Gentechnisch veränderte Mikroorganismen zur Reduzierung von Schadstoffbelastungen? – Ökologische Perspektiven

Thomas Potthast und Barbara E.G. Weber

Synopsis

The prospective use of transgenic microorganisms for bioremediation of hazardous waste is an often cited topic within the debate on benefits and risks of genetic engineering. To date, there seems to be a wide gap between some promising results of laboratory studies on microbial metabolism of certain xenobiotics, and the practical demands to clean contaminated sites where varying mixtures of different chemicals are present. Artificially designed transgenic specialists do not fit into ecologically heterogeneous conditions, e.g. with competition effects between microbial populations. From an ecological point of view developing transgenic microorganisms does not seem to be a promising strategy for the detoxification of contaminated soils. If, however, transgenic organisms could be designed for effective bioremediation, this would necessarily comprise their survival, strong competition capacity, and dispersal in the environment. Bioremediation could also result in new toxic metabolites. The structure of and interactions within soil microbial populations are very poorly understood, and there is an urgent need for further ecological expertise. Nevertheless, there are several clues for the assumption that releasing highly competitive transgenic organisms may cause severe adverse ecological effects.

mikrobielle Altlastensanierung, gentechnisch veränderte Mikroorganismen (GVM), Freisetzung, ökologische Risikopotentiale, Prognosen

bioremediation, transgenic microorganisms, deliberate release, ecological risks, predictions

1. Einleitung: Forschungspolitisches Umfeld

Im Rahmen der Behandlung industrieller Altlasten sowie in der Abfall- und Abwassertechnologie werden katabolische Stoffwechselleistungen von Mikroorganismen zur Umsetzung organischer Substanzen genutzt (vgl. ALEXANDER 1981, McELDOWNY 1993). Seit einigen Jahren wird auch der Einsatz gentechnisch veränderter Mikroorganismen (GVM) vorbereitet. Das Umfeld von Forschung, Entwicklung und Sanierungspraxis sei wie folgt skizziert:

– In der Diskussion um die Chancen der Gentechnik wird eine mögliche Reduzierung von Schadstoffbelastungen durch transgene Mikroorganismen als sehr bedeutend herausgestellt (DWYER & TIMMIS 1990; BMFT 1991, 1992). Eine Reihe von Forschungsgruppen befaßt sich mit der Entwicklung gentechnisch »optimierter« metabolischer Fähigkeiten von Mikroorganismen (vgl. v.SCHELL 1994)

– Unabhängig vom möglichen Einsatz transgener Mikroorganismen erfordert die Altlastenproblematik als Ganze eine interdisziplinäre und transdisziplinäre Zusammenarbeit von Geologie und Bodenkunde, Mikrobiologie und Ökologie, Verfahrenstechnik sowie nicht zuletzt Gesetzgebung und Verwaltung (KNORR 1990).¹

– In der aktuellen Sanierungspraxis wird versucht, die metabolischen Leistungen nichttransgener, zumeist autochthoner, Mikroorganismen zu nutzen bzw. sie durch geeignete Wahl der physikochemischen Bedingungen zu stimulieren (KÄSTNER & al. 1993, ATLAS 1994, u.v.a.). WEBER & KNORR (1992) haben darauf hingewiesen, daß am Thema mikrobielle Schadstoffumwandlung zwei Gruppen von Akteuren arbeiten, zwischen denen es wenig Austausch gibt: Einerseits werden von PraktikerInnen unmittelbar anwendungsgaule Methoden entwickelt, andererseits versuchen MikrobiologInnen, im Labor die Biochemie und Genetik des Abbaus bestimmter (Rein-)Substanzen aufzuklären und z.T. zu manipulieren.

– Konkrete Freisetzungprojekte oder großmaßstäbliche Bioreaktorversuche mit transgenen schadstoffumwandelnden Mikroorganismen sind unseres Wissens auch international nirgends geplant. In den *vdI-nachrichten* (Verband der Deutschen Industrie) vom August 1994 heißt es: »Die Freisetzung genmanipulierter Bakterien ..., die bestimmte Giftstoffe im Wasser oder Boden abbauen, erscheint im derzeitigen Stadium der Forschung zu riskant« (FRIEDL 1994).

¹) Ein erster Versuch, VertreterInnen der verschiedenen Disziplinen zusammenzubringen, ist das vom BMFT geförderte »Expertenkolloquium Mikrobieller Schadstoffabbau«, das 1993 am Zentrum für Ethik in den Wissenschaften der Universität Tübingen stattfand (Buchdokumentation in Vorbereitung).

– Am 30.8.1994 ist der erste Freisetzungsversuch mit transgenen stickstofffixierenden Mikroorganismen in der Bundesrepublik Deutschland genehmigt worden (GID 1994).²

Vor diesem Hintergrund diskutieren wir den möglichen Einsatz transgener Mikroorganismen gegen Schadstoffbelastungen. Wir konzentrieren uns dabei auf die ökologischen Risiken der Freisetzung von GVM, welche mit der Behandlung von Altlastenstandorten und kontaminierten Böden verbunden wären (vgl. POTTHAST & WEBER 1995). Die ökologische Forschung spielte bislang bei Forschungsprojekten und Diskussionen um die Freisetzung transgener (Mikro-)Organismen eine eher untergeordnete Rolle. Unser Beitrag versteht sich auch als Plädoyer an Ökologinnen und Ökologen sowie die Gesellschaft für Ökologie (GfÖ), ihre Erfahrungen und Expertise verstärkt einzubringen.

2. Mikrobielle Umwandlung persistenter Umweltchemikalien

Als persistente Umweltchemikalien werden Substanzen bezeichnet, die – abiotisch durch Temperatur, UV-Strahlung, Säuren etc. und biogen unter den gegebenen Umweltbedingungen – nicht vollständig, extrem langsam oder nur, wenn sie in bestimmten Konzentrationen vorliegen, umgewandelt werden können. Die wichtigsten ökotoxikologisch bedenklichen Stoffgruppen bei Altlasten sind

- Monozyklische (oft mit Halogengruppen) substituierte aromatische Kohlenwasserstoffe,
- Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), (*50 % aller Altlastenfälle sind PAK-Kontaminationen*; LOSKE 1993),
- Polychlorierte Biphenyle (PCB),
- substituierte aliphatische Kohlenwasserstoffe (oft mit Chlor: CKW),
- Schwermetalle oder metallorganische Verbindungen,
- Kunststoffe (PVC, Polyurethan, etc.).

Es handelt sich entweder um sog. Xenobiotika (= als Naturstoff nicht existent) oder um solche Substanzen, die in erheblich größerer Menge als natürlicher-

weise in der Biosphäre vorkommend industriell produziert bzw. zunächst aus geologischen Lagerstätten gefördert werden. Mikrobielle Schadstoffumwandlungen verlaufen in Kaskaden mehrerer katabolischer Reaktionen, in denen funktionelle Gruppen abgespalten oder umgelagert sowie Bindungen des Kohlenstoffgerüsts gespalten werden. Dies wird nur selten von einer Spezies allein bewerkstelligt. Meist sind verschiedene Mikroorganismenarten mit spezifischen Enzymen jeweils an einem oder mehreren Reaktionsritten beteiligt und bilden zusammen ein sog. *Consortium*. Substanzen, die einem mikrobiellen Angriff unterworfen sind, werden nicht immer als Kohlenstoff- oder Energiequelle genutzt. Manche Umwandlungsschritte komplexer Verbindungen erfolgen ohne energetischen Nutzen für die Mikroorganismen, während mit Hilfe der entsprechenden Enzyme gleichzeitig andere Substanzen verstoffwechselt werden. Dieses bei Xenobiotika häufig beobachtete Phänomen wird als *Cometabolismus* bezeichnet. Längst nicht jede Schadstoffumwandlung führt zu vollständiger Mineralisierung (Kohlendioxid, Wasser, Salze) und Einbau in Biomasse, sondern endet in z.T. ebenfalls toxischen oder gar noch giftigeren Produkten als die Ausgangssubstanz. Die Umweltbedingungen bestimmen, ob und mit welchen Reaktionsprodukten eine mikrobielle Umwandlungstätigkeit stattfindet. Die maßgeblichen Faktoren sind im Prinzip bekannt: Temperatur, Feuchtigkeit, Nährstoffversorgung (v.a. P und N), pH-Wert, Redoxverhältnisse (aerob/anaerob), Konkurrenz mit anderen Mikroorganismen, Anwesenheit notwendiger Induktionssubstanzen oder anderer, evtl. bakterientoxischer, Stoffe (vgl. KÄSTNER & al. 1993, McELDOWNEY & al. 1993). Damit wird deutlich, daß es keine »Abbaufähigkeit per se« gibt, sondern daß darüber die spezifischen Verhältnisse vor Ort entscheiden. Es ist nicht einfach und eventuell sogar unmöglich, denjenigen oder diejenigen Faktoren eindeutig zu ermitteln, welche den gewünschten Effekt begünstigen bzw. blockieren.

Aus dieser Problematik resultiert eine inzwischen fast unübersehbare Vielfalt – oft im *trial and error*-Verfahren entwickelter – umweltbiotechnologischer Methoden der Altlasten- und Grundwassersanierung; allein in den USA sind 130 Verfahren registriert (ZEYER 1993). Für unsere Diskussion sind die grundlegenden Anwendungstypen entscheidend:

1. *in situ*: der kontaminierte Boden wird direkt behandelt,
2. *on site*: das Erdreich wird zunächst ausgehoben und in sog. Beeten oder Mieten neben dem kontaminierten Ort, z.T. unter Planen oder in Gewächshäusern, bearbeitet,
3. *off site*: hochkontaminierter Boden wird abtransportiert und entweder wie im *on site*-Verfahren oder in Bioreaktoren weiter behandelt.

2) Im Rahmen der »Sicherheitsforschung Gentechnik« (BMFT-Verbundprojekt) wurde das stickstofffixierende Bakterium *Rhizobium meliloti* mit dem Luziferase-Leuchtgen des nordamerikanischen Leuchtkäfers *Photinus pyralis* versehen. Verbleib und Verbreitung des Bakteriums sollen mit Hilfe des Trans-Gens als Marker untersucht werden. Auch international beziehen sich zahlreiche Freisetzungsprojekte von GVM auf stickstofffixierende Bakterien (SELBITSCHKA & al. 1994).

Bearbeitungsmethoden bestehen in Bewässerung, Düngung, Pflügen, Animpfen von Mikroorganismen etc. (ATLAS 1994). Wenn man im Labor gezüchtete GVM einsetzt, wären *in situ*- und *on site*-Verfahren sowie alle *off site*-Verfahren, die nicht im geschlossenen Bioreaktor durchgeführt werden, mit Freisetzung verbunden. Etwa 95 % aller Sanierungen sind solche »offenen« Maßnahmen, nicht zuletzt weil die Kosten beim Einsatz geschlossener Bioreaktoren erheblich steigen (BIEHLER & HÄGELE 1994).

3. Genetische Grundlagen, gentechnische Ansätze und Praxisprobleme

Die enzymcodierenden Gene vieler katabolischer Funktionen sind im Genom sequenziell und modular angeordnet: Zum einen codieren benachbarte Gene oft gemeinsam eine komplexe katabolische Reaktion. Zum anderen können Gengruppen oder auch Einzelgene bei verschiedenen Arten oder Stämmen an unterschiedlichen Orten im Genom, sowohl auf Plasmiden als auch auf dem Chromosom, lokalisiert sein. Durch die Mehrzahl möglicher Positionen wird eine große Plastizität phänotypisch wirksamer metabolischer Fähigkeiten erreicht. VAN DER MEER & al. (1992) diskutieren anhand der Ähnlichkeiten von DNA-Sequenzen katabolischer Gene auch die stammesgeschichtlichen Zusammenhänge der Entstehung und Umgruppierung von Genen. Gleichzeitig weisen sie aber darauf hin, daß es unterschiedliche Gene für dieselbe katabolische Funktion gibt, solche Eigenschaften also z.T. mehrfach unabhängig voneinander entstanden sind. Weiterhin können Genfunktionen u.a. aufgrund ihrer Lage im Genom auch nicht exprimiert (»stillgelegt«) bleiben.

Mit gentechnischen Methoden wird versucht, katabolische Gene aus *verschiedenen* Taxa in *einem* Organismus zu kombinieren und die Genexpression stabil zu halten, was in einem dynamischen System der Genumgruppierung und -regulation nicht trivial ist. Mit der sog. *horizontalen Erweiterung* wird versucht, ein Trans-Gen für »fehlende« Enzymfunktion einer Abbaukaskade einzubringen, bei der *vertikalen Erweiterung* sollen unterschiedliche Abbauwege, die natürlicherweise nicht gleichzeitig bewerkstelligt werden können, kombiniert werden (TIMMIS 1990). Im Labor konnte dies durch sehr spezifische Selektions- bzw. Milieubedingungen zumindest in Einzelfällen erreicht werden.

Bei einer der wichtigsten und problematischsten Gruppen persistenter Altlasten, den polychlorierten Biphenylen (PCB), wird derzeit ein Gen des aeroben Abbauweges sequenziert, was erst teilweise gelungen ist. Später soll es kloniert werden, um die Genregula-

tion zu studieren. An diesem Beispiel lassen sich die praktischen Schwierigkeiten gentechnischer Ansätze aufzeigen (nach WAGNER-DÖBLER & al. 1994):

- Ungeeignete Induktion: Die Aktivierung der entsprechenden katabolischen Gene erfolgt durch Substanzen, die selbst toxisch sind. So benötigt das entsprechende Gen zur aeroben PCB-Umwandlung die Anwesenheit von Biphenyl. Dessen Zugabe für *in situ/on site*-Sanierungen ist wegen seiner Toxizität aber ausgeschlossen.
- Unvollständiger Abbau: Bei der Umwandlung einiger PCB entstehen eine chlorierte Benzoessäure und eine chlorierte aliphatische Verbindung als Umwandlungsprodukte. Der weitere Verbleib der aliphatischen Verbindung ist noch nicht geklärt. Die Benzoessäure wird ins Medium ausgeschieden und steht den PCB-transformierenden Arten damit nicht mehr als Energie- und Kohlenstoffquelle zur Verfügung. Der Benzoessäure-Abbau durch andere Mikroorganismen führt zudem u.U. zu toxischen Metaboliten, die die »PCB-Abbauer« zusätzlich beeinträchtigen. Welche weiteren Auswirkungen solche Prozesse in Böden haben können, ist nicht geklärt.
- Genetische Instabilität: Die (erwünschten) PCB-Umwandlungsleistungen sind genetisch nicht stabil.
- Ökologische Instabilität: Die Laborstämme überleben unter natürlichen Bedingungen nicht lange.

Bereits bei nicht gentechnisch veränderten Mikroorganismen erwies es sich als schwierig, eine im Labor wie erwünscht vorhandene katabolische Funktion unter Freilandbedingungen stabil zu exprimieren (McELDOWNEY & al. 1993, v.SCHELL 1994). Neuere Forschungen mit transgenen Pflanzen haben gezeigt, daß im Zuge von Inaktivierungsprozessen insbesondere Trans-Gene stillgelegt werden können (vgl. FINNEGAN & McELROY 1994). Die Übertragbarkeit solcher Befunde auf Bakterien ist noch zu untersuchen.

Das bekannteste Beispiel eines transgenen Organismus, der bestimmte substituierte aromatische Kohlenwasserstoffe (chlorierte und methylierte Benzoate) umwandeln kann, wurde bereits vor mehreren Jahren publiziert (ROJO & al. 1987). Resultate, die mit diesem GVM unter Bedingungen von komplexeren Schadstoffgemischen erzielt wurden – dies ist der Normalfall bei Altlasten – stehen noch aus (v.SCHELL 1994, WAGNER-DÖBLER & al. 1994).

Für Sanierungen von Öl- und Benzin-Altlasten sind die meisten praktischen Erfahrungen verfügbar. Hier wird jedoch ganz auf die Förderung und Stimulierung autochthoner Mikroorganismenpopulationen gesetzt (DECHEMA 1992).

Angesichts der dringlichen Notwendigkeit zur Altlastensanierung bieten gentechnische Ansätze wegen der komplexen ökologischen Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismenpopulationen, den Schadstoffen und den lokalen Bodenverhältnissen kurz- und mittelfristig keine Lösung.

4. Freisetzung schadstoffumwandelnder GVM

Falls es längerfristig gelingen sollte, gewünschte katabolische Funktion auch unter Freilandbedingungen zu exprimieren, müssen bereits im Vorfeld die Risiken möglicher Freisetzungen diskutiert werden. Seitens der Ökologie ist zu fragen, ob die zur Schadstoffreduzierung freigesetzten Mikroorganismen, ihre Trans-Gene oder die Stoffwechselprodukte ihrerseits problematische Auswirkungen auf bestehende Lebensgemeinschaften haben können, bzw. wie diesbezügliche Prognosen oder Szenarien zu entwickeln sind. Die grundsätzlichen Probleme stellen sich bereits bei den konkret geplanten oder bereits erfolgten Freisetzungen anderer transgener Mikroorganismen.

4.1. Etablierungsfähigkeit von GVM und mögliche direkte Effekte

GVM, die Schadstoffe in Altlasten effizient umwandeln sollen, müssen notwendigerweise unter sehr »ungünstigen« Freilandbedingungen (Anwesenheit toxischer Stoffe, Konkurrenz, schwankende Umgebungsfaktoren) durchsetzungs- und vermehrungsfähig sein. Damit würde aber die bisher gängige Sicherheitsphilosophie der Freisetzungen transgener Organismen konterkariert (DT. BUNDESTAG 1987, BERNHARDT & al. 1991). Die freigesetzten GVM sollen explizit das Bodengefüge in erheblichem Ausmaß verändern, sowohl hinsichtlich der vorhandenen chemischen Substanzen als auch bezüglich der mikrobiellen Lebensgemeinschaften. Unerwartete und auch unerwünschte ökologische Effekte sind bei konkurrenzstarken transgenen Mikroorganismen mit erhöhter Wahrscheinlichkeit zu erwarten. Es besteht Konsens darüber, daß freigesetzte Mikroorganismen grundsätzlich nicht rückholbar sind (WÖHRMANN & TOMIUK 1993, u.v.a.). Der in der Diskussion um die Freisetzung transgener Organismen geprägte Satz »Das Risiko vermehrt sich selbst« bedeutet in der Konsequenz, daß ein Risiko auch über den Eintritt eines tatsächlichen Schadens hinaus fort dauert.

4.2. Containment von GVM und Trans-Genen?

Vor einigen Jahren wurde ein sog. *containment* der GVM und ihrer Trans-Gene, also die zumindest weitgehende Begrenzung auf den Freisetzungsort, für möglich gehalten. Erstes Argument war die Annahme einer reduzierten *fitness* der GVM aufgrund der genetischen Bürde (*genetic load*), welche die

Trans-Gene darstellen sollten. Die Allgemeingültigkeit dieser These wurde durch verschiedene Labor- und Mikrokosmosstudien widerlegt. Bei *E. coli* zeigte ein Stamm mit transgenem Plasmid nach 500 Generationen Selektionsvorteile gegenüber dem Ausgangsstamm (BOUMA & LENSKI 1988). In Mikrokosmosversuchen fanden CLAUS & FILIP (1994) in Abhängigkeit vom Bodentyp (Podsol vs. Braunerde), daß entweder die transgenen oder aber die unveränderten *Pseudomonas stutzeri* besser überlebten.

Auch die generelle Annahme, daß horizontaler Gentransfer durch Verwendung plasmidloser Mikroorganismenstämme besser zu kontrollieren wäre, weil Gene auf Plasmiden mobiler und damit leichter zu verbreiten seien, erscheint nicht mehr haltbar. In Bodenmikrokosmen wurden bei *Pseudomonas stutzeri* z.T. sogar höhere Gentransferraten von chromosomal- gegenüber plasmid-lokalisierten Trans-Genen ermittelt, und die Austauschrate zwischen verschiedenen Arten übertraf den intraspezifischen Gentransfer (STOTZKY 1992). WACKERNAGEL & LORENZ (1994) konnten zeigen, daß freie DNA in im Labor untersuchten Böden 60 Tage in biologisch aktiver Form überdauern kann. Durch Adsorption an Bodenpartikel wird der enzymatische Abbau verhindert, und damit wird eine spätere Transformation (= Aufnahme freier DNA durch Mikroorganismen) im Boden grundsätzlich möglich. Die in Mikrokosmen ermittelte Transformationsrate wurde durch den pH-Wert sowie die Nährstoffverhältnisse (P:N) beeinflusst.

Auch Stämme, denen die zur Konjugation befähigenden Gene fehlen, können (Trans-) Gene auf autochthone Mikroorganismen aus einer Kläranlagenpopulation übertragen. Selbst das zusätzliche Fehlen der sog. Mobilisierungsfunktion kann einen Gentransfer etwa durch Transformation nicht ausschließen (ARENS & al. 1993).

Die oft erwähnte sog. *suicide*-Strategie, also der Einbau eines Gens, das aufgrund einer bestimmten Substanz (oder eines anderen Stimulus) aktiviert wird und den Organismus tötet, ist noch nicht ausgereift (v.SCHELL 1994). Es grundsätzlich fraglich, ob der Ansatz aufgrund der phänotypischen und genetischen Flexibilität von Mikroorganismen auf Dauer funktionieren könnte. Weiterhin kann ein Gentransfer durch Transformation freier DNA auf diese Weise nicht verhindert werden.

4.3. Monitoring von GVM und Trans-Genen

Aussagekräftige und verlässliche Methoden zum Nachweis von GVM bzw. Trans-Genen unter Freilandbedingungen sind derzeit kaum entwickelt. Bei-

spielsweise wirft der Einsatz der *polymerase chain reaction* (PCR) sowohl Probleme einer zu hohen Empfindlichkeit als auch der Störanfälligkeit gegenüber Verunreinigungen auf: So können z.B. DNA-«Verunreinigungen» ein *mis-priming* – fälschlicherweise den Start der Reaktion – auslösen. Bei Antibiotikaresistenzgenen als den derzeit üblichen Markergenen ergeben sich zusätzliche methodische Schwierigkeiten, weil das Ausmaß des natürlichen Vorkommens von Resistenzgenen im Boden ungeklärt ist und sich bei ersten Untersuchungen zwischen verschiedenen Freilandproben extreme Unterschiede zeigten (SMALLA & al. 1993).

Letzlich darf nicht vergessen werden, daß Monitoring nichts an der prinzipiellen Problematik der Nichtrückholbarkeit von GVM und Trans-Genen ändert.

5. Ökologische Prognosen und Szenarien

Es sollte betont werden, daß in der Ökologie eine wohlbegründete Zurückhaltung mit konkreten Voraussagen zur ökosystemaren Dynamik – in welche Richtung auch immer – vorherrscht. Dies wird durch neuere Befunde zur Nichtlinearität natürlicher Prozesse ebenso gestützt wie durch Konzepte zur Kontextabhängigkeit biologischer Information auch auf Ebene der Genomorganisation (vgl. unten). Speziell zur Mikrobiellen Ökologie sind zwei zentrale Probleme zu ergänzen.

1. Schätzungen gehen davon aus, daß nur 1 % aller im Boden mikroskopisch nachweisbaren Mikroorganismen taxonomisch bekannt sind, da nur dieser Anteil im Labor isolierbar, kultivierbar und damit charakterisierbar ist (TORSVIK & al. 1990).

2. Von Seiten der Mikrobiologie wird die Übertragbarkeit des anhand von Tieren und Pflanzen entwickelten Biospezies-Konzeptes auf Mikroorganismen in Zweifel gezogen. Das bezieht sich zum einen darauf, daß bei letzteren biochemische und insbesondere metabolische Merkmale sehr plastisch sind. Zum anderen erscheint aufgrund des im einzelnen noch nicht bekannten Ausmaßes horizontaler Genaustauschprozesse die Konzeption mehr oder weniger geschlossener Fortpflanzungsgemeinschaften nicht adäquat.

Noch weitaus mehr als die Tier- oder Pflanzenökologie steht die Mikrobiologie vor dem Problem, einzelne Akteure (Arten und Populationen) des ökologischen Geschehens nicht benennen zu können. Andererseits vollziehen verschiedene biochemisch oder genetisch arbeitende Forschergruppen derzeit in Labor- und Mikrokosmosversuchen – nicht selten im

Rahmen der Sicherheitsforschung zur Gentechnik – Erfahrungen nach, die in der organismisch orientierten Ökologie bereits seit längerem gesammelt wurden (Einfluß des Bodens, ökologische Besonderheiten der jeweiligen Taxa etc.).

5.1. Zur spezifischen Qualität gentechnischer Ansätze

Die Förderung autochthoner Mikroorganismen in den kontaminierten Böden basiert u.a. auf der Erkenntnis, daß Mikroorganismen ein großes Potential für phänotypische Modifikationen, aber auch Mechanismen für interne genetische Rearrangements sowie zum horizontalen Gentransfer besitzen, die in »neuen« katabolischen Leistungen resultieren können. Im Unterschied zu gentechnischen Labormethoden mit isolierten Stämmen und Trans-Genen erfolgen diese Merkmalsveränderungen jedoch in ständiger Wechselwirkung mit den biotischen und abiotischen Bestandteilen der Umwelt im jeweiligen Habitat. Es ist nicht geklärt, wodurch und in welcher Weise horizontaler Gentransfer in der Umwelt begrenzt wird. Allerdings bestehen zweifellos solche Grenzen auch für den Gentransfer zwischen Mikroorganismen (AMÁBILE CUEVAS & CHICUREL 1993). Diese können mit Hilfe der Gentechnik überschritten werden. Unterschiede zwischen gentechnischen Manipulationen und den in der Umwelt stattfindenden Gentransferprozessen dienen einerseits als Begründung für erwartete Erfolge der Gentechnik (DWYER & TIMMIS 1990). Andererseits scheinen uns aus demselben Grund ökologische Folgewirkungen plausibel, die nicht unmittelbar aus den bisherigen Erfahrungen, die mit nichttransgenen Mikroorganismen gesammelt wurden, abgeleitet werden können (zur »neuen Qualität« gentechnischer Methoden vgl. CHADAREVIAN & al. 1991, WEBER 1993, POTTHAST 1995).

Solche Überlegungen sowie inzwischen bekannte überraschende Ergebnisse gentechnischer Veränderungen (s.u.) zeigen, daß deren Effekte auch in überschaubar erscheinenden Versuchssystemen nicht exakt prognostizierbar sind. Nicht die Sequenz der DNA-Basen allein entscheidet über phänotypische Eigenschaften, sondern auch die Lage der (Trans-)Gene im Genom sowie der übergeordnete zelluläre und organismische Zusammenhang. Dies hat weitreichende Konsequenzen sowohl bezüglich der Sicherheitskonzepte der Gentechnik als auch für Fragen der Theoriebildung in der Biologie allgemein. Die Risikoabschätzung transgener Organismen läßt sich nicht mit den beschriebenen Eigenschaften der Ausgangsorganismen allein vornehmen (BERNHARDT & al. 1991), und ebensowenig macht es Sinn, von biologischer bzw. genetischer Information »an sich« zu sprechen (BONSS & al. 1992).

5.2. Konkrete Probleme und plausible Szenarien

Szenarien ökologischer Wirkungen von GVM lassen sich z.T. aus bekannten Effekten freigesetzter nicht transgener Mikroorganismen entwickeln.³

Eindrucksvolles Beispiel für unerwünschte Effekte ist das Knöllchenbakterium *Bradyrhizobium japonicum*, das auf Ackerböden des Mittleren Westens der USA ausgebracht wurde. Dieses Bakterium hat eine hohe Kapazität zur Nodulierung, also zur Symbiose mit Leguminosen (Fabaceae). Gleichzeitig war allerdings der Grad der Stickstofffixierung geringer als erwartet. Bis heute ist es nicht möglich, andere Bradyrhizobien in den betreffenden Böden zu etablieren, denn *B. japonicum* ist durchsetzungsfähiger als inzwischen verfügbare effektivere Stämme. TIEDJE & al. (1989) nehmen an, daß sehr effiziente Stämme zur gewünschten Stickstoffanreicherung und zu vermehrter Biomassebildung von Nutzpflanzen führen. Infolgedessen halten sie die Etablierung neuer Ackerwildkräuter, eine gesteigerte Nitratauswaschung und eine erhöhte Abgabe von Stickoxiden in die Atmosphäre – mithin überregionale Effekte – für möglich. Einige ökosystemare Schlüsselfunktionen, z.B. Stickstofffixierung oder Ligninabbau, werden »redundant« von vielen Mikroorganismenarten erfüllt, die einander in dieser Funktion ersetzen können. Das *Bradyrhizobium*-Beispiel zeigt aber, daß bereits hier Eingriffe mit weitgehenden irreversiblen Veränderungen einhergehen können. Darüberhinaus ist nicht bekannt, ob und mit welchen Folgen zusammen mit verdrängten Spezies andere »nichtredundante« Eigenschaften verlorengehen.

Von den Lignin zersetzenden Weißfäulepilzen (v.a. *Phanerochaete chrysosporium*) ist bekannt, daß sie cometabolisch Xenobiotika umwandeln können. Neben einer vollständigen Mineralisierung bestimmter Pestizide unter Fermentationsbedingungen fand man aber bei niedrigeren Temperaturen und anderen Sauerstoffverhältnissen auch die Bildung von chlorierten Metaboliten, die toxischer als die Ausgangssubstanz sind (SANDERMANN & al. 1993). Zusätzlich zur Problematik toxischer Umwandlungsprodukte ist zu bedenken, daß mögliche Auswirkungen einer massenhaften Freisetzung transgener Weißfäulepilze auf die Ligninumsetzung in Waldökosystemen völlig ungeklärt sind. Hier erweist sich die cometabolisch nutzbare breite Spezifität von Ligninperoxidasen gleichzeitig als ökologisch bedenklich.

Weitere Risikopotentiale von GVM liegen in der Ver-

wendung von Antibiotikaresistenzen als Marker sowohl zur gentechnischen Manipulation als auch fürs Monitoring. Die Resistenzausbreitung aufgrund des massiven Antibiotikaeinsatzes in der Human- und auch in der Veterinärmedizin hat erhebliche Probleme aufgeworfen (AMÁBILE-CUEVAS & CHICUREL 1993). Eine Förderung dieser Tendenz erscheint nicht wünschenswert. Es ist anzunehmen, daß rekombinante Resistenzgene durch horizontalen Gentransfer auch auf pathogene Mikroorganismen im Boden übertragen würden (BERNHARDT & al. 1991).

Aus den USA wurde unlängst der Fall eines unerwarteten und ökologisch unmittelbar problematischen Effektes einer gentechnischen Veränderung beschrieben. Das Bodenbakterium *Klebsiella planticola* wurde zur Produktion von Ethanol aus Pflanzenbiomasse manipuliert. Im Mikrokosmosversuch produzierte es zwar wie gewünscht Ethanol, schädigte aber gleichzeitig anwesende Mycorrhiza-Pilze (HILL 1994).

6. Fazit

In sechs Thesen möchten wir das Fazit unserer Betrachtung der Einsatzmöglichkeiten transgener Mikroorganismen zur Altlastensanierung formulieren:

1. Es besteht ein erheblicher Unterschied zwischen der gentechnischen Herangehensweise und den ökologischen Rahmenbedingungen des Schadstoffmetabolismus. Der angestrebten Kombination und Fixierung verschiedenster Abbaufunktionen in einem (oder wenigen) transgenen Mikroorganismenstämmen (»superbug«) steht im Freiland der Abbau komplexer Substanzen durch variable und unterschiedlich aktive Mischpopulationen gegenüber.
2. Er besteht eine Diskrepanz zwischen Erfolgen mit transgenen Mikroorganismen beim Abbau von Reinstoff(en) in Laborkulturen und offenbar noch nicht gelungenen Labor- oder Mikrokosmosexperimenten mit Schadstoffgemischen, wie sie in Altlasten meist vorliegen.
3. Grundvoraussetzung für eine mögliche metabolische Effizienz ist ökologische Durchsetzungsfähigkeit der GVM innerhalb natürlicher Populationen. Letzteres widerspricht der gängigen Sicherheitsphilosophie bezüglich der Freisetzung transgener Organismen. Freigesetzte GVM sind weder rückholbar noch in ihrer Ausbreitung kontrollierbar. Unerwünschte Effekte in Bodenökosystemen aufgrund ausgesprochen durchsetzungsfähiger GVM erscheinen möglich.
4. Aufgrund neuerer Erkenntnisse zur Überdauerung und zur biologischen Aktivität freier DNA im Boden

3) Wie ausgeführt, sind u.E. sind jedoch noch weitere Wirkungen, die sich nicht aus entsprechenden Analogien ableiten lassen, möglich.

sowie zur Transduktion und Konjugation bei Bodenmikroorganismen erscheint auch die Begrenzung der Verbreitung von Trans-Genen unmöglich. Deren Ausmaß und mögliche Effekte können kaum verlässlich abgeschätzt werden.

5. Es lassen sich erhebliche Zweifel an den Erfolgsaussichten der Entwicklung transgener Mikroorganismen zur Altlastensanierung formulieren. Ebenso zeigen sich weitgehende Forschungsdesiderate in der mikrobiellen Ökologie. Gleichzeitig bestehen begründete Risikoannahmen bezüglich unerwünschter ökologischer Effekte freigesetzter transgener Mikroorganismen.

6. Grundsätzlich sei betont, wie wichtig der theoretisch-konzeptionelle Hintergrund für die *Ermittlung und Bewertung* naturwissenschaftlicher Fakten ist. Wer Hypothesen zunächst in spekulativer Form als Szenarien zur Diskussion stellt, ist u.E. nichts weniger als unwissenschaftlich. In der Debatte um die ökologischen und evolutionsbiologischen Aspekte der Gentechnik waren solche Hypothesen (z.B. zum horizontalen Gentransfer, zur biologischen Aktivität freier DNA) vielmehr Grundlage für neue Entdeckungen ebenso wie für konzeptionelle Wandlungen bezüglich der Vielfalt natürlicher Dynamik – dies setzt(e) die Bereitschaft voraus, hypothetischen Annahmen mit weiterer Forschung auch nachzugehen.

Literatur

- ALEXANDER, M., 1981: Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science* 211:132–211
- AMÁBILE-CUEVAS, C.F. & M.E. CHICUREL, 1993: Horizontal Gene Transfer. *American Scientist* 81:332–341
- ARENS, J., ZSCHOCKE, C. & J. Hahn, 1993: Zur Abschätzung des Risikopotentials bei der Einleitung gentechnisch veränderter Mikroorganismen in Abwässer. *Korrespondenz Abwasser* 9:1486–1491
- ATLAS, R.M., 1994: Bioremediation – the application of biotechnology for the clean-up of oil spills and industrial pollutants. *Chemical Regulation Reporter* (54):53–60
- BMFT-Bundesminister für Forschung und Technologie [Hg.], 1991: *Genforschung – Gentechnik*, 1. erw. Nachdruck. Bonn, 85 S.
- BMFT-Bundesminister für Forschung und Technologie [Hg.], 1992: *Biotechnologie 2000 – Programm der Bundesregierung*, 3.A.. Bonn, 197 S.
- BERNHARDT M., WEBER, B., & B. TAPPESER, 1991: Gutachten zur »biologischen« Sicherheit bei der Nutzung der Gentechnik (Auftraggeber: Büro für Technikfolgen-Abschätzung des Dt. Bundestages). Öko-Institut e.V., Freiburg i.Br., 117 S.
- BIEHLER, M.J. & S. HÄGELE, 1994: Vergleich von Verfahren zur biologischen Sanierung mineralölkontaminierter Böden. *TerraTech* 3:52–55
- BONB, W., HOHLFELD, R. & R. KOLLEK, 1992: Risiko und Kontext – zur Unsicherheit in der Gentechnologie. in: Bechmann G & H Rammert [Hg.] *Technik und Gesellschaft* Jb. 6, Campus, Frankfurt/M & New York, S. 141–174
- BOUMA, J.E. & R.E. LENSKI, 1988: Evolution of a bacterial/plasmid association. *Nature* 335:351–355
- CLAUS, H. & Z. PHILIP, 1994: Gentransfer bei Bakterien und Überleben gentechnisch veränderter Bakterien im Boden- und Grundwasserbereich: Überlebensdauer, Adsorption und Transport. in: *BEO Projektträger Biologie, Energie, Ökologie* [Hg.] *Biologische Sicherheit* Bd. 3. Jülich, S. 35–82
- CHADAREVIAN, S. de, DALLY, A. & R. KOLLEK, 1991: Experimente mit der Evolution – zum Verhältnis von Evolution, Züchtung und Gentechnologie. *Werkstattreihe 76*, Öko-Institut e.V., Freiburg i.Br., 39 S.
- DECHEMA [Hg.] 1992: *Bewertung und Sanierung mineralölkontaminierter Böden*. Resümée und Beiträge des 10. DECHEMA-Fachgesprächs Umweltschutz, Dechema, Frankfurt/M, 600 S.
- DT. BUNDESTAG [Hg.], 1987: Chancen und Risiken der Gentechnologie. *Der Bericht der Enquete-Kommission »Chancen und Risiken der Gentechnologie« des 10. Deutschen Bundestages*. Bonn, 405 S.
- DWYER, D.F. & K.N. TIMMIS, 1990: Engineering microbes for function and safety in the environment. in: Mooney HA & Bernardi G [Hg.] *Introduction of Genetically modified Organisms into the environment*. John Wiley, Chichester etc., S. 79–98
- FINNEGAN, J. & D. McELROY, 1994: Transgene Inactivation: Plants fight back!. *Bio/Technology* 12:883–888
- FRIEDL, C. 1994: Horizonte der Gentechnik klären sich. *vdi nachrichten* 32:9 (12.8.1994)
- GID, 1994: *Gen-ethischer Informationsdienst* 98(9): 10, Berlin
- HILL, R.L., 1994: USU study finds genetic altering of bacterium upsets natural order. *The Oregonian*, 8.8.1994
- KNORR, C., 1990: *Umweltbiotechnologie – Schadstoffabbau durch Mikroorganismen*. in: AK BuSiB [Hg.] *Gentechnologie*. Selbstverlag, Göttingen, S. 137–164
- KÄSTNER, M., MAHRO, B. & R. WIENBERG, 1993: *Biologischer Schadstoffabbau in kontaminierten Böden unter besonderer Berücksichtigung der Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffe*. *Hamburger Berichte* Bd.5, *Economica*, Bonn, 180 S.

- LOSKE, D. 1993: Kontaminierte Böden biologisch reinigen. *Umwelt* 23(4):186–189
- McELDOWNEY, S., HARDMAN, D.J. & S. WAITE, 1993: Pollution: Ecology and Biotreatment. Longman, Essex, 322 S.
- POTTHAST, T., 1995: Die Debatte um Gentechnik und Evolution – vorläufige Bestandsaufnahme und kritische Bemerkungen. in: Deutsches Hygiene Museum [Hg.] Darwin und Darwinismus. Symposionsband, Dresden, im Druck
- POTTHAST, T. & WEBER, B., 1995: Der Einsatz gentechnisch veränderter Mikroorganismen zur Reduzierung von Schadstoffbelastungen. Werkstattreihe, Öko-Institut e.V., Nr. 92, 126 S. (im Druck)
- ROJO, F., PIEPER, D.H., ENGESSER, K.-H., KNACKMUS, H.-J. & K.N. TIMMIS, 1987: Assemblage of Ortho Cleavage Route for Simultaneous Degradation of Chloro- and Methylaromatics. *Science* 238:1395–1398
- SANDERMANN jr., H., PIEPER, D.H. & R. WINKLER, 1993: Mineralization of lignin-bond and free xenobiotics by the white-rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*. in: Kennedy JF [Hg.] Cellulose pulp fibre – environmental aspects, Ellis Horwood, London, S. 499–503
- SHELL, T. von, 1994: Die Freisetzung gentechnisch veränderter Mikroorganismen – Ein Versuch interdisziplinärer Urteilsbildung. Ethik in den Wissenschaften 6, Attempto, Tübingen, 644 S.
- SELBITSCHKA, W., HAGEN, M., NIEMANN, S. & A. PÜHLER, 1994: Risikoanalysen zur Freisetzung gentechnologisch veränderter Rhizobien: Analyse der Wechselwirkungen zwischen gentechnisch verändertem Organismus und Modell-Ökosystemen. in: BEO Projektträger Biologie, Energie, Ökologie [Hg.] Biologische Sicherheit Bd. 3. Jülich, S. 137–156
- SMALLA, K., VAN OVERBEEK, L.S., PUKALL, R. & J.D. VAN ELSAS, 1993: Prevalence of nptII and Tn5 in kanamycin-resistant bacteria from different environments. *FEMS Microbiology Ecology* 13:47–58
- STOTZKY, G., 1992: Gene transfer among and ecological effects of genetically modified bacteria in soil. in: Casper R & Landsmann [Hg.] Proc. 2nd Int. Symp. of the biosafety results of field tests of GMOs, Goslar, S.122–134
- TIEDJE, J.M., COLWELL, R.K., GROSSMANN, Y.J., HODSON, R.E., LENSKI, R.E., MACK, R.N. & P.J. REGAL, 1989: The planned introduction of genetically engineered organisms – ecological considerations and recommendations. *Ecology* 70(2):298–315
- TIMMIS, K.N., 1990: Genetic construction of novel metabolic pathways – degradation of Xenobiotics. in: Hauska G & Thauer R [Hg.] The molecular basis of bacterial metabolism. Springer, Berlin etc., S.68–83
- TORSVIK, V., GOKSOYR, J. & F.L. DAAL, 1990: High Diversity in DNA of Soil Bacteria. – *Appl. Env. Microbiol.* 56: 603–619.
- VAN DER MEER, J.R., DE VOS, W.M., HARAYAMA, S. & A.J.B. ZEHNDER, 1992: Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds. *Microbiological Reviews*: 677–694
- WACKERNAGEL, W. & M.G. LORENZ, 1994: DNA-Entlassung aus Bakterien, DNA-Überdauerung und genetische Transformation im natürlichen Lebensraum. in: BEO Projektträger Biologie, Energie, Ökologie [Hg.] Biologische Sicherheit Bd. 3. Jülich, S. 9–33
- WAGNER-DÖBLER, I., DWYER, D.F. & K.N. TIMMIS, 1994: Einsatz von gentechnisch veränderten Mikroorganismen (GVO's) zum Abbau von Schadstoffen in der Umwelt (Bioremediation). in: BEO Projektträger Biologie, Energie, Ökologie [Hg.] Biologische Sicherheit Bd. 3. Jülich, S. 1035–1056
- WEBER, B., 1993: Evolutionsbiologische Argumente in der Risikodiskussion am Beispiel der transgenen herbizidresistenten Pflanzen. Werkstattreihe Nr. 91, Öko-Institut e.V., S. 1–146
- WEBER, B. & KNORR, C., 1992: Potential risks of genetically engineered microorganisms designed for pollution control. *Fresenius Envir Bull* 1:730–735
- WÖHRMANN, K. & J. TOMIUK [Hg.], 1993: Transgenic Organisms – risk assessment of deliberate release. Birkhäuser, Basel etc., 270 S.
- ZEYER, J., 1993: Biologische Sanierung – Illusionen und Realitäten. *Spektrum der Wissenschaft* 10: 90–93

Adresse

Thomas Potthast* und Dr. Barbara Weber
 Öko-Institut für angewandte Ökologie e.V.
 Binzengrün 34a
 D-79114 Freiburg i.Br.

* Korrespondenzadresse:
 Zentrum für Ethik in den Wissenschaften
 Universität Tübingen
 Keplerstr. 17
 D-72074 Tübingen

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1995

Band/Volume: [24_1995](#)

Autor(en)/Author(s): Weber Barbara, Potthast Thomas

Artikel/Article: [Gentechnisch veränderte Mikroorganismen zur Reduzierung von Schadstoffbelastungen? - Ökologische Perspektiven 627-634](#)