

*„Let us hope that what Mr. Darwin says is not true; but if it is true, let us hope that it will not become generally known.“*

A famous Victorian prophecy and Stephen Jay Gould's comments<sup>1</sup>:

*„... What Mr. Darwin said is, indeed, true. It has also not become generally known....“*

\* \* \* \* \*

## **Horizontaler Gentransfer<sup>2</sup> in Prokaryoten Evolutionsökologische Implikationen<sup>3</sup> für die Biosicherheitsforschung**

Kurt Hanselmann, Universität Zürich<sup>4</sup>

---

<sup>1</sup> Gould, St.J., 1999. Darwin's more stately Mansion. Science, 284, June 25, 2087

<sup>2</sup> Horizontaler Gentransfer = HGT. Unter HGT versteht man die Übertragung von DNA- (oder RNA-) Molekülen, die Träger genetischer Information sind, von einem Genomort des Gendonors an einen Genomort des Genakzeptororganismus', wobei es keine Rolle spielt, ob die genetische Information zwischen artverwandten (narrow host range) oder nicht-verwandten (broad host range) Organismen stattfindet. Dem HGT steht der vertikale Gentransfer gegenüber, der die Weitergabe genetischer Information durch Vererbung von „Eltern“, bei Hapliden von der Mutterzelle auf „Nachkommen“ beinhaltet.

<sup>3</sup> Die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen, die Schaffung von neuen Pathogenizitäten und das Auftreten von Bakterien, die mit spezifischen Enzymen Xenobiotika abbauen können, sind Beispiele, die die Rolle des HGT in der Evolution von Organismen illustrieren.

<sup>4</sup> Weitere Auskünfte vom Autor [hanselma@botinst.unizh.ch](mailto:hanselma@botinst.unizh.ch) oder von Bernard Jenni, Novartis AG, Basel. [bernard.jenni@pharma.novartis.com](mailto:bernard.jenni@pharma.novartis.com)

## **Biosicherheitsforschung aus evolutionsökologischer Sicht**

„Biosicherheit“ hat viele Gesichter, rein anthropozentrische und wirklich biologische. Bei der anthropozentrischen Biosicherheit stehen

- ?Der sichere Umgang mit lebenden Organismen und deren Produkten,
- ?Die Bereitstellung hygienisch einwandfreier Lebensmittel,
- ?Massnahmen zur Sicherheit am Arbeitsplatz,
- ?Der Schutz vor Infektionen und die Bekämpfung von Epidemien,
- ?Die Vorsorge gegenüber möglichen bioterroristischen Attacken,
- ?Die Freiheit zur Manipulation der Natur durch den Menschen und
- ?Sozioökonomische Nutzungswerte

im Vordergrund, bei der wirklich biologischen geht es um den Fortgang der Evolution. Das letztgenannte soll im folgenden als die *evolutionsökologische Sicht der Biosicherheit* bezeichnet werden.

Anthropozentrisch ausgerichtete *Biosicherheitsmassnahmen* sind solche, die unser eigenes Leben und dasjenige anderer Lebewesen vor biologisch bedingten Schädigungen bewahren; evolutionsökologische sollen garantieren, dass Eingriffe ins Gefüge der Natur nicht zu unerwünschten oder unkontrollierbaren Veränderungen mit Schadenfolgen führen können (Umweltverschmutzung, artfremde Genvermischung, Verlust von Biodiversität, genetische Verarmung etc.). Im evolutionsökologischen Sinne versteht man unter biologischer Sicherheit auch die *Gewähr, dass sich Lebewesen an veränderte Lebensvoraussetzungen anpassen und weiter entwickeln können*. Nicht alles, was aus anthropozentrischer Sicht als Gefahr wahrgenommen wird, ist für die biologische Evolution schädlich, und vieles, was evolutionsökologisch massgebend ist, wird bei technikorientierten Biosicherheitsüberlegungen vielfach schlicht vergessen.

Biologische Sicherheit im umfassenden Sinn ist dann gewährleistet, wenn das Risiko, dass ein biologisches Ereignis mit Schadenfolgen eintritt klein ist und Veränderungen in den Lebensvoraussetzungen die Weiterentwicklung der biologischen Vielfalt nicht hindern. Diese Definition beinhaltet drei wesentliche Komponenten: den *Zustand* des Lebensraumes und die Umweltbedingungen, die *Interaktionen* zwischen den Lebewesen sowie die *Zeit*. Die schweizerische Gesetzgebung im Bereich der biologischen Sicherheit hat diese dreifaktorielle Risikobetrachtung weitgehend verwirklicht<sup>5</sup>,

<sup>5</sup> z.B. Verordnung über den Umgang mit Organismen in der Umwelt (FrSV, SR 814.911). Für in der Schweiz massgebende Rechtsgrundlagen, Verlautbarungen und Informationen der Bundesbehörden zu Bio-

und die in der Schweiz gültigen Gesetze und Verordnungen, die die biologische Sicherheit zum Inhalt haben, sind gute Beispiele dafür, wie sozioökonomische und evolutionsökologische Kriterien miteinander vereinbar sind.

## **Fragen zur Biosicherheitsforschung aus mikrobiologischer Sicht**

Das Ziel unserer Forschung, die wir im Rahmen von Modul 5b des SPP-U durchführten<sup>6</sup>, bestand darin, anhand von Beispielen aus der mikrobengenetischen Oekologie Entscheidungsgrundlagen zu den beiden Sicherheitsfaktoren: *Zustand der Lebensbedingungen* und *Interaktionen zwischen Mikroorganismen* der Nahrungskette aquatischer Ökosysteme zu liefern. Wir haben uns die folgenden drei Fragen gestellt.

1. *Wie beeinflussen Umweltbedingungen, die Übertragung genetischer Information ?*
2. *Gibt es natürliche Ökosysteme, in denen horizontaler Gentransfer zwischen Mikroorganismen besonders gefördert wird ?*
3. *Wie kann die mikrobielle Nahrungskette durch Bakterien selbst beeinflusst bzw. unterbrochen werden ?*

### *1. Wie beeinflussen Umweltbedingungen, die Übertragung genetischer Information ?*

Zur Beantwortung haben wir das Einschleusen von plasmidkodierten Antibiotikaresistenzgenen in *Escherichia coli* durch Transformation unter chemischen Bedingungen simuliert, wie sie in natürlichen Gewässern vorkommen und unter Temperaturfluktuationen, die den saisonalen Jahresverlauf widerspiegeln<sup>7</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass die Ionenzusammensetzung in Fluss-, Quell- und Mineralwasser selbst bei den natürlicherweise niedrigen Calciumkonzentrationen genügen, um genetisch transformierte *E.coli* Zellen zu erzeugen. Die Ausbeute an Transformanten in unseren Experimenten war fast gleich hoch, wie diejenige, die

sicherheitsthematiken siehe

<http://www.microeco.unizh.ch/tools/regulations.html>

<sup>6</sup> Establishment of Biosafety Monitoring Systems: Studies on biological Interactions between GEMs and Microorganisms of the aquatic Food Chain. Kurt Hanselmann, University of Zürich, and Bernard Jenni, CIBA-GEIGY AG, Basel, SNF, SPP-B-5b, Project Nr. 5002-035145, 1994-1996.

Establishment of Biosafety Monitoring Systems. Bernard Jenni, NOVARTIS AG, Basel and Kurt Hanselmann, University of Zürich, 1997-1999. SNF, SPP-B-5b, Projekt Nr. 5002-45024

An den Projekten mitgearbeitet haben Wolfram Schlimme, Bea Baur, Odette Frey und Marcello Marchiani

<sup>7</sup> Baur B., K.Hanselmann, W.Schlimme, B.Jenni. 1996. Genetic Transformation in Freshwater: *Escherichia coli* is able to develop natural Competence. Applied and Environmental Microbiology 62/10, 3673-3678.

von anderen Gram-negativen Bakterien bekannt war. Temperaturstress, ein Verfahren, das in Laborversuchen die Transformationshäufigkeit zu erhöhen vermag, ist nicht nötig für die erfolgreiche Transformation. Die Ergebnisse zeigen, dass Labor- oder Produktionsstämme von *E.coli*, die in natürliche aquatische Ökosysteme gelangen und dort überleben, noch aktiv Gene aufzunehmen vermögen. Dies bedeutet auch, dass die vollständige Reihe von ökogenetischen Prozessen, das sind (1) die Entwicklung der Kompetenz zur Aufnahme von DNA, (2) das Binden von DNA an kompetente Zellen, (3) die Aufnahme und die Integration der DNA in zelleigene genetische Elemente und (4) die phänotypische Expression der transformierten Information auch unter suboptimalen, natürlichen Bedingungen ablaufen können. Als biosicherheitsrelevante Folgerung darf aus den Experimenten geschlossen werden, dass beim Zusammentreffen von genetisch modifizierten Bakterien mit kompetenten Wild-Typ *E.coli* Zellen in natürlichen aquatischen Ökosystemen genetisches Material ausgetauscht werden kann. Horizontaler Gentransfer durch Transformation kann deshalb ein evolutionsökologisch bedeutsamer Vorgang sein.

Für die Biosicherheitspraxis muss die Tatsache in Betracht gezogen werden, dass Mikroorganismen auch unter natürlichen Bedingungen fremde DNA aufnehmen können. Die Wahrscheinlichkeit, dass dies geschieht ist umso grösser, je mehr DNA im Ökosystem vorhanden ist und je förderlicher die Bedingungen für deren Erhalt und deren Aufnahme in lebende Zellen sind. Durch Selbstklonierung könnte Fremd-DNA ins Genom ökosystemautochthoner Organismen integriert und durch Vermehrungsprozesse vertikal vererbt werden. Durch diese natürlichen Vorgänge entstehen sekundäre GVO, die aus der rekombinierten DNA von gentechnisch veränderten Organismen hervorgehen. In welchem Ausmass DNA intakt in die Umwelt freigesetzt, von Mikroorganismen aufgenommen, integriert, repliziert und exprimiert wird, ist weitgehend unbekannt. Da das Phänomen generell existiert, muss bei Risikoabschätzungen aber damit gerechnet werden.

## 2. Gibt es natürliche Ökosysteme, in denen horizontaler Gentransfer zwischen Mikroorganismen besonders gefördert wird ?

Die Experimente zur Beantwortung dieser Frage wurden mit *Tetrahymena pyriformis*, einem bakterienfressenden Ciliaten aus der Nahrungskette aquatischer Ökosysteme durchgeführt. Wir sind davon ausgegangen, dass horizontaler Gentransfer zwischen Bakterien dort am wahrscheinlichsten sei, wo viele Bakterien auf engem Raum vorkommen (hohe Bakteriendichte). Dies ist in den Verdauungsvakuolen und in den Fäkalien von *Tetrahymena pyriformis* der Fall. Dieses Modellsystem erwies sich auch deshalb als geeignet, weil der vakuoläre Verdauungsvorgang oft unvollständig ist,

sodass der Grossteil der ausgestossenen Fäkalienklümpchen noch lebensfähige Nahrungsbakterien enthält. Es konnte gezeigt werden<sup>8</sup>, dass der konjugative Gentransfer zwischen *E.coli*-Gendonor und *E.coli*-Genakzeptor, die zusammen Verdauungsvakuolen passierten, 1000- bis 10'000-mal häufiger auftrat als in *E.coli* Zellen ausserhalb des Ciliaten. Unter Zuhilfenahme einer eigens dafür entwickelten Nachweismethode konnten einzelne Konjuganten im Mikroskop sichtbar gemacht werden<sup>9</sup>. Statistisch gesehen, hat jeder Ciliat mindestens eine erfolgreiche Transkonjugante produziert.

Für Biosicherheitsüberlegungen ist relevant, dass Verdauungsvakuolen gute ökologische Mikronischen sind, in denen die Weitergabe und die Aufnahme von Genen stattfinden kann. Die Bedeutung des für die Ökogenetik und die Evolutionsökologie massgebenden, besonderen Selektionsdruckes in den Verdauungsvakuolen ist noch weitgehend unerforscht. HGT durch Konjugation findet in natürlichen Habitaten statt; bei Biosicherheitsabwägungen muss damit und mit möglichen Folgen gerechnet werden.

## 3. Wie kann die mikrobielle Nahrungskette durch Bakterien beeinflusst bzw. unterbrochen werden?

Toxin-produzierende Bakterien, die von bakteriophagen Protozoen als Nahrung aufgenommen werden, können diese töten. Ausgehend von einer grossen Zahl verschiedener Bakterien, haben wir einen Bioassay entwickelt, in welchem wir *Tetrahymena pyriformis* spezifische Bakterien als Nahrung offerierten und die Reaktion des Ciliaten auf das Nahrungsangebot verfolgten<sup>10</sup>. Als Mass für die Biotoxizität diente die Absterberate. Dabei war es unerheblich, was der toxische Metabolit genau war und ob die Nahrungsbakterien natürlich vorkommende Toxinproduzenten waren oder GVO, die zur Herstellung von bioaktiven Substanzen, als Pflanzenschutzstämmen oder als Insektenpathogene genetisch modifiziert wurden. Es konnte gezeigt werden, dass vor allem die Sekundärmetaboliten gewisser Stämme von *Pseudomonas fluorescens* bereits nach wenigen Minuten zur vollständigen Lyse des Ciliaten führten, während *Lactococcus lactis* und verschiedene *E.coli* Mutanten selbst dann keine Reaktion auslösten, wenn sie in hoher Konzentration angeboten wurden. *Bacillus cereus*, bekannt als Toxinproduzent in gewissen Nahrungsmitteln, und insektenpathogene Stämme von *Bacillus thuringiensis* erwiesen sich im Test inte-

<sup>8</sup> Schlimme W., M.Marchiani, K. Hanselmann, B. Jenni. 1997. Gene transfer between bacteria within digestive Vacuoles of Protozoa. FEMS Microbiology Ecology 23, 239-247

<sup>9</sup> Schlimme W., B. Baur, K. Hanselmann, B. Jenni. 1995. An Agarose Slide Method to follow the Fate of Bacteria within digestive Vacuoles of Protozoa. FEMS Microbiology Letters, 133, 169-173.

<sup>10</sup> Schlimme W., M.Marchiani, K. Hanselmann, B. Jenni. 1999. BACTOX, a rapid Bioassay that uses Protozoa to assess the Toxicity of Bacteria. Applied and Environmental Microbiology 65/6, 2754-2757.

ressanterweise als nicht-toxisch für *Tetrahymena pyriformis*, während alle geprüften Stämme von *Staphylococcus aureus* mittlere bis starke Reaktionen auslösten. 80% der getesteten Wildtypen von *E. coli* zeigten ebenfalls eine schwache Reaktion. Von 258 geprüften Gram-positiven und Gram-negativen Bakterienstämmen aus 22 verschiedenen Gattungen zeigten im Durchschnitt über 40% toxische Aktivitäten. Am höchsten waren diese bei Stämmen aus den für biotechnologische Anwendungen wichtigen Gruppen von *Pseudomonas fluorescens* und *Streptomyces spp.* Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde ein Verfahren zur Risikoklassifizierung von Bakterien nach ihrer ökopathogenen Wirkung entwickelt, der BACTOX-Test.

Konsequenz für Biosicherheitsprüfungen: Die heute gültige Risikoklassifizierung von Bakterien berücksichtigt primär deren Humanpathogenizität. Der BACTOX-Assay offeriert einen Ansatz für die Risikoeinteilung von Bakterien bezüglich ihrer ökologischen Wirkung („Ökopathogenizität“). Beurteilt wird im BACTOX-Test die Wirkung von Bakterien auf die allerersten Stufen in der Nahrungskette. Massgebend für Biosicherheitsüberlegungen ist die Beobachtung, dass Bakterien offenbar häufig Eigenschaften exprimieren, die auf Bakterienfresser toxisch wirken können. Der BACTOX-Test sollte bei jenen Biosicherheitsabwägungen Anwendung finden, in welchen die ökopathogenen Wirkungen von Bakterien bewertet werden müssen, bevor diese in die Natur entlassen werden.

### Fazit

Die Experimente zeigen, dass HGT auch unter natürlichen Bedingungen ein häufig auftretendes Ereignis ist und, dass das Entlassen von Bakterien mit toxischen Eigenschaften in die natürliche Umwelt zu Störungen des normalen Ökosystemgefüges führen kann.

Neben der blossen Feststellung über das *Ausmass* und die *Eintretenswahrscheinlichkeit* von Ereignissen mit möglichen Schadenfolgen, müssen bei biologischen Risikoabschätzungen immer auch die *Langzeitwirkungen* einbezogen werden. Darunter versteht man Auswirkungen von Veränderungen auf die Ökosysteme generell, auf die Wechselwirkungen zwischen den Organismen und auf die genetische Fitness der Organismen, *die sich erst über lange Zeiträume bemerkbar machen*<sup>11</sup>. Während Angaben zu den beiden erstgenannten Risikofaktoren (Ausmass und Eintretenswahrscheinlichkeit) meist von ökologischen Kenntnissen und aus den Ergebnissen der hier vorgestellten Experimente abgeleitet werden können, ist es schwierig, Prognosen für zukünftige Entwicklungen zu stellen, ohne dass man die Veränderungen der Ökosystemdeterminanten kennt, die diese Entwicklung steuern. Man kann jedoch Überlegungen anhand von Veränderungen anstellen, welche im Verlaufe

der Evolution nachweislich geschehen sind. Dazu versucht man, anhand von Genomausstattungen zu rekonstruieren, welche Phänotypen oder Enzymmuster exprimiert worden sein könnten. Wenn die Langzeitwirkungen nicht aufgrund experimenteller Befunde abschätzbar sind, bedient man sich dieses evolutionsökologischen Ansatzes.

Damit bezieht man Ereignisse in die Biosicherheitsbewertung mit ein, die sich im Verlaufe der Evolution ereignet haben sowie die Art und Weise, wie Lebewesen und Ökosysteme darauf reagiert haben.

### Auswirkungen auf die Praxis von Biosicherheitsbewertungen

#### Beschleunigung des HGT

Bakterien und andere Mikroorganismen haben die Fähigkeit, Gene aus der Umwelt aufzunehmen, sie in ihre DNA einzubauen und sie auch weiterzugeben. In der Evolution spielen solche, als horizontaler Gentransfer (HGT) bezeichnete Vorgänge<sup>?</sup>, eine wichtige Rolle. Die moderne Gentechnik nutzt diese bakteriellen Fähigkeiten als Forschungswerkzeuge ebenfalls.

Sie vergrössert dadurch aber den HGT, und sie bringt bestimmte Gene in Umlauf, deren Auswirkungen in fremden Genpools noch weitgehend unerforscht sind. HGT sollte deshalb bei Biosicherheitsbewertungen vermehrt berücksichtigt werden.

#### Das „Biotech-Dilemma“ - Kenntnisungleichgewichte zwischen Gentechnik und Genökologie

Die molekularbiologische Forschung hat in den letzten Jahren anwendbare Entdeckungen gemacht. Praktisch brauchbar werden viele dieser Entdeckungen allerdings erst dann, wenn die Konsequenzen, die bei den geplanten Anwendungen zu erwarten sind, zuverlässig abgeschätzt werden können. Dazu fehlen zur Zeit vielfach die ökologischen Einsichten, die es erlauben würden, Risiko und Sicherheit überzeugend zu eruieren. Kurz, die Erforschung der ökologischen Grundlagen hat sich nicht im Gleichschritt mit der gentechnischen Forschung und mit den regulatorischen Bedürfnisse entwickeln können. Die molekulare Pflanzengentechnik ist heute zum Beispiel soweit, dass mit genotypisch veränderten Pflanzen Feldversuche durchgeführt werden sollten, um herauszufinden, wie gut sich die gentechnisch veränderten Pflanzen unter dem Selektionsdruck der Natur behaupten können. Derartige Experimente sind gegenwärtig nur unter strikten Vorsichtsmassnahmen und unter grossen Einschränkungen möglich, was die Aussagekraft der Ergebnisse wiederum mindert. Den strengen Auflagen für die Durchführung solcher

<sup>11</sup> Art. 8 FrSV

<sup>?</sup> siehe Seite 1

Experimente, aber auch den Beschwichtigungen von Seiten der Gentechnik, fehlt vielfach die ökologische Basis. Wenn man die öffentlich zugänglichen Angaben der bis heute an die schweizerischen Bewilligungsbehörden eingereichten Gesuche für Freisetzungsversuche von GVO analysiert wird klar, dass sie vor allem die in Art.8 FrSV aufgeführten ökologischen Risikofaktoren ungenügend erfüllen. Der erfolgreiche Einsatz von gentechnischen Errungenschaften wird zur Zeit dadurch erschwert, dass Konzepte und Methoden zur Folgenabschätzung noch ungenügend entwickelt sind. Das gegenwärtige Dilemma in diesem Biosicherheitsbereich ist das Resultat einer unausgeglichene Forschungsförderung. Wer daran interessiert ist, die Investitionen in die Gentechnik langfristig zu sichern, wird auch daran interessiert sein müssen, jene ökologische Forschung nachzuholen, mit der man mögliche schädliche Auswirkungen auf das komplexe Gesamtgefüge der Natur feststellen und die Folgen abschätzen kann. Dies ist auch Europa-weit eine anerkannte Forderung bei der Freisetzung von Organismen, für welche die EU folgende Regelung vorsieht<sup>12</sup>

*When consent is given for a deliberate release, Member States and the Commission shall ensure that every form of effect on the environment caused by gene transfer to other organisms is accurately assessed. As the degree of environmental impact varies according to the nature of the organism introduced, a separate assessment shall be made in each individual case. Die anzuordnenden Massnahmen zur Verhütung von Schadensausbreitungen müssen auf experimentell gewonnenen Erkenntnissen beruhen.*

#### *Ist „Gene Pollution“ abschätzbar ?*

Unkontrollierte Genproliferation kann zu „Gene Pollution“<sup>13</sup> führen; es ist deshalb wichtig zu wissen, wie fremde Gene in natürlichen Ökosystemen wirken und welche Faktoren die Ausbreitung fördern oder hindern. Für eine mögliche „Genausbreitung“ durch HGT sind neben den prokaryotischen Mikroorganismen selbst, auch Bakteriophagen und Viren als Vektoren in Betracht zu ziehen. Von Bakteriophagen und Viren ist bekannt, dass viele in der Lage sind, fremde Polynukleinsäuren aufzunehmen und diese unter gewissen

Umständen mehr oder weniger stabil in andere Polynukleinsäuren, ins Genom oder in extrachromosomale Polynukleinsäureelemente einzubauen. Mikroorganismen, die die Kompetenz zur Aufnahme von Fremd-DNA besitzen, können unter förderlichen Habitatsbedingungen durch natürliche Genaustauschprozesse, d.h. ohne dass ein gentechnisches Verfahren bewusst zur Anwendung kommen muss, selbst zu Rekombinanten, sogenannten sekundären GVO werden. Sekundäre GVO, deren Genom durch Fremd-DNA verändert wurde, können unbekannte Stoffwechselprodukte und Zellmasseabfälle produzieren, die für andere Organismen des Habitats potenziell gefährlich sein, bzw. als DNA-Fragmente weiter proliferieren können. Das Vorhandensein von GVO *per se* schafft noch keine Schäden im Genpool eines Ökosystems. Das Potential, dass solche entstehen und wie sie sich ausdrücken sowie die Wahrscheinlichkeit und Häufigkeit mit der diese auftreten und sich ausbreiten, hängt ab von der Zahl aktiver GVO, von den ihre Vermehrung unterstützenden ökosystemspezifischen Selektionsdeterminanten und von den physiologischen Eigenschaften der mikrobiellen GVO selbst.

Für die Bewertung von möglichen Risiken, die durch GVO in einem Genpool hervorgerufen werden können, müssten die genotypischen Eigenschaften, die Fähigkeit zur Genweitergabe und die unter bestimmten Umweltbedingungen experimentierten Phänotypen bekannt sein oder mindestens abgeschätzt werden können.

Dies ist bis heute nur für wenige Prokaryoten und meist nur unter Reinkulturbedingungen möglich. Forschungsergebnisse, die das Zusammenspiel der komplexen genetischen und ökologischen Prozesse zum Inhalt haben, sind bis heute eher selten.

#### *Forschungsprioritäten im Bereich des HGT<sup>14</sup>*

GVO, die durch HGT entstehen, stellen potentielle Risiken dar; es müssen deshalb vor allem die Mechanismen untersucht werden, die HGT wahrscheinlich machen sowie die Fitness der GVO im betroffenen Ökosystem. Aus Sicht der Forschung ist es heute weniger wichtig nachzuweisen, dass HGT stattfindet - davon darf man ausgehen - sondern man sollte die Ökosystemdeterminanten eruieren, die HGT fördern bzw. minimieren. Ausser-

<sup>12</sup> Deliberate release into the environment of GMOs A5-0083/2000

European Parliament legislative resolution on the Council common position for adopting a European Parliament and Council directive on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC (11216/1/1999 C5-0012/2000 1998/0072(COD))

.....  
(Amendments 39 and 49)

Article 4(2a) new

<sup>13</sup> „Gene Pollution“ is any gene deliberately introduced into a gene pool of a community such that the community has not had the benefit of evolutionary testing

<sup>14</sup> Es werden hier jene Aspekte aufgeführt, die uns aufgrund der im SPP-U ausgeführten Forschungsarbeiten als prioritär erscheinen. Für eine weiterführende Diskussion dazu verweisen wir auf Doblhoff-Dier O., and C.H. Collins. 2001. Biosafety: future Priorities for Research in Health Care. Journal of Biotechnology 85, 227-239. Die Konsequenzen des HGT für die natürliche Klassifikation der Organismen und die Konstruktion von phylogenetischen Stammbäumen aufgrund von 16S-rRNA Gensequenzierungen, wird in diesem Zusammenhang nicht diskutiert; wir verweisen auf Doolittle, W.F. 1999. Phylogenetic Classification and the universal Tree. Science 264/5423, 2124-2128.

dem sollte der experimentelle Nachweis von HGT in komplexen Natursystemen erst dann angestrebt werden, wenn die Bedingungen für HGT in ökologisch relevanten Modellsystemen eruiert worden sind.

#### *Wie wahrscheinlich ist HGT ?*

Die relevanten Voraussetzungen für HGT und dessen Folgen sind, dass (1) funktionelle DNA vorhanden ist, (2) diese DNA in einem Vektor übertragen wird, (3) die fremde DNA ins Genom des Wirtsorganismus eingebaut und weitervererbt wird und (4) das übertragene Gen exprimiert werden kann. Die zu übertragende DNA kann genomische DNA sein, oder von Plasmiden, Phagen oder transponierbaren Elementen stammen, wobei der erstgenannte Fall seltener zu erfolgreichen GVO führt als der zweitgenannte. Da alle oben genannten Schritte erfüllt sein müssen und die Kombination aller vier mit geringerer Wahrscheinlichkeit eintritt als jeder einzelne, überrascht eigentlich, dass HGT doch ein relativ häufiges Ereignis ist.

Evolutionärsbiologisch massgebend ist aber nicht die Häufigkeit mit der HGT auftritt – eine einzige erfolgreiche Rekombination kann in der Evolution genügen – sondern einzig der Nachweis, dass HGT eintreten kann.

Somit kommt auch in der biologischen Risikoabschätzung der Eintretenswahrscheinlichkeit eines Ereignisses die grössere Bedeutung zu als der Häufigkeit mit der es auftritt. Wissenschaftliche Untersuchungen zum HGT sollten deshalb vorwiegend die Mechanismen der DNA-Übertragung sowie die Etablierung und die Selektion der neu entstandenen GVO klären.

Überall dort, wo die akuten und chronisch subakuten ökotoxikologischen Auswirkungen von GVO-Genprodukten unbekannt sind, und solange mögliche Auswirkungen dieser Genprodukte auf Nicht-Zielorganismen und die Umwelt als ungewollt anerkannt werden, kommt dem HGT in der Bewilligung von Freisetzungsversuchen massgebende Bedeutung zu.

#### *Welche Folgen hat HGT ?*

Es muss davon ausgegangen werden, dass alle Fremdgene auf prokaryotische Mikroorganismen übertragen, darin stabil erhalten und bei der Vermehrung vertikal weitergegeben sowie durch HGT verbreitet werden können.

Es sollte deshalb bei Experimenten mit GVO untersucht werden, unter welchen Bedingungen die Fremd-DNA zu neuen prokaryotischen Rekombinanten führen kann, wie aktiv der Genfluss in einem Freisetzungshabitat vonstatten geht und welche ökologischen Auswirkungen die Aktivität der Fremdgene hat.

#### *Wie liessen sich pleiotrope Effekte<sup>15</sup> erforschen ?*

Ob die durch den Transfer von Fremdgenen zu erwartenden primären und sekundären GVO ungewollt je pathogene oder toxische Eigenschaften exprimieren werden, ist nach dem heutigen Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse nicht generell voraussagbar. Ebenso ungewiss sind Prognosen über mögliche schädliche Einwirkungen auf die Umwelt.

Auch existieren bis heute erst wenige Konzepte und Methoden, um durch GVO bedingte mikrobiökologische Veränderungen in komplexen Ökosystemen *in situ* feststellen zu können.

Wenn in Zukunft mehr und mehr Gesamtgenomsequenzen von Prokaryoten zur Verfügung stehen werden, wird es vielleicht eher möglich, daraus mögliche Phänotypveränderungen abzulesen.

Es kann aber bereits heute im naturnah abstrahierten Experiment untersucht werden, welche Veränderungen zur Selektion und Vermehrung von schädigenden oder sonstwie unerwünschten Phänotypen, zur Verbreitung von GVO und zur Bildung von sekundären GVO führen können.

#### *Kenntnislücken*

Im Bereich der genetischen Oekologie und des HGT bestehen grosse Wissenslücken, was zuverlässige Risikoabschätzungen zur Zeit noch schwierig macht. Man kennt zwar die natürlichen biologischen Vorgänge zur Genübertragung, weiss aber nicht, wie sie reguliert werden, unter welchen Bedingungen sie auftreten, unter welchen nicht, warum sie einmal exprimiert werden, dann wieder nicht und welche Selektionsvorteile ein Mikroorganismus in der Natur hat, wenn er ein bestimmtes zusätzliches Gen trägt. Man kann auch keine allgemein gültigen Angaben darüber machen, wie sich die Rückübertragung von mobilisierter Fremd-DNA in einem Freisetzungsversuch erfolgreich verhindern oder vermindern liesse. Um in Zukunft verlässliche Antworten auf biosicherheitsrelevante Fragen offerieren zu können, muss sich die HGT-relevante Biosicherheitsforschung natürlichen Systemen zuwenden. GVO im speziellen, sind daraufhin zu untersuchen,

- ? Welche genotypischen Marker übertragen und wie häufig und wo sie ins Genom inseriert werden,
- ? Welche neuen Phänotypen in Erscheinung treten, und welche endogenen Genotypen durch die Insertion nicht mehr, falsch oder übermässig exprimiert werden,
- ? Ob sich pleiotrope Pathogenizität entwickelt,
- ? Wie der Insertionsort im Genom das Expressionsverhalten eines Fremdgens beeinflusst,
- ? Wie sich homologe Rekombination auf die autochthone Population auswirkt,

<sup>15</sup> Von pleiotropen Effekten spricht man dann, wenn mehr als nur die erwarteten Phänotypen auftreten

- ? Welche Rolle transduzierende Phagen beim natürlichen HGT spielen,
- ? Wo transferierte Promotoren inseriert werden, ob ihre Regulierbarkeit erhalten bleibt und welche Folgen es für das natürliche Genom des Organismus hat, wenn dies nicht mehr der Fall ist und wenn sie transponiert werden,
- ? Inwieweit Sequenzähnlichkeiten von homologen Genen in phylogenetisch nicht nahe verwandten Organismen auf HGT zurückgeführt werden können,
- ? Inwieweit G+C Anomalien in Genomsequenzen als Indikatoren für horizontal transferierte Fremdgene bzw. cryptische Phagen herangezogen werden können,
- ? Wie die Proliferation von Antibiotika-Resistenzgenen in bisher antibiotikafreie Ökosysteme vonstatten geht und wie lange die Transgene ohne den Selektionsdruck dort stabil erhalten bleiben,
- ? Auf welchen Wegen die aufgenommenen Gene weiter proliferieren,
- ? Welche Rolle Retrotransfer und die sekundär rekombinanten GVO in Umweltprozessen spielen und wie sie auf Veränderungen in der Ausprägung von ökologischen Determinanten reagieren (Regulation der Expression),
- ? Wie GVO biogeochemische Prozesse beeinflussen, welche Rolle z.B. gewisse Produkte von in Pflanzen inserierten Resistenzgenen indirekt auf die Ökophysiologie des Bodenlebensraumes haben,
- ? Wie GVO physiologisch und genetisch mit anderen Populationen der mikrobiellen Gemeinschaften interagieren,
- ? Wie die Ausbreitung von GVO, bzw. deren Fremdgene, in natürlichen Populationen verhindert wird und
- ? Mit welchen spezifischen und verlässlichen molekularen und ökologischen Methoden bzw. experimentellen Modellsansätzen, welche biosicherheitsrelevanten Problemkreise am besten evaluiert werden sollen.

schungsförderung von der Gentechnik hin zur Genökologie unumgänglich sein.

### *Konsequenzen für Biosicherheitsabwägungen*

Ein Gentech-Moratorium nützt niemandem, denn wo Erkenntnisse und Grundlagen für Entscheide fehlen, hilft ein noch so transparenter öffentlicher Risikodiskurs auch nicht weiter. Die Öffentlichkeit wird weiterhin überzeugende und strenge Biosicherheitsprüfungen für GVO, für deren Produkte und für Gentechverfahren fordern, bevor sie sie akzeptiert, und sie will vom Nutzen und vom ökologischen Potential der Produkte überzeugt sein. Wenn die Gentechnik auch in Zukunft GVO entwickelt, die sie eines Tages in natürliche Ökosysteme freisetzen will; so muss sie die Umweltverträglichkeit dieser GVO in Freisetzungsversuchen überprüfen und daraus ökologische und ökonomische Risiken abschätzen können. Die Gentechnik ist deshalb gut beraten, wenn sie sich vermehrt der Bearbeitung jener Fragen zuwendet, die die ökologischen Implikationen ihrer Produkte zum Inhalt haben. Weil solche Versuche teuer sind und oft lange dauern, muss die ökologische Kompetenz jetzt gestärkt werden. Damit würde es auch möglich, beabsichtigte Kommerzialisierungen verlässlicher zu planen. Zur Lösung des „Gentech-Dilemmas“ wird eine Umgewichtung der For-