu; der Squalen-Gehalt war

vergleichbar. Um dieses Ergebnis korrekt zu interpretieren, müssen weitere Vergleichsexperimente einbezogen werden.

- > Die resistente Kultursorte «Florina» wies bei den gesunden Pflanzen einen tiefen Squalen-Gehalt auf, vergleichbar jenem bei «Gala-transVf», bei den Blattminierer-infizierten Pflanzen war der Gehalt jedoch erheblich höher. Damit verhält sich «Florina» wie «Golden Delicious».
- > Die Kultursorte «Gala» wies bei gesunden Pflanzen ebenfalls einen tiefen Squalen-Gehalt auf. Allerdings liess sich kein Unterschied im Squalen-Gehalt zwischen gesunden und Blattminierer-infizierten Pflanzen feststellen, was bisher unbekannt war. Auch bei den mitgeprüften Sorten «Gala-trans0» und «Gala-transVf» trat kein Unterschied auf, womit sich die Pflanzen innerhalb der «Gala'-Linie gleich verhalten.

Erste Auswertungen unserer chemischen Analysen weisen auf folgende Befunde hin:

Duftstoffemissionen

- > Unterschiedliche Emissionen zwischen den Genotypen wurden bei den Terpenen (*E,E*)- α -Farnesen, Caryophyllen und Ocimen gemessen. Für das Sesquiterpen (*E,E*)- α -Farnesen ist eine Wirkung auf anfliegende Schadinsekten (Apfelwickler; *Cydia pomonella*) nachgewiesen, die konzentrationsabhängig von Anziehung bis Abstossung reicht, was auf seine verhaltensaktive Rolle hinweist.
- > Die Unterschiede der Duftstoffemissionen sind signifikant zwischen den beiden Kultursorten «Gala» und «Florina».
- > Punktuelle Unterschiede innerhalb der «Gala'-Linie erfordern weitere Analysen. Die Ergebnisse von «Gala-transVf» und «Gala-trans0» liegen konsistent zwischen den Werten für die beiden Kultursorten.

4.3.4 **Folgerung**

Das gewählte System (einschliesslich der Methodik) erlaubt die Messung subtiler Unterschiede zwischen zwei Kulturapfelsorten. Es ist damit ausreichend sensibel und qualifiziert sich für das Monitoring von unerwünschten Nebenwirkungen. Alle gemessenen Werte für die geprüften transgenen Pflanzen liegen im Bereich zwischen den zwei Kultursorten.

4.3.5 **Publikationen**

Vogler U., Rott A.S., Gessler C., Dorn S. 2009 (im Druck): Comparison between volatile emissions from transgenic apples and from two representative classically bred apple cultivars. *Transgenic Research*.

Vogler U., Rott A.S., Gessler C., Dorn S. 2009 (im Druck): Terpene-mediated parasitoid host location behavior on transgenic and classically bred apple genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

4.3.6 Würdigung

Mit dem 4. Modul des Forschungsprogramms wurden drei sehr unterschiedliche Aspekte von möglichen Auswirkungen auf Nicht-Zielorganismen untersucht. Für alle Methoden konnte gezeigt werden, dass sie genügend sensitiv sind und für Risikountersuchungen im Hinblick auf mögliche Freisetzungen von gentechnisch veränderten Pflanzen verwendet werden können.

Es hat sich gezeigt, dass die verwendeten gentechnisch veränderten Modellpflanzen kaum Auswirkungen auf die untersuchten Nicht-Zielorganismen haben, auch wenn es auf den ersten Blick so aussehen könnte, wie es am Beispiel mit den transgenen Apfelbäume gezeigt werden konnte. Auf der anderen Seite hat es bei der Verfütterung von den transgenen Proteinen an die adulten Bienen doch gewisse Auswirkungen auf die Darmaktivität und Überlebensfähigkeit gegeben, auch wenn sie unter eher unrealistischen Bedingungen gemessen wurden. Hier stellt sich die Frage, wie die Lebensdauer der Bienen unter realistischen Bedingungen aussehen würde, wenn die Belastungen durch die GVO mit weiteren Umweltbelastungen kombiniert würden. Könnten die Bienen diese doppelte Belastung noch kompensieren oder würde die Mortalität rapide ansteigen?

Sorgfältige und gut konzipierte Tests sind notwendig um voreilige Schlüsse zu verhindern. Vor allem das letzte der drei Projekte hat dies aufgezeigt. Deshalb ist eine intensive und kritische Auseinandersetzung mit Forschungsergebnissen im Rahmen von Risikoevaluationen unerlässlich.

Würdigung des BAFU

> Verzeichnisse

Abkürzungen

Allgemeine Überwachung

Überwachung von unerwarteten Veränderungen

Bt

Bacillus thuringiensis. Bodenbacterium das insektizide «Cry» Proteine bildet.

Bt-Mais

Transgener Mais, der eines oder mehrere *cry* Gene exprimiert und somit Cry Proteine bildet.

Cry

Gruppe insektizider, cristalliner Proteine des *Bacillus thuringiensis*

cry1Ab

Gen das Cry Protein 1Ab kodiert

Fallspezifisches Monitoring

Überwachung einer Messgröße, für welche Veränderungen auf Grund einer Hypothese möglich sind

Gentechnik

Technologien, welche es erlauben gerichtete Veränderungen im Erbgut eines Organismus zu bewirken

Glyosate

Breitspektrum Herbizid, unter dem Namen Roundup™ vermarktet

GVO

Mittels Gentechnik genetisch veränderte Organismen / genetisch veränderter Organismus

GVP

genetisch veränderte Pflanze(n)

Indikator

Gewählte Messgröße, welche Effekte aufzeigen kann

Risikoforschung

Untersuchungen über Risiken, welche vor der Vermarktung gemacht werden

transgen

ein künstlich (gentechnisch) eingebrachtes genetisches Element enthaltend

PMM

Anbauleitendes Monitoring. Beobachtungen und Datenerfassung nach der Einführung einer GVP auf dem Markt

Abbildungen

Abb. 1

Schaffung der Grundlagen für den behördlichen Entscheidungsprozess

27

Abb. 2

Risikomatrix

45

Abb. 3

Litter bag gefüllt mit trockenen Maisblättern

55

Abb. 4

Bt-Toxin Konzentration (MW ± SA) in seneszenten Blättern von N4640Bt, Mon810 (Cry1Ab) und Mon88017 (Cry3Bb1) während neun Monaten

55

Abb. 5

Expressionsanalyse von *OsNPR1* in der *OsNPR1* Reislinie («transgenic plant») und in der Kontrolllinie (control plant) mit RT-PCR

66

Schematische Darstellung des *OsNPR1* Gens und Positionen der PCR Primer (grüne Pfeile)

66

Abb. 6

Mit *M. oryzae*- infizierte Reisswurzeln im Quer- und Längsschnitt

67

Abb. 7

Mit Trypanblau gefärbte Reisswurzeln der Kontrolle (A, B) und der transgenen *OsNPR1* überexprimierenden Pflanzen (C, D)

67

Tabellen

Tab. 1

Die in Projektteil «Schutzziele» engere Auswahl der Schutzgüter

32

Tab. 2

Für das Schutzgut «Biodiversität» identifizierte Indikatoren

33

Tab. 3		
Mögliche Indikatoren für weitere Schutzgüter	33	
Tab. 4		
Vergleich der beiden ausgearbeiteten Varianten für ein Erhebungsdesign	34	
Tab. 5		
Zusammenfassung der Machbarkeitsstudien für drei Beispiel-Indikatoren für ein GVP-Monitoring	35	
Tab. 6		
Beschreibung der verwendeten Apfelinien	69	