



Stellungnahme der EFBS

zum Gesuch B00003

des Institutes für Pflanzenwissenschaften der ETH Zürich

Verhalten von transgenen KP4-Weizen Varietäten im Feld

5. September 2001

Inhaltsverzeichnis

1. Ausgangslage	3
2. Beurteilung des Versuchs	3
2.1. Einleitung	3
2.2. Ziel des Versuchs	3
3. Beurteilung des KP4-Weizens	3
3.1. Gentechnische Veränderungen	3
3.1.1. Notwendigkeit der gentechnischen Veränderungen	4
3.1.2. Antibiotika-Resistenzen	5
3.2. Expression des <i>kp4</i> -Gens	5
3.2.1. Molekularer Mechanismus von KP4	5
3.2.2. Toxizität von KP4	5
3.2.3. Auswirkungen von KP4	6
3.3. Umwelteinwirkungen	6
3.3.1. Einwirkungen auf Nichtzielorganismen	7
3.3.1.1. Gentransfer durch Pollenflug	7
3.3.1.2. Horizontaler Gentransfer auf Mikroorganismen	8
3.3.2. Persistenz der transgenen Pflanzen im Freiland	8
4. Beurteilung des Freisetzungsortes	8
4.1. Versuchsgelände	8
4.2. Ökosystem	8
5. Beurteilung des Sicherheitsaspektes	9
5.1. Untersuchungen zur Biosicherheit	9
5.2. Sicherheitsmassnahmen während und nach der Versuchsdurchführung	10
5.3. Öffentlichkeit	10
6. Schlussfolgerungen	11
7. Kritische Diskussionspunkte	12

1. Ausgangslage

Die Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit (EFBS) ist eine ständige Verwaltungskommission des Bundes, die im Bereich der Gen- und Biotechnologie zum Schutz von Mensch und Umwelt tätig ist. In dieser Funktion berät sie den Bundesrat bei der Ausarbeitung gesetzlicher Grundlagen sowie die Behörden beim Vollzug derselben, und nimmt namentlich Stellung zu Bewilligungsgesuchen, die im Zusammenhang mit gentechnisch veränderten oder pathogenen Organismen stehen. Anträge auf Freisetzungen mit gentechnisch veränderten Organismen werden der EFBS zur Stellungnahme und Beurteilung im Hinblick auf mögliche Risiken für Mensch und Umwelt unterbreitet.

In seinem Schreiben vom 19. Januar 2001 ist das BUWAL mit der Bitte an die EFBS gelangt, das Gesuch B00003, Verhalten von transgenen KP4-Weizen Varietäten im Feld, zu begutachten. Die EFBS hat sich an den Sitzungen vom 6. Februar und 28. August 2001 mit dem Gesuch auseinandergesetzt, über die Versuchsdurchführung abgestimmt und im Anschluss daran die vorliegende Stellungnahme erarbeitet.

2. Beurteilung des Versuchs

2.1. Einleitung

Im geplanten Versuch sollen transgene Weizenpflanzen, die ein Resistenzgen gegen Stinkbrand (*Tilletia tritici*) enthalten, im Freiland getestet werden. Stinkbrand ist eine sehr infektiöse samenbürtige Pilzkrankung, die zu hohen Ertragseinbussen führen kann. Das Resistenzgen stammt aus einem doppelsträngigen RNA-Virus, das *Ustilago*-Stämme infiziert und für das sogenannte Killerprotein 4 (KP4) codiert, welches in der Lage ist, das Wachstum von Pilzmyzelien zu unterdrücken und damit den Lebenszyklus des Pilzes zu unterbrechen.

2.2. Ziel des Versuchs

Es handelt sich um Grundlagenforschung, die zum Ziel hat, die Wirkungsweise von KP4 in Bezug auf die Resistenz der transgenen Weizenpflanzen gegen Stinkbrand im Freiland zu untersuchen. Ausserdem sollen verschiedene Aspekte der biologischen Sicherheit sowie Interaktionen mit Nichtzielorganismen in die Untersuchungen mit einbezogen werden. Mit den verwendeten transgenen Weizenpflanzen ist in dieser Form zum jetzigen Zeitpunkt kein Inverkehrbringen geplant.

3. Beurteilung des KP4-Weizens

3.1. Gentechnische Veränderungen

Die Weizenpflanzen enthalten im Vergleich zu den Wildtypen drei zusätzliche Gene.

- a) *bar*-Gen: dieses Gen wurde aus dem Bodenbakterium *Streptomyces hydroscopicus* isoliert und codiert für die Phosphinotricin-Acetyl-Transferase (PAT). Dieses Enzym inaktiviert den als Herbizid eingesetzten Wirkstoff Phosphinotricin (PPT) und vermittelt dadurch Resistenz gegen dieses Herbizid. In Kombination mit pflanzenspezifischen Promotersequenzen hat sich das *bar*-Gen als guter Selektionsmarker für die Kontrolle der Transformation von Pflanzen erwiesen.

- b) *bla*-Gen: dieses Gen codiert für eine weit verbreitete β -Lactamase bakteriellen Ursprungs, die Resistenz gegenüber dem Antibiotikum Ampicillin vermittelt. Das *bla*-Gen kommt auf verschiedenen Klonierungsvektoren vor und wurde neben der erwünschten Genkassette als weitere Sequenz des Vektors pUC19 ins Weizengenom eingebracht. Da das *bla*-Gen jedoch nicht an pflanzliche Promotersequenzen gekoppelt ist, ist eine Expression im Pflanzengenom sehr unwahrscheinlich.
- c) *kp4*-Gen: dieses Gen stammt aus einem doppelsträngigen RNA-Virus, das verschiedene Stämme des pilzlichen Schaderregers *Ustilago maydis* infiziert (Maisbeulenbrand). Die Expression des *kp4*-Gens wird von dem aus Mais stammenden konstitutiven Ubiquitinpromoter gesteuert.

Die transgenen Pflanzen sind auf der molekularen Ebene für einen kleinflächigen Versuch genügend charakterisiert, das gilt jedoch nicht für eine allfällige Kommerzialisierung. Bei allen drei Transgenen sind weder die genaue Anzahl der integrierten Kopien und die Anzahl Fragmente derselben, noch der Ort der Insertion im Genom bekannt. Die Kenntnis der Insertionsstelle ist grundsätzlich jedoch erwünscht, da nicht *a priori* ausgeschlossen werden kann, dass die Insertion eines Fremdgens die Expression oder Regulation pflanzeigener Gene am bzw. in der Nähe des Insertionsorts beeinflusst.

Bei den verwendeten Pflanzen handelt es sich um heterozygote Populationen, die in Bezug auf das Transgen in der Tochtergeneration entsprechend einem dominanten Locus segregieren. Im Rahmen dieses Versuchs ist das nicht von Bedeutung, für weitere Freisetzungsversuche und insbesondere für eine allfällige Kommerzialisierung ist jedoch das Herstellen von homozygoten Linien Voraussetzung.

Auf der funktionalen Ebene sind die Pflanzen nur in Bezug auf die Gene *bla* und *bar* gut charakterisiert, über die Funktion des *kp4*-Genproduktes ist dagegen noch relativ wenig bekannt.

3.1.1. Notwendigkeit der gentechnischen Veränderungen

Für die gewünschte Resistenzwirkung sind die Gene *bar* und *bla* nicht nötig und deshalb grundsätzlich unerwünscht, was auch von den Gesuchstellern ausdrücklich betont wird. Beide Gene wurden im Zuge der Herstellung der transgenen Weizenpflanzen als Selektionsmarker respektive als Teil des Klonierungsvektors eingeführt. Sie sollten weder auf die Wirkungsweise von KP4 noch auf die übrigen Eigenschaften des Weizens einen Einfluss haben. Das Entfernen dieser Gene ist technisch möglich, ist jedoch mit einem grösseren Aufwand verbunden. Deshalb kann zum jetzigen Zeitpunkt davon abgesehen und zugewartet werden, bis sich eine positive Wirkungsweise des *kp4*-Genproduktes auch unter Freilandbedingungen bewahrheitet. Spätestens für grossflächige Freisetzungen und eine allfällige Kommerzialisierung muss zumindest das *bla*-Gen zwingend entfernt werden.

3.1.2. Antibiotika-Resistenzen

Die transgenen Pflanzen enthalten ein Antibiotika-Resistenzgen für Ampicillin, das auch zu medizinischen Zwecken verwendet wird. Ampicillin-Resistenzgene kommen auch natürlicherweise in verschiedenen Bakterien vor. Wie in der Studie der FAL in der Vegetationshalle Reckenholz gezeigt werden konnte, liessen sich in 1 g Boden rund 10^5 Ampicillin-resistente Bakterien nachweisen. Dieses Ergebnis stimmt mit anderen Studien überein, die Ampicillin-resistente Bakterien im Boden (G.R. Xavier *et al.*, 1998, in: *Biology and fertility of Soils* 27, 386-392) und in Abfall (T. Kelley *et al.*, 1998, in: *Poultry Science* 77, 243-247) belegen. Das im Weizen enthaltene *bla*-Gen sollte im übrigen nicht exprimiert werden, da es keine pflanzlichen Expressionssignale enthält. Die Antragsteller haben auch davon abgesehen, mit der im Freisetzungsgesuch auf S. 23 ersichtlichen Linie 38 weiter zu arbeiten, obwohl sich kein Ampicillin-Resistenzgen nachweisen liess, da dieser Befund unter Umständen auf eine nicht ausreichend sensitive Nachweismethode zurückzuführen ist.

Grundsätzlich hält die Kommission daran fest, dass transgene Pflanzen keine Resistenzgene gegen Antibiotika enthalten sollten, die für Mensch und Umwelt von Bedeutung sind. Damit wird auch der Richtlinie der EU entsprochen, die eine schrittweise Einstellung der Verwendung von denjenigen Antibiotika-Resistenzmarkern in gentechnisch veränderten Organismen (GVOs) anstrebt, die schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt haben können. Diese schrittweise Einstellung soll für in den Verkehr gebrachte GMOs bis zum 31. Dezember 2004, und für absichtliche Freisetzungen von GMOs zu anderen Zwecken als dem Inverkehrbringen bis zum 31. Dezember 2008 erfolgen (Art. 4, Abs. 2, Richtlinie 2001/18/EG über die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Organismen in die Umwelt).

3.2. Expression des *kp4*-Gens

3.2.1. Molekularer Mechanismus von KP4

Was die molekulare Charakterisierung des *kp4*-Genproduktes anbelangt, so ist bis anhin nicht bekannt, um was für eine Art von Protein es sich handelt. Der biochemische Vorgang, der der antifungalen Wirkung von KP4 und damit der spezifischen Toxizität gegenüber *Ustilaginales* zugrunde liegt, ist nicht bekannt. Möglicherweise reagiert KP4 mit *Ustilaginales*-spezifischen Proteinen in Form einer Rezeptor-Ligand Interaktion, die sich in ihrer Spezifität mit einer Antikörper-Antigen-Bindung vergleichen lässt.

3.2.2. Toxizität von KP4

In Zellkulturen (Insekten- und Hamsterzellen) wurden einige Toxizitätsstudien durchgeführt, die Hinweise darauf lieferten, dass KP4-Proteine die Funktionsweise von Ca^{2+} -Kanälen in Zellmembranen hemmen und somit den Ca^{2+} -Transport beeinträchtigen (Gu *et al.*, 1995, in: *Structure* 3(8), 805-814), was mit Auswirkungen auf die biologische Signalübertragung und das elektrochemische Potential verbunden ist. Negative Auswirkungen auf die Atmungsaktivität konnten jedoch nicht festgestellt werden und der Effekt der Hemmung kann durch Zugabe von externem Ca^{2+} kompensiert werden (Gu *et al.*, 1995, in: *Structure* 3(8), 805-814), was darauf hindeutet, dass es sich um ein transientes Toxin handelt.

Zum jetzigen Zeitpunkt kann das *kp4*-Genprodukt *in vivo* noch nicht nachgewiesen werden. Als *in vitro* Nachweis dient ein Diffusionstest: nachdem transgene Weizenkörner in

Gegenwart eines KP4-sensitiven *Ustilago*-Stammes kultiviert worden sind, lässt sich die antifungale Aktivität des *kp4*-Genprodukts anhand des Hemmhofes im Pilzmycel messen (Clausen *et al.*, 2000, in: *Nature Biotechnology* 18, pp. 446-449).

Im Rahmen einer Diplomarbeit wurden sowohl mit Pflanzenzellen als auch mit tierischen Zellen weitere Cytotoxizitätsprüfungen durchgeführt (Schlaich Th., 2000, Diplomarbeit: Produktion und Reinigung des Proteins KP4 mit *Ustilago maydis*). Im Vergleich zu den Kontrollen konnten bei den einem KP4-haltigen Medium ausgesetzten Zellen keine Unterschiede in der Vitalität festgestellt werden.

Die Entwicklung eines monoklonalen Antikörpers soll ebenfalls zum Verständnis der Funktionsweise und zur zellulären Lokalisierung von KP4 beitragen.

Da die KP4-exprimierenden Pflanzen im Rahmen dieses Versuches nicht zum Verzehr bestimmt sind und alle möglichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen wurden, um ein Eindringen in die Nahrungskette zu verhindern, kann die Toxizität hier sekundär behandelt werden. Grundsätzlich sind jedoch noch viele Fragen offen, die für weitere Freisetzungsversuche und insbesondere für eine allfällige Kommerzialisierung abgeklärt werden müssten. Fundierte Toxizitätsstudien werden unerlässlich sein; von Interesse sind insbesondere Fragen zur räumlichen und zeitlichen Expression des *kp4*-Gens, zur Verteilung der toxischen Substanzen innerhalb der Pflanze und zur Persistenz sowohl in der Pflanze selber als auch im Boden (Halbwertszeit), falls sich herausstellt, dass KP4 ausgeschieden wird.

3.2.3. Auswirkungen von KP4

Die Auswirkungen des *kp4*-Genprodukts sind Gegenstand der Untersuchung. Die Ergebnisse der vorgängig ausgeführten Gewächshaus-Studien belegen eine signifikant antifungale Wirkung auf *T. tritici*, die im Freiland verifiziert werden soll. Die Ähren von KP4-Weizen waren im Vergleich zu den Wildtyppflanzen um 30% weniger befallen.

Der Ansatz, der mit der Übertragung dieses gezielt gegen *Ustilago*-Stämme wirksamen KP4-Toxins auf Weizen gewählt wurde, ist sehr interessant, zumal auch die Möglichkeit besteht, dass mehrere Gene, die Toleranzen gegen verschiedene Krankheiten und Erreger vermitteln, kombiniert eingesetzt werden könnten. Die agronomische Bedeutung des KP4-Weizens bleibt jedoch nach Ansicht einiger Kommissionsmitglieder umstritten. Sie geben zu bedenken, dass es nicht sicher ist, ob sich dank dieses Transgens der Fungizideinsatz reduzieren lässt und weisen insbesondere auf vielversprechende biologische Alternativen wie die Warmwasserbeizung hin (Borgen *et al.*, in: *Seed borne diseases- a challenge for organic cereal production*, Proceedings 13th International IFOAM Scientific Conference, Basel 2000).

3.3. Umwelteinwirkungen

Unter den künstlichen Bedingungen, wie sie in der Vegetationshalle herrschen, liessen sich im Rahmen der Studien in Reckenholz keine ertragsphysiologischen Unterschiede zwischen transgenen Weizenlinien und Weizen Wildtyppflanzen feststellen.

3.3.1. Einwirkungen auf Nichtzielorganismen

Nach heutigem Stand des Wissens ist es sehr unwahrscheinlich, dass Einwirkungen auf Nichtzielorganismen ausserhalb des Versuchsgeländes auftreten. Innerhalb des eigentlichen Geländes sind allfällige Einwirkungen Gegenstand der Untersuchungen. Besondere Beachtung sollte einer möglichen Auswirkung auf Insekten geschenkt werden. So könnten potentielle Bestäuber durch das pollendichte Netz eingeschlossen und mangels Alternativen zum Verzehr des transgenen Pollens genötigt werden. Die Gefahr einer Auskreuzung mittels solcher Fluginsekten besteht aufgrund der kurzen Lebensdauer des Weizenpollens jedoch nicht.

Bei den Vorversuchen in der Vegetationshalle Reckenholz hätte mehr Wert auf die Erfassung von Mykorrhizen und Saprophyten gelegt werden sollen und auch die Bodenmikroorganismen hätten besser charakterisiert werden können.

Indirekte Effekte, insbesondere allfällige Auswirkungen auf die Umwelt, die durch Wechselwirkungen mit anderen Organismen oder Übertragung von genetischem Material ausgelöst werden, können möglicherweise erst zu einem späteren Zeitpunkt festgestellt werden. Dazu gehören auch Auswirkungen, die auf eine Ausscheidung von KP4 zurückzuführen sind. Nach dem heutigen Stand des Wissens scheinen jedoch keine negativen Effekte absehbar zu sein.

Die Erfassung der Einwirkungen auf Boden und Bodenmikroorganismen bereitet grundsätzlich Schwierigkeiten, da sie langfristig betrachtet werden müssen, um der Möglichkeit Rechnung zu tragen, dass DNA der transgenen Pflanzen im Boden verbleiben könnte.

3.3.1.1. Gentransfer durch Pollenflug

Die Wahrscheinlichkeit eines Pollenfluges kann aufgrund des pollendichten Netzes, das zur Zeit des Pollenflugs über die Versuchspflanzen gespannt wird, als äusserst gering eingestuft werden.

Der einzige für eine Kreuzbestäubung in Frage kommende wilde Verwandte ist *Agropyron* (Quecke), die zur selben Untergruppe wie Weizen gehört (*Triticinae*). Innerhalb der *Triticinae* sind die Arten verschiedener Gattungen bedingt kreuzbar, was jedoch keine fertilen Nachkommen zur Folge hätte. Die Auskreuzung auf z.B. *Agropyron repens* ist also theoretisch möglich, wird aber von den anwesenden Botanikern als äusserst schwierig und wenig wahrscheinlich eingestuft. Eine Auskreuzung auf andere Pflanzen lässt sich auch wegen der kurzen Lebensdauer des Weizenpollens und des bestehenden Sicherheitsabstandes praktisch ausschliessen.

Gemäss einer Studie der OECD (consensus document on the biology of *triticum aestivum*; www.oecd.org/ehs/) kann Weizenpollen unter Laborbedingungen auf der Höhe von 1 m bis zu 60 m weit transportiert werden. Die Fertilitätsdauer des Pollens wird als sehr gering eingestuft und soll auch unter optimalen Laborbedingungen keine drei Stunden anhalten, während sie unter gewöhnlichen Feldbedingungen kaum mehr als 30 Minuten beträgt und bei hoher Temperatur und niedriger Luftfeuchtigkeit auf weniger als 15 Minuten absinkt.

Benachbarte Kulturen können nach menschlichem Ermessen nicht betroffen werden, da ausreichende Sicherheitsabstände zu den nächsten Kulturpflanzen gegeben sind. Gemäss Saatgutverordnung müssen bei Weizen benachbarte Felder verschiedener Sorten lediglich deutlich und klar voneinander getrennt sein (Saat- und Pflanzgutverordnung des EVD, SR.

916.151.1), um unerwünschte Fremdbestäubungen zu vermeiden. Der in diesem Versuch vorliegende Abstand zur nächsten ackerbaulich genutzten Parzelle beträgt 150 m und sollte demzufolge mehr als ausreichend sein.

3.3.1.2. Horizontaler Gentransfer auf Mikroorganismen

Die Bedeutung eines horizontalen Gentransfers von Pflanzen auf Bakterien ist gering und konnte in der Natur noch nie nachgewiesen werden (K. Smalla *et al.*, in: *Proceedings of the 6th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified organisms*, July 2000 in Saskatoon. University Extension Press, Saskatchewan, pp. 146-154; F. Bertolla & P. Simonet, 1999, in: *Res. Microbiol.* 150, pp. 375 – 384; M. J. Gasson, 2000, in: *Current Opinion in Biotechnology* 11, pp. 505-508; weitere Literaturangaben im Sekretariat der EFBS erhältlich).

Es lässt sich jedoch nicht ausschliessen, dass DNA von transgenen Pflanzen im Boden verbleibt, obwohl nach Versuchsende alle Pflanzen vollständig ausgegraben und vernichtet werden, und die Versuchsparzelle mit Roundup behandelt, sowie der Boden anschliessend gepflügt wird. Dabei ist jedoch anzumerken, dass auch DNA von nicht transgenen Pflanzen im Boden verbleiben kann und dass es sich bei allen drei vorhandenen Transgenen um Gene handelt, die auch natürlicherweise vorkommen. Zudem ist bekannt, dass Ampicillin-Resistenzgene bei Bodenbakterien weit verbreitet sind. Das haben auch im Rahmen der in der Vegetationshalle Reckenholz durchgeführte Untersuchungen der Bodenmikroorganismen bestätigt, die ergaben, dass 5% der aeroben mesophilen Bakterienflora Ampicillin Resistenzgene enthalten und zwar unabhängig davon, ob es sich um Bodenproben aus Töpfen mit transgenen Pflanzen oder mit Kontrollpflanzen handelte. Das Auftreten einer durch horizontalen Gentransfer erworbenen Ampicillinresistenz lässt sich demzufolge kaum nachweisen.

Nicht ganz auszuschliessen ist auch die Möglichkeit eines Gentransfers auf Bakterien im Magen-Darmtrakt von Insekten, die mit transgenem Pflanzenmaterial in Berührung gekommen sind. Neuere, noch unveröffentlichte Studien belegen, dass Gene, die zur gentechnischen Veränderung von Raps verwendet wurden, möglicherweise auf Bakterien und Hefezellen im Verdauungstrakt von Bienen übertragen werden könnten, die Untersuchungen sind jedoch noch nicht abgeschlossen (Pressemitteilung; die Daten sind jedoch bislang in keiner Fachzeitschrift publiziert worden).

3.3.2. Persistenz der transgenen Pflanzen im Freiland

Die transgenen Weizenpflanzen werden vor der vollen Samenreife abgeerntet und sämtliches Pflanzenmaterial wird nach Ablauf des Versuches vernichtet. Zusätzlich wird das Feld während des folgenden Jahres beobachtet. Deshalb kann die Wahrscheinlichkeit, dass transgene Samen im Boden überwintern und im folgenden Jahr unentdeckt neu auskeimen, als sehr gering eingestuft werden. Da Weizen ausserhalb der agronomischen Anbauflächen nicht überleben kann (Raps *et al.*, 1998, in: *Konzept und praktische Lösungsansätze zur anbaubegleitenden Forschung beim Einsatz transgener Kulturarten*. Aus der Reihe: Schulte E (edt) TA-Projekt Nachhaltige Landwirtschaft, Fachstelle BATS, Basel 1997-1999), besteht auch keine Gefahr einer Auswilderung in natürliche Lebensräume. Zudem erscheint die Möglichkeit gering, dass eines der drei Transgene Pflanzen ausserhalb des landwirtschaftlichen Nutzungsbereichs einen Selektionsvorteil verleiht. Die toxische Wirkung von KP4 beschränkt sich auf *Ustilago*-Stämme

(*Ustilaginales*), die pathogen für Gräser sind. Andere Pilzgruppen sowie verschiedene Bakterienarten haben sich als nicht sensitiv erwiesen (Koltin, 1986, in: *Fungal Virology*, pp. 109-141).

In einer kürzlich erschienenen Langzeitstudie aus England, in der die vier herbizidresistenten Kulturpflanzen Raps, Kartoffel, Mais und Zuckerrübe über einen Zeitraum von 10 Jahren hinweg untersucht wurden, konnte gezeigt werden, dass die Persistenz dieser transgenen Pflanzen über einen langen Zeitraum hinweg nicht höher ist als diejenige ihrer wilden Artverwandten (Crawley *et al.*, 2001, in: *Nature* 409, 682-683). Die Studie bezieht sich jedoch nur auf diese speziellen herbizidresistenten Kulturpflanzen und lässt keine direkten Schlüsse auf das Verhalten anderer gentechnisch veränderter Kulturpflanzen zu, die einen anderen Resistenztyp enthalten.

4. Beurteilung des Freisetzungsortes

4.1. Versuchsgelände

Der Freisetzungsort scheint für die Versuchsdurchführung geeignet zu sein, da er sich innerhalb der umzäunten Versuchsstation Eschikon befindet und die Versuchsparzelle sowohl vor Zutritten Unbefugter geschützt, als auch genügend gegen benachbartes Landwirtschaftsland abgeschirmt ist.

4.2. Ökosystem

Das Makro-Ökosystem innerhalb der Versuchsstation selber ist ausreichend charakterisiert, auf dem Versuchsgelände wird schon lange Weizen angebaut und der Qualität der Versuchsfelder wird durch Fruchtfolgen Rechnung getragen. Probleme könnten sich höchstens in Bezug auf das Mikro-Ökosystem und den Boden ergeben, beides ist jedoch Gegenstand der Untersuchung. Das nächste natürliche Ökosystem in Form eines Waldes liegt mit 200 m Entfernung von der Versuchsstation ausserhalb des Einflussgebietes dieses Freisetzungsversuches.

5. Beurteilung des Sicherheitsaspektes

5.1. Untersuchungen zur Biosicherheit

Zur Sicherheitsforschung wurden bereits in der in der Vegetationshalle Reckenholz durchgeführten Versuchsreihe mit den transgenen Weizenvarietäten Daten erhoben, die im vorliegenden Gesuch im Freiland verifiziert und ausgebaut werden sollen und damit Gegenstand der Untersuchung sind.

Konkret sollen insbesondere Untersuchungen zu Mikroorganismen im Boden sowie zu Makroorganismen wie Getreidehähnchen (*Ouelama melanopus*), Blattläusen (*Rhopalosiphum padi*), Collembolen und weiteren Fluginsekten durchgeführt und ihre Reaktion auf die transgenen Pflanzen im Vergleich zu den entsprechenden Wildtypen analysiert werden.

Grundsätzlich könnte der Sicherheitsaspekt noch intensiviert werden, was jedoch nicht leicht zu verwirklichen ist. Die Kommissionsmitglieder haben den Wunsch nach einem detaillierteren Konzept der geplanten Untersuchungen zur Biosicherheit geäußert. Insbesondere die Einwirkung auf Nichtzielorganismen, d.h. die Erfassung von

Getreidehähnchen, Blattläusen und Collembolen sollte hinreichend berücksichtigt werden und Untersuchungen analog den Versuchen aus der Vegetationshalle Reckenholz durchgeführt werden, deren Schlussbericht nachgeliefert wurde. Da das Versuchsfeld allerdings sehr klein ist, dürfte es sehr schwierig sein, statistisch relevante Daten zu erhalten.

Zusätzlich ist es erstrebenswert, dass auch der Erfassung von Fluginsekten, sowie der Kontrolle von Saprophyten und Mykorrhizen genügend Rechnung getragen wird. In diesem Zusammenhang begrüsst die EFBS die in den nachgelieferten Dokumenten angeführten Untersuchungen zu Mykorrhizen und die Ausdehnung der Entnahme von Bodenproben auf verschiedene Zeitpunkte nach Entfernen der Pflanzen. Diese Bodenproben sollten jedoch auf das Vorhandensein der Sequenzen aller drei Fremdgene im Boden hin analysiert werden.

5.2. Sicherheitsmassnahmen während und nach der Versuchsdurchführung

Die Gesuchsteller haben grossen Wert darauf gelegt, sowohl während des laufenden Versuches Fremdeinflüsse und Risiken zu minimieren, als auch nach Versuchsende alles Risikomaterial sachgerecht zu entsorgen. Das Gelände ist umzäunt und enthält zusätzlich ein in den Boden eingearbeitetes Drahtgitter, das Nagern den Zutritt verwehrt und ein daran anschliessendes Vogelnetz, das während der Zeit des Pollenfluges von einem pollendichten Netz ergänzt wird. Als zusätzliche Massnahme sollte man die Mantelsaat auf 2 m ausdehnen, um das Risiko einer allfälligen Auskreuzung auf Quecken zu minimieren.

Das Versuchsgelände wird täglich von einem/einer Wissenschaftler/in kontrolliert, der/die über die notwendige Sachkenntnis verfügt, um auch in einer Notfallsituation adäquat handeln zu können. So steht das Herbizid Roundup in einem Nebengebäude bereit, um bei Zwischenfällen während der Keimung oder des Pollenflugs flächendeckend eingesetzt zu werden.

Nach menschlichem Ermessen wird dem vorhersehbaren Gefahrenpotential genügend Rechnung getragen. Die Sicherheitsmassnahmen reichen jedoch nicht aus, um extreme elementare Ereignisse wie starke Stürme und heftige Regenschauer mit starkem Oberflächenabfluss abzuwenden.

Die Frage nach der Wiederherstellung des Ausgangszustandes des Bodens lässt sich nicht abschliessend beantworten, da dieser als solcher nicht charakterisiert ist und sich auch unter natürlichen Bedingungen Änderungen der Bodenbeschaffenheit und des Artenspektrums ergeben können. Nur durch breit angelegte Langzeitstudien könnten solche Änderungen erfasst werden.

5.3. Öffentlichkeit

Die Bevölkerung wurde im Vorfeld über den geplanten Freisetzungsvorhaben informiert und hatte die Möglichkeit, an einem Informationsabend Fragen zu stellen. Der Information der Bevölkerung muss jedoch auch weiterhin Beachtung geschenkt werden, insbesondere während der Dauer des Versuches.

Das Gelände der Versuchsstation ist nicht frei zugänglich, so dass keine Gefährdung durch unbefugte Drittpersonen besteht. Die tägliche Kontrolle durch eine/n Wissenschaftler/in und die dauernde Überwachung während der Zeit des Pollenfluges bieten ausserdem die Möglichkeit, Fragen von Aussenstehenden gerecht zu werden.

6. Schlussfolgerungen

Alle anwesenden Mitglieder sind sich einig, dass der geplante Feldversuch aufgrund des Versuchsortes, der Grösse des Areal (8 m²) und des Charakters des Versuches (reine Grundlagenforschung) als sicher erachtet werden kann und kein wesentliches Risiko für Mensch und Umwelt birgt.

Die Mehrheit der Kommissionsmitglieder (9 Mitglieder) spricht sich deshalb für eine Durchführung des Versuches aus und erachtet die getroffenen Sicherheitsmassnahmen als ausreichend, mit der Begründung, dass ein solcher Versuch nicht durch unverhältnismässige Forderungen an die Gesuchsteller verhindert werden soll, zumal den rechtlichen Bestimmungen genügt wird.

Die Versuchsdurchführung wird jedoch an folgende Bedingungen geknüpft:

- Die Mantelsaat muss auf 2 m ausgedehnt werden.
- Im Falle eines unvorhersehbaren Ereignisses (Unwetter, Sturm, Sabotageakte), das die Möglichkeit einer Auskreuzung durch Pollenflug beinhaltet, ist im Umkreis von 200 m angebautes Erntegut weder als Basissaatgut, noch als zertifiziertes Saatgut oder als Vermehrungsmaterial für den Wiederaufbau im eigenen Betrieb zu verwenden.
- Nach erteilter Bewilligung für die Versuchsdurchführung müssen Angaben zu den an die Versuchsstation angrenzenden Nutzflächen vorliegen, insbesondere die Angabe, welche Kulturpflanzen angepflanzt werden und ob Basissaatgutproduktion stattfindet.
- Die Antragsteller sollen bei erfolgter Bewilligung des Gesuchs ein detailliertes Konzept zu den Versuchen der Biosicherheit einreichen sowie einen Schlussbericht über die Ergebnisse der Untersuchungen im Bereich der Biosicherheit verfassen.
- Nach Beendigung des Experiments müssen die Bodenproben auf das Vorhandensein aller Transgene hin analysiert werden.
- Falls die Analyse der Bodenproben unerwartete, auf negative Auswirkungen hindeutende sowie anderweitig unerwünschte Resultate liefert, müssen weitere Massnahmen getroffen werden; gegebenenfalls sollte der Boden umgepflügt werden, gefolgt von einer thermischen Behandlung.
- Die transgenen Weizenpflanzen dürfen in dieser Form nicht für ein Inverkehrbringen verwendet werden.

Die Kommissionsmitglieder, die sich mit einer Durchführung des Versuches nicht einverstanden erklären (2 Mitglieder) oder sich der Stimme enthalten (2 Mitglieder), führen folgende Punkte auf:

- Der Versuch wird eher als anwendungsorientierte Forschung denn als Grundlagenforschung betrachtet;
- Das bestehende Restrisiko (Pollenflug, mögliche Toxizität des *kp4*-Genprodukts) überwiegt den allfälligen Nutzen des Versuches;
- Die molekulare Charakterisierung des *kp4*-Genproduktes ist nicht abgeschlossen (der der antifungalen Wirkung des Proteins zugrunde liegende molekulare Mechanismus ist noch unbekannt) und sollte im geschlossenen System erfolgen, bevor sich ein Feldversuch rechtfertigen lässt;

- Das Vorhandensein eines Antibiotikaresistenz-Markergens ist unerwünscht;
- Der Zeitpunkt des Gesuches wird als politisch ungünstig eingestuft (laufendes Gen-Lex-Verfahren).

7. Kritische Diskussionspunkte

Unabhängig vom Aspekt der Biosicherheit sind im Laufe der Diskussion kritische Überlegungen zu Sinn und Relevanz des Freisetzungsvorganges angestellt worden, insbesondere in Bezug auf die Bedeutung von Forschung auf dem Gebiet des (KP4)-Weizens in der Schweiz:

- Konventioneller Weizenanbau hat in der Schweiz keine grosse Bedeutung, da die Nachfrage an IP- und Bioweizen ständig steigt (Eigenversorgungsgrad heute bei Bioweizen unter 30 %, bei IP und konventionell angepflanztem Weizen 100%).
- Der Gesamtansatz, der mit der Wahl des *kp4*-Gens getroffen wurde, wird als sehr kompliziert und teuer eingestuft, da verschiedene samen- und bodenbürtige Krankheitserreger zu bekämpfen sind. Das hat zur Folge, dass mehrere Genkonstrukte in die Pflanzen eingebracht werden müssten. Dazu müsste die Frage nach einer möglichen Resistenzentwicklung der Krankheitserreger gegenüber den eingebrachten Genprodukten geklärt werden.
- Die im ökologischen Weizenanbau weltweit gebrauchten Beizmethoden haben sehr gute Wirkungen gezeigt (Warmwasserbeizung 99 % (Borgen *et al.*, in: *Seed borne diseases- a challenge for organic cereal production*, Proceedings 13th International IFOAM Scientific Conference, Basel 2000); Senfpulverbeizungen 97 bis 99 % und Milchpulverbeizung 90 bis 95 % (Winter *et al.*: Magermilchpulver und Gelbsenfmehl gegen Weizenstinkbrand. AGRARForschung 8 (3), 118-123)).
- Kritisch hinterfragt wird ausserdem der im Zusammenhang mit diesem Freisetzungsgesuch verschiedentlich erwähnte mögliche Beitrag zur Förderung des Ökolanbaus, zur Reduktion von Pestizideinsätzen (ist höchstens langfristig möglich) und zur Verbesserung der weltweiten Nahrungsmittelversorgung. Solche Aussagen sind zum jetzigen Zeitpunkt nicht wissenschaftlich belegbar.

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit

Der Präsident

Die Geschäftsleiterin

Prof. Dr. Riccardo Wittek

Dr. Karoline Dorsch-Häsler

